Kỹ thuật chẩn đoán sốt rét tự động bằng phân tích hình ảnh xét nghiệm máu

Nguyễn Chí Thiện[1], La Ngọc Thùy Vân[2], Phạm Kiều Nguyệt Oanh[3], Nguyễn Lê Đình Quý[1*]

[1]Viện Nghiên cứu và Đào tạo Việt - Anh, Đại học Đà Nẵng
[2]Khoa Sinh học - Công nghệ sinh học, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia TP Hồ Chí Minh
[3]Bệnh viện Bệnh Nhiệt đới TP Hồ Chí Minh

Ngày nhận bài 1/6/2020; ngày gửi phản biện 10/6/2020; ngày nhận phản biện 21/7/2020; ngày chấp nhận đăng 28/7/2020

Tóm tắt:

Sốt rét (SR) là một bệnh truyền nhiễm đe dọa tính mạng con người do ký sinh trùng (KST) *Plasmodium* gây ra, lây truyền qua vết đốt của muỗi Anopheles bị nhiễm bệnh. Kỹ thuật phổ biến nhất trong phát hiện KSTSR là xét nghiệm máu thông qua lam kính mỏng được nhuộm Giemsa rồi soi trên kính hiển vi quang học. Tuy nhiên, phương pháp soi trên kính hiển vi thường tốn nhiều thời gian, kết quả phân tích phụ thuộc nhiều vào khả năng của người đọc mẫu và rất khó để kiểm chứng lại. Nhiều nghiên cứu dựa trên sự hỗ trợ của thị giác máy tính đã được đề xuất nhằm thay thế kỹ thuật chẩn đoán này. Thông qua bài tổng quan dưới đây, các tác giả trình bày vắn tắt những kết quả điển hình về các hướng phát triển gần đây trong lĩnh vực máy tính nhằm hỗ trợ chẩn đoán KSTSR. Quá trình chẩn đoán và xác định bệnh SR bao gồm: chuẩn hóa hình ảnh, phân tách tế bào máu và KST, trích xuất và phân loại các tính năng đặc trưng cũng được giới thiệu trong bài báo. Cuối cùng, các tác giả thảo luận các thách thức đang tồn tại cũng như đề xuất các hướng nghiên cứu nhằm ứng dụng phương pháp chẩn đoán tự động KSTSR ở Việt Nam.

Từ khóa: **hồng cầu, ký sinh trùng sốt rét, phân loại, vết máu.**

Chỉ số phân loại: **2.6**

Giới thiệu

Bệnh SR ở người là căn bệnh truyền nhiễm do KST thuộc chi *Plasmodium* gây ra. KST xâm nhập vào máu qua vết đốt của muỗi cái Anopheles. Người nhiễm bệnh thường có những triệu chứng SR điển hình như ớn lạnh, sốt, đổ mồ hôi [1]. Để chẩn đoán bệnh SR cũng như xác định sự hiện diện của KST trong cơ thể người bệnh, các cơ quan y tế thường thực hiện một kỹ thuật cơ bản, cổ điển gọi là xác định hình thái của KSTSR. Kỹ thuật này dựa trên phương pháp Romanovski, bao gồm các bước: (i) thu thập tiêu bản lam máu với hai vết máu mỏng và dày, (ii) tiêu bản được đem nhuộm Giemsa, (iii) soi tiêu bản dưới kính hiển vi quang học để xác định mẫu máu có bị nhiễm KSTSR hay không [2].

Nhược điểm của các kỹ thuật xác định hình thể KSTSR là kết quả không khách quan và phụ thuộc vào trình độ, khả năng của kỹ thuật viên. Các kỹ thuật viên không thường xuyên thực hiện công việc xét nghiệm hoặc không tham gia các khóa đào tạo định kỳ có thể quên hình thể của KSTSR, dẫn đến tình trạng kết quả xét nghiệm kém chính xác. Tuy nhiên, với tình trạng thiếu thiết bị chẩn đoán hiện đại, đặc biệt tại các bệnh viện địa phương quy mô nhỏ, thì phương pháp chẩn đoán xét nghiệm KSTSR này vẫn có những giá trị nhất định.

Phương pháp phân tích hình ảnh tế bào máu có hỗ trợ của máy tính đã mở ra một hướng mới để phát hiện sớm bệnh SR, khắc phục được nhược điểm của phương pháp soi mẫu tiêu bản máu trên kính hiển vi thủ công. Dựa trên phân tích và tổng hợp các nghiên cứu gần đây của việc xử lý và nhận diện hình ảnh (thị giác máy tính), bài báo này cung cấp cho các nhà nghiên cứu đang quan tâm tới phương pháp chẩn đoán SR bằng phân tích hình ảnh tế bào máu những kiến thức cơ sở. Các nội dung chính trong bài tổng quan này gồm: tổng quan về bệnh SR; thực trạng nhiễm SR ở Việt Nam; kỹ thuật chẩn đoán bệnh SR dùng kính hiển vi; kiến thức chung về chẩn đoán SR bằng phân tích hình ảnh tế bào máu; tóm tắt kết quả điển hình các nghiên cứu phát triển gần đây ứng dụng hỗ trợ máy tính để phân tích hình ảnh tế bào máu và chẩn đoán SR; thách thức đang tồn tại và hướng nghiên cứu ứng dụng trong tương lai tại Việt Nam.

Tổng quan về bệnh SR

Đặc điểm chung về bệnh SR

SR là một căn bệnh phổ biến ở các quốc gia thuộc khu vực nhiệt đới và cận nhiệt đới. Đối tượng mắc bệnh SR không giới hạn nhóm tuổi. Có 3 yếu tố liên quan đến sự lây truyền của bệnh SR: mầm bệnh (KSTSR); vector truyền bệnh (muỗi truyền bệnh SR); khối thụ thể (người bình thường mang mầm bệnh). Số ca nhiễm bệnh và mức độ lây lan bệnh SR ở mỗi khu vực phụ thuộc vào điều kiện môi trường như: lượng mưa, khu vực muỗi sinh sản và sự hiện diện của các loài muỗi mang mầm bệnh. Bên cạnh đó, các yếu tố xã hội cũng ít nhiều ảnh hưởng đến sự lây lan KST và có thể khiến dịch bệnh bùng phát. Tùy thuộc vào điều kiện tự nhiên lẫn điều kiện xã hội, ở một số khu vực, người ta ghi nhận số ca mắc bệnh SR ổn định quanh năm, trong khi đó, ở một số vùng khác, dịch SR

[*]Tác giả liên hệ: Email: quy.nguyen@vnuk.edu.vn

The computer-aided diagnosis of malaria parasites by blood testing images

Chi Thien Nguyen[1], Ngoc Thuy Van La[2], Kieu Nguyet Oanh Pham[3], Le Dinh Quy Nguyen[1*]

[1]VN-UK Institute for Research and Executive Education, University of Danang
[2]Faculty of Biology and Biotechnology, University of Science, Vietnam National University, Ho Chi Minh city
[3]Hospital for Tropical Diseases, Ho Chi Minh city

Received 1 June 2020; accepted 28 July 2020

Abstract:

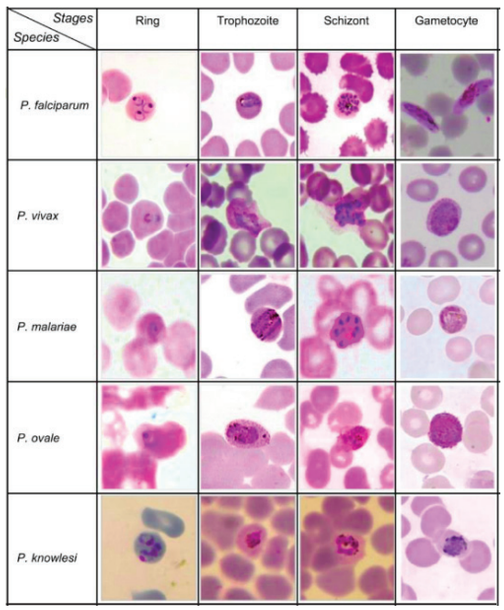
Malaria caused by *Plasmodium* parasites is a life-threatening disease in humans, transmitted through the bite of an infected Anopheles mosquito. The most common technique for detecting malaria parasites is Giemsa stained blood smear on optical microscopes. However, conventional microscopy has proved inefficient, because this technique is often time-consuming while the results of the analysis are dependent on the technical's level and difficult to reproduce. Many studies have been proposed to replace diagnostic techniques based on the support of computer vision. In this review, the authors briefly presented the typical results of recent developments in the computer field to support the diagnosis of malaria parasites. The process of diagnosis and identification of malaria parasites, which included image standardisation, segmentation of blood cells and parasites, feature extraction and classification of specific features, was also introduced in this paper. Finally, the authors discussed existing challenges together with proposing research directions to apply automatic diagnostic methods of malaria parasites in Vietnam.

Keywords: **blood smear, malaria parasite, parasite segmentation, red blood cells.**

Classification number: **2.6**

xảy ra theo mùa và thường bùng phát vào mùa mưa [1, 3].

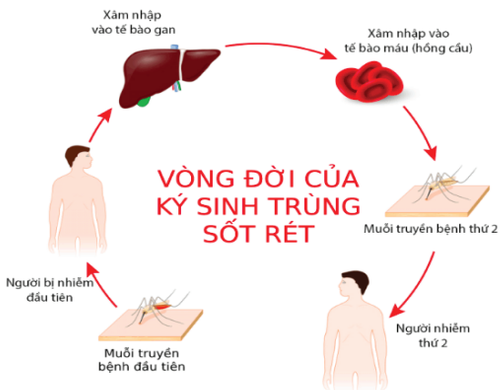
Tác nhân gây bệnh SR được xác định là KST thuộc chi *Plasmodium*. Chi này có hơn 170 loài gây bệnh trên động vật có vú, lưỡng cư, chim và bò sát, trong đó 5 loài gây bệnh trên người (hình 1). Ở Việt Nam, 3 trong số 5 loài này đã được phát hiện và *P. falciparum* chiếm tỷ lệ gây bệnh cao nhất (80-85%). Vector truyền bệnh SR đã được xác định là muỗi Anopheles thuộc họ Culicidae. Trên thế giới, có trên 420 loài muỗi thuộc giống Anopheles, trong đó khoảng 70 loài là gây bệnh trên người. Các khu vực khác nhau có các loại vector truyền bệnh SR khác nhau. Tại Việt Nam, tính tới thời điểm hiện nay, 59 loài Anopheles đã được phát hiện, trong đó có 3 loài truyền bệnh chính là *Anopheles minimus (An. minimus)*, *An. dirus* và *An. sundaicus* (nay là *An. epiroticus*). *An. minimus* phân bố chủ yếu ở miền Bắc, trong khi đó *An. dirus* tập trung chủ yếu ở khu vực miền Trung, đặc biệt là ở Tây Nguyên [1, 3-5]. Người là ổ chứa KSTSR duy nhất của bệnh SR ở người (bệnh nhân, người bình thường mang KST). Tuy nhiên, mới đây ở Malaysia, người ta đã phát hiện một ca người nhiễm KST từ khỉ [6].



Hình 1. Hình thể các loài gây bệnh trong chi *Plasmodium*.

Thời gian ủ bệnh - thời gian bắt đầu từ lúc muỗi mang KSTSR đốt người đến khi người đó có triệu chứng bệnh SR - tùy thuộc vào loại KST nhiễm vào cơ thể: *P. falciparum* 9-14 ngày, trung bình 12 ngày; *P. vivax* 12-17 ngày, trung bình 14 ngày. Đối với các trường hợp nhiễm bệnh do truyền máu, thời gian ủ bệnh ít hơn vài ngày tùy theo số lượng KSTSR hiện diện trong máu truyền vào. Về lâm sàng, bên cạnh các bệnh nhân biểu hiện triệu chứng điển hình, thì những trường hợp sốt không đặc trưng, chưa được xét nghiệm máu hoặc kết quả xét nghiệm âm tính nhưng có 4 biểu hiện sau vẫn bị nghi ngờ nhiễm SR: (i) sốt trên 37,5°C hoặc có sốt trong 3 ngày trở lại; (ii) không giải thích được tình trạng bệnh bằng các bệnh lý gây sốt khác; (iii) đang cư trú hoặc di chuyển gần khu vực có SR trong thời gian 9 tháng gần đây; (iv) đang điều trị SR trong vòng 3 ngày [2].

KSTSR có thể phát triển theo hai hình thức: vô tính hoặc hữu tính. Trong hình thức vô tính, chu kỳ phát triển của KST được tính từ thời điểm muỗi nhiễm KST đốt người. Chúng xâm nhập vào gan qua đường máu, phát triển trong tế bào gan, sau đó phá vỡ tế bào gan trở lại đường máu, đồng thời giải phóng thêm các KST non (hình 2). KST non đi vào hồng cầu, tiếp tục sinh trưởng, phá vỡ hồng cầu và giải phóng thêm nhiều KST non dẫn đến cơn SR. Một số phát triển thành giao bào đực và cái. Giao bào có thể truyền sang cơ thể muỗi khi muỗi hút máu người, trở thành giao tử đực và cái, phát triển theo chu kỳ hữu tính trong dạ dày muỗi, tạo ra các thoa trùng. Thoa trùng theo tuyến nước bọt muỗi có thể lây truyền bệnh SR cho người bị muỗi đốt. Sau 2-3 ngày từ cơn sốt đầu tiên, giao bào xuất hiện trong máu bệnh nhân nhiễm *P. vivax*, *P. malariae* hoặc *P. ovale*, và sau 7-10 ngày nếu bệnh nhân nhiễm *P. falciparum* [1, 3].



Hình 2. Vòng đời của KSTSR.

Bản thân người bệnh cũng là nguồn lan truyền bệnh SR. *P. vivax* và *P. ovale* tồn tại ở trạng thái ngủ trong gan có thể làm tái phát bệnh SR sau nhiều tháng, thậm chí lên đến 36 tháng sau. Những bệnh nhân không điều trị đúng quy cách cũng có thể mang KSTSR trong cơ thể vài năm, cụ thể là 3 năm đối với *P. malariae*, 2 năm đối với *P. vivax* và 1 năm đối với *P. falciparum*. Máu dự trữ có chứa KSTSR còn khả năng gây bệnh SR cho người nhận trong thời gian 1 tháng [1, 3].

Bệnh SR lan truyền theo 4 phương thức: muỗi đốt (phương thức chủ yếu), truyền máu có chứa KSTSR, mẹ truyền qua con khi nhau thai bị tổn thương (hiếm), tiêm chích bằng ống tiêm có dính máu mang KSTSR. Chính vì vậy, phòng chống muỗi, tác nhân trung gian truyền bệnh là con đường chính để ngăn ngừa và làm giảm sự lây truyền bệnh SR. Các biện pháp can thiệp nhằm phòng chống tác nhân trung gian truyền bệnh trong một khu vực càng phổ biến, khả năng bảo vệ cộng đồng tại khu vực đó khỏi dịch bệnh SR càng cao. Tổ chức Y tế thế giới (WHO) cũng đưa ra khuyến cáo với những người có nguy cơ mắc bệnh SR nên thực hiện biện pháp phòng chống vector truyền bệnh SR (muỗi SR). Hai hình thức phòng chống muỗi SR hiệu quả nhất trong các biện pháp là ngủ màn có tẩm hóa chất diệt muỗi và phun tồn lưu trong nhà [1, 3, 7].

Tình hình nhiễm bệnh SR và kháng thuốc ở Việt Nam

Bệnh SR vẫn là một vấn đề y tế nhận được nhiều quan tâm của cộng đồng, không chỉ riêng Việt Nam mà ở nhiều quốc gia khác. Theo số liệu báo cáo về SR của WHO, năm 2015 ước tính trên toàn thế giới có trên 200 triệu người mắc SR và 438.000 ca tử vong vì SR. Bệnh SR tồn tại ở 91 nước với hơn 3 tỉ người trên toàn thế giới vẫn đang bị đe dọa bởi SR, chủ yếu ở châu Phi và Đông Nam Á. Riêng tại các quốc gia Đông Nam Á, ước tính có 20 triệu người bệnh SR và 32.000 người đã chết vì căn bệnh này [1]. Việt Nam nằm ở khu vực nhiệt đới, có điều kiện tự nhiên thuận lợi cho sự phát triển của muỗi. Ở Việt Nam, tính đến năm 2015 có tổng cộng 6.207 người nhiễm bệnh SR và 1 ca tử vong, tỷ lệ KSTSR tập trung cao nhất tại các tỉnh miền núi và giáp ranh khu vực biên giới như Bình Phước, Gia Lai, Ninh Thuận, Đắc Nông, Khánh Hòa, Phú Yên, Đắk Lắk, Quảng Bình, Kon Tum, Bình Thuận. Gần đây, KSTSR kháng thuốc, muỗi SR kháng hóa chất, tình trạng giao lưu của người dân thuộc khu vực biên giới và di dân biến động lớn giữa các vùng lưu hành bệnh SR khiến cho chủng KST *P. falciparum* đa kháng thuốc lan truyền, đặc biệt là tại biên giới các quốc gia Campuchia, Thái Lan, Myanmar, Việt Nam, Lào. Tất cả điều này có thể đe dọa các thành quả và làm thất bại mục tiêu loại trừ SR, khiến dịch SR trở lại với diễn biến phức tạp hơn [3, 7, 8].

Kỹ thuật chẩn đoán SR

Theo khuyến cáo của WHO, tất cả các trường hợp có nghi ngờ mắc bệnh SR phải được xác nhận bằng xét nghiệm chẩn đoán KST (xét nghiệm chẩn đoán nhanh hoặc xét nghiệm mẫu máu bằng kính hiển vi) sau đó mới điều trị [9]. Nhiều kỹ thuật đã được nghiên cứu phát triển và ứng dụng để chẩn đoán SR như phân tích tiêu bản lam máu có nhuộm Giemsa, xét nghiệm chẩn đoán nhanh phát hiện kháng nguyên hoặc xét nghiệm bằng kỹ thuật sinh học phân tử (PCR hoặc real-time PCR)... Tuy nhiên, xét nghiệm lam máu nhuộm Giemsa trên kính hiển vi vẫn được coi là một tiêu chuẩn vàng để xác nhận bệnh SR.

Chẩn đoán bằng kính hiển vi

WHO cung cấp chi tiết hướng dẫn xét nghiệm lam máu nhuộm Giemsa trên kính hiển vi để xác định bệnh SR. Bộ quy trình này cũng được đề cập trong "Sổ tay xét nghiệm bệnh truyền nhiễm" của Bộ Y tế [2]. Nhuộm màu Giemsa làm nổi bật hình thể KSTSR dưới kính hiển vi khi so sánh với hồng cầu, bạch cầu, tiểu cầu. Sau đó, các vật thể được nhuộm màu có thể được chia thành hai nhóm, tức là KST và không KST. Phương pháp này có ưu điểm là phân biệt được các loài thuộc chi *Plasmodium*, định lượng KST, quan sát được các giai đoạn vô tính của chúng cũng như chi phí vật liệu thấp. Tuy nhiên, một số yếu điểm vẫn còn tồn tại. Kết quả xét nghiệm phụ thuộc vào kỹ năng và trình độ chuyên môn của kỹ thuật viên. Do đó, một hệ thống phân tích hình ảnh lam máu có hỗ trợ từ máy tính sẽ cải thiện đáng kể hiệu quả, hạn chế được vấn đề phụ thuộc của kết quả vào kỹ năng chuyên môn của kỹ thuật viên để chẩn đoán chính xác hình ảnh máu.

Chẩn đoán bằng kỹ thuật sinh học phân tử (PCR và real-time PCR)

Các kỹ thuật chẩn đoán phân tử như PCR và real-time PCR (PCR định lượng) được nghiên cứu và áp dụng ngày càng nhiều để chẩn đoán bệnh SR. Kỹ thuật này dựa trên việc nhận diện và

khuếch đại trình tự đặc hiệu của chi *Plasmodium* trong mẫu máu của bệnh nhân, do đó có độ nhạy cao hơn các phương pháp khác [10]. Kỹ thuật PCR có thể phân biệt *P. falciparum* và *P. vivax*, do đó hỗ trợ việc khảo sát sự phân bố của hai loài KST gây bệnh này [11]. Nested PCR (PCR lồng) còn được nghiên cứu để phân biệt các dòng KST thông thường và các dòng mang gene kháng thuốc nhằm tăng hiệu quả cho việc xác định và điều trị bệnh SR ở bệnh nhân cũng như kiểm soát tình trạng lây lan của dịch bệnh [12]. Tuy nhiên, các kỹ thuật này đòi hỏi trang thiết bị hiện đại cũng như thao tác tỉ mỉ, chính xác để giảm thiểu nguy cơ lây nhiễm chéo, dẫn đến kết quả không chính xác.

Chẩn đoán thông qua hỗ trợ của máy tính

Máy tính đóng vai trò quan trọng trong nhiều ứng dụng chẩn đoán y tế như X-quang kỹ thuật số, chụp cộng hưởng từ (MRI), chụp cắt lớp điện toán (CT-scan), siêu âm và nhiều ứng dụng khác. Chẩn đoán SR thông qua hỗ trợ của máy tính là một kỹ thuật chẩn đoán dựa trên cơ sở sử dụng thị giác máy tính để thu thập thông tin từ hình ảnh kính hiển vi và áp dụng phương pháp học máy để phân tích kết quả. Nó có thể được sử dụng để hỗ trợ các phương pháp truyền thống hoặc phát triển thành một kỹ thuật chẩn đoán hoàn toàn tự động, thay thế cho việc kiểm tra bằng kính hiển vi thủ công. Phương pháp này nhận được nhiều quan tâm nghiên cứu nhằm cung cấp giải pháp phát hiện KSTSR nhanh chóng và chính xác. Tek và cs [13] đã trình bày tổng hợp các tài liệu đánh giá nhằm đề xuất quy trình chẩn đoán SR tự động dựa trên thị giác máy tính bằng hình ảnh của mẫu máu trên lam kính. Một hệ thống chẩn đoán SR tự động có thể được thiết kế dựa trên hiểu biết chuyên môn về chẩn đoán (kiến thức về huyết học) và áp dụng các kiến thức đó vào các thuật toán xử lý hình ảnh và nhận dạng mẫu. Về nguyên tắc, hệ thống này có thể phân biệt được tế bào bị nhiễm KSTSR và các thành phần máu khỏe mạnh. Nhìn chung, có 5 bước chính để phân tích hình ảnh hiển vi là: thu nhận hình ảnh, tiền xử lý, phân đoạn, trích xuất và phân loại tính năng [13].

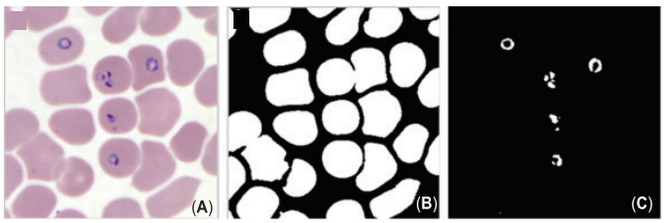
Thu nhận hình ảnh: hầu hết các nghiên cứu về phát hiện SR đã được thực hiện trên hình ảnh phết máu mỏng; trong khi đó chỉ có một vài nghiên cứu sử dụng hình ảnh phết máu dày. Theo Ross và cs [14], hình ảnh thu được của các lam kính mỏng từ máy ảnh kết nối điện tích (CCD) với độ phóng đại 4X kết nối với kính hiển vi độ phóng đại 1000X. Hình ảnh được lưu trữ ở định dạng JPEG với độ phân giải tối đa của máy ảnh, 2048x1536 pixel. Một quy trình tương tự đã được ghi nhận ở một số nghiên cứu khác, trong đó hình ảnh được thu nhận từ máy ảnh kết nối điện tích (CCD) với kính hiển vi. Bên cạnh đó, hình ảnh lam kính cũng được tải xuống từ các trang web có sẵn miễn phí để phục vụ cho mục đích nghiên cứu. Gitonga và cs [15] đã thu được hình ảnh phết máu mỏng từ Trung tâm Kiểm soát dịch bệnh Hoa Kỳ (CDC) và Viện Nghiên cứu y tế Kenya (KEMRI).

Các xử lý chuẩn bị: mục đích chính của bước tiền xử lý là tạo ra hình ảnh có độ tương phản cao, độ nhiễu thấp để xử lý trong bước tiếp theo. Những thay đổi màu của vết máu do điều chỉnh máy ảnh, hay do việc chiếu sáng hình ảnh kính hiển vi sẽ gây khó khăn trong quá trình phân loại các tế bào máu. Nguyên do là khó có thể xử lý các phân đoạn thích hợp của các vật thể có màu sắc khá giống nhau. Các phương pháp khác nhau đã được đề xuất để xử lý các vấn đề tiền xử lý [16] như chiếu sáng, giảm nhiễu... Việc kết hợp các bộ lọc khác nhau cũng có thể giảm hiệu ứng chiếu sáng từ cả hai mặt kính hiển vi và camera. Các giải pháp bộ lọc khác nhau đã được đề xuất bởi các nhà nghiên cứu để giải quyết các vấn đề tăng cường độ nét và nhiễu trong chẩn đoán SR tự động [17]. Mặc dù các kỹ thuật này ít nhiều khắc phục được vấn đề về ánh sáng, nhưng yếu tố con người vẫn liên quan đến việc chuẩn bị các lam kính máu và gián tiếp ảnh hưởng đến chất lượng hình ảnh. Các kỹ thuật tiền xử lý được sử dụng bởi các nhà nghiên cứu khác nhau trong chẩn đoán SR tự động được tóm tắt trong bảng 1.

Bảng 1. Kỹ thuật tiền xử lý hình ảnh được áp dụng trong nhiều nghiên cứu.

Tài liệu tham khảo	Kỹ thuật tiền xử lý	Nhận xét tác dụng
P. Rakshit và K. Bhowmik [16]	Bộ lọc Wiener	Được sử dụng để loại bỏ mờ trong hình ảnh do chuyển động tuyến tính hoặc quang học không tập trung
M.I. Khan và cs [18]	Bộ lọc thông thấp	Loại bỏ các thành phần lặp lại
N.E. Ross và cs [14], C. Di Ruberto và cs [19], F.B. Tek và cs [20], Díaz và cs [21], M.-H. Tsai và cs [22]	Bộ lọc hình thái	Hữu ích để loại bỏ các đặc điểm không mong muốn trên hình ảnh
A.S. Abdul-Nasir và cs [23]	Tăng cường độ tương phản dựa trên kỹ thuật biến đổi toàn cục và biến đổi tuyến tính độ tương phản	Hữu ích để tăng độ tương phản của hình ảnh
S.W. Sio và cs [17], C. Di Ruberto và cs [19], Purwar và cs [24], Sheeba và cs [25], Punitha và cs [26]	Cân bằng biểu đồ thích ứng hoặc cân bằng biểu đồ cục bộ	Hiệu quả cho hình ảnh có độ phân giải thấp
Kaewkamnerd và cs [27], S. Savkare và S. Narote [28]	Bộ lọc Laplacian	Được sử dụng để làm sắc nét các cạnh trong hình ảnh
M.I. Khan và cs [18], N. Ahirwar và cs [29]	Lọc không tuyến tính: SUSAN	Hữu ích cho việc lọc nhiễu, tìm cạnh và tìm góc
Das và cs [30]	Bộ lọc trung bình hình học	Loại bỏ nhiễu Gaussian để bảo toàn các cạnh.
Somasekar và cs [31]	Bộ lọc thông thấp Gaussian	Hiệu quả để loại bỏ nhiễu Gaussian

Phân tách tế bào máu và KST: phân tách được định nghĩa là quá trình phân vùng một hình ảnh thành một tập hợp các vùng không chồng lấp mà liên kết toàn bộ hình ảnh. Trong quy trình chẩn đoán tự động để phân loại các loài KSTSR, giai đoạn quan trọng và khó khăn nhất là phân tách chính xác hình ảnh phết máu thành các yếu tố khác nhau như hồng cầu, bạch cầu, KSTSR và phân đoạn có KST kết hợp với hồng cầu. Để trích xuất hồng cầu bị nhiễm bệnh, trước tiên cần xác định chúng dựa trên sự kết hợp hình ảnh của KSTSR và hồng cầu, sau đó phân tách chúng khỏi nền. Phân chia tế bào có thể được tiến hành theo hướng quy nạp hoặc suy diễn. Trong quy nạp, các đối tượng nhuộm màu được định vị đầu tiên bằng cách sử dụng các giá trị cường độ màu, sau đó các vùng chứa màu được phân tách. Ngược lại, theo phương pháp suy diễn, hình ảnh trước tiên được phân tách khỏi nền và tiền cảnh, sau đó đối tượng nhuộm màu mới được phân tách [13]. Phân tách đầy đủ có thể dẫn đến phát hiện và phân loại KSTSR một cách hiệu quả. Quá trình phân tách để phát hiện hồng cầu và KST được thể hiện trong hình 3.



Hình 3. Hình ảnh phân tách của phết máu. (**A**) Hình gốc, (**B**) Phân đoạn hồng cầu, (**C**) KSTSR.

Các nghiên cứu với các kỹ thuật phân tách khác nhau được tóm tắt trong bảng 2.

Bảng 2. Kỹ thuật phân tách tế bào máu và KST.

Tài liệu tham khảo	Kỹ thuật phân tách	Chú thích
S.W. Sio và cs [17]	Cách tiếp cận dựa trên quy tắc (phát hiện viền ảnh, liên kết viền ảnh và tách cụm)	Rất hiệu quả cho việc phân tách hình ảnh bị chồng chéo nhưng thông tin hình dạng có thể bị bóp méo
M.I. Khan và cs [18], N. Ahirwar và cs [29], Das và cs [30]	Đánh dấu kiểm soát lằn giáp ranh với phương pháp hình thái	Hiệu quả cho phân tách tế bào chồng lấp và có thể thất bại với phân tách tế bào có phân khúc chồng lấp cao
Tek và cs [20]	Xử lý hình thái trên ảnh	Hữu ích trong điều kiện chiếu sáng không đồng đều
A.S. Abdul-Nasir và cs [23]	Phân cụm K-mean	Thu được nhiều vùng đồng nhất hơn
Purwar và cs [24]	Phân khúc Chan-Vese	Không hữu ích cho phân tách tế bào chồng chéo
M.-T. Le và cs [32], K. Chakrabortya và cs [33], L.B. Damahe và cs [34]	Ngưỡng biểu đồ Zack	Đánh giá các giá trị ngưỡng tối ưu
Gual-Arnau và cs [35], V. Makkapati và cs [36]	Phân đoạn cơ sở đường viền hoạt động	Hạn chế nếu hình ảnh chứa nhiều đối tượng chồng chéo
R.R. Devi và cs [37]	Biến đổi lằn giáp ranh	Hoạt động tốt cho các đối tượng chồng chéo
L. Zou và cs [38]	Biến đổi tròn Hough	Yêu cầu kiến thức cần thiết về bán kính của tế bào máu
Kale và cs [39-42]	Tỷ lệ góc vòng	Chỉ hữu ích cho hình tròn
M.L. Chayadevi và G. Raju [43]	Phân đoạn cơ sở quy tắc mờ	Thiết kế cơ sở quy tắc rất phức tạp
S. Suryawanshi và V. Dixit [44]	Ngưỡng phân phối Poisson	Không hiệu quả cho phân tách tế bào chồng lấp
Yunda và cs [45]	Độ dốc hình thái và K-Median	Không phụ thuộc giá trị ban đầu của K
Sheeba và cs [25], S. Savkare và S. Narote [28], H. Lee và Y. Chen [46], J. Gate và cs [47], Anggraini và cs [48]	Ngưỡng Otsu	Phân loại các điểm ảnh thông qua giá trị ngưỡng tối ưu
Somasekar và cs [31], J.E. Arco và cs [49], S.F. Toha và U.K. Ngah [50], Prasad và cs [51], I. Suwalka và cs [52], N. Linder và cs [53]	Xác định ngưỡng dựa trên biểu đồ Histogram	Lựa chọn ngưỡng là rất quan trọng, lựa chọn sai có thể dẫn đến phân tách sai vị trí
M.-H. Tsai và cs [22], Y.-W. Hung và cs [54]	Phương pháp nhận diện theo vùng hình ảnh	Phương pháp nhanh và đáng tin cậy, cho hình ảnh đồng nhất, tuy nhiên kỹ thuật này không nhất quán khi hình ảnh có độ biến thiên lớn
P. Rakshit và K. Bhowmik [16], S. Jalari và B.E. Reddy [55], B. Maiseli và cs [56]	Thuật toán phát hiện viền	Cho hình ảnh có độ tương phản cao hơn giữa các đối tượng

Trích xuất các tính năng quan trọng: trích xuất tính năng là quá trình thể hiện hình ảnh ở dạng không trực quan. Bước này không thể thiếu trong hầu hết các giải thuật xử lý hình ảnh, bởi vì nó đánh dấu bước chuyển từ hình ảnh sang biểu diễn dữ liệu khác (ma trận số) [57]. KSTSR và các thành phần được nhuộm màu khác là các đối tượng linh hoạt với các biến thể lớn về hình dạng, kích thước và hình thái. Thông tin màu sắc có giá trị nhưng không đủ để phân biệt giữa các vật thể nhuộm màu khác và KSTSR và cả trong các loài khác nhau. Các đặc điểm nổi bật giúp phân biệt tế bào bình thường hay tế bào nhiễm bệnh được xác định là bộ tính năng. Hầu hết các nghiên cứu đã báo cáo cả kết cấu cũng như các đặc trưng hình học để mô tả các giai đoạn nhiễm SR.

Các đặc trưng hình học: đặc điểm này rất quan trọng đối với việc nhận dạng các hình ảnh phức tạp, nhiều nhà nghiên cứu đã sử dụng chúng để nhận dạng KSTSR. Diện tích và chu vi là các tính năng được sử dụng để thể hiện kích thước của các ô, trong khi các tính năng hình dạng có thể được nhóm lại dựa trên khu vực và ranh giới. Để trích xuất các tính năng, hình ảnh ô được chuyển đổi thành hình ảnh nhị phân, trong đó các điểm ảnh ở mỗi ô được biểu thị bằng giá trị khác 0. Trong bối cảnh chẩn đoán tự động KSTSR, các đặc điểm hình học được dùng để phân chia các loài KSTSR và giai đoạn sống của mỗi loài liên quan đến hình dạng của KST. Tuy nhiên, các đặc điểm hình học không được sử dụng để phân loại hồng cầu bị nhiễm và hồng cầu không bị nhiễm.

Đặc trưng kết cấu: kết cấu của một hình ảnh mô tả sự phân bố về mặt không gian dựa trên cường độ hoặc màu sắc trong một khu vực cụ thể. Kết cấu của một tế bào hồng cầu khỏe mạnh cho thấy cường độ đồng đều trên bề mặt tế bào dưới hình ảnh hiển vi. Các đặc điểm kết cấu được thảo luận bên dưới được sử dụng để xác định xem các hồng cầu có bị nhiễm KSTSR hay không và phân loại chúng thành hai lớp (bị nhiễm hoặc không bị nhiễm). Tuy nhiên, việc phân loại các loài KSTSR và giai đoạn sống của chúng bằng cách chỉ sử dụng các đặc điểm kết cấu không dễ dàng. Để phân loại các loài KST, các đặc trưng hình học phụ thuộc giai đoạn sống được sử dụng cùng với đặc điểm kết cấu và màu sắc. Kết cấu hình ảnh được mô tả tốt bởi các thuộc tính như sự đồng nhất, hình dạng đơn giản, bề mặt thô nhám và đều đặn.

Các đặc trưng được sử dụng trong phân tích tế bào hồng cầu có thể được nhóm lại thành các dạng đặc trưng hình học và đặc trưng kết cấu như trong bảng 3.

Bảng 3. Các đặc tính để phân loại hồng cầu và KSTSR.

Tài liệu tham khảo	Đặc điểm	Tính năng đặc trưng
N.E. Ross và cs [14], L. Gitonga và cs [15], C. Di Ruberto và cs [19], Das và cs [30], R.R. Devi và cs [37], H. Lee và Y.-P.P. Chen [46], F.B. Tek và cs [20, 58], S. Savkare và S. Narote [28, 59], S. Raviraja và cs [60], S.K. Kumarasamy và cs [61]	Đặc trưng hình học	Diện tích, chu vi, tỷ lệ diện tích, diện tích lồi, độ rắn, yếu tố hình thức, khoảnh khắc, độ nén, độ lệch tâm, số thùy, độ tròn, hướng, hình chữ nhật, đối xứng, độ dốc và độ giãn dài
L. Gitonga và cs [15], M.I. Khan và cs [18], Díaz và cs [21], Das và cs [30], Gual-Arnau và cs [35], M.L. Chayadevi và G. Raju [43], Yunda và cs [45], H. Lee và Y.-P.P. Chen [46], F.B. Tek và cs [20, 58], S. Savkare và S. Narote [28, 59], S. Widodo [62]	Đặc trưng kết cấu hoặc màu sắc	Giá trị trung bình, phương sai, độ lệch chuẩn (standard deviation), sai số trung bình bình phương (mean squared error), chất lượng hình ảnh và màu sắc

Phân loại: quá trình phân loại trong chẩn đoán SR tự động thường được áp dụng cho hai mục đích: để quyết định liệu hồng cầu có bị nhiễm hay không và để phân loại các loài KSTSR cũng như giai đoạn sống của chúng. Danh sách các thuật toán phân loại được sử dụng bởi các nghiên cứu đã công bố để phân loại các tế bào bị nhiễm bệnh hoặc giai đoạn sống và các loài KST được mô tả trong bảng 4.

Bảng 4. Tổng hợp các kỹ thuật phân loại khác nhau.

Tài liệu tham khảo	Kỹ thuật phân loại	Ghi chú
N.E. Ross và cs [14], M.I. Khan và cs [18], F.B. Tek. và cs [20], M.L. Chayadevi và G. Raju [43]	Back propagation neural network (BPNN)	Khắc phục những hạn chế của mạng một lớp
L. Gitonga và cs [15], Yunda và cs [45], H. Lee và Y.-P.P. Chen [46]	Artificial Neural Network (ANN)	Hiệu suất và độ chính xác của phân loại phụ thuộc vào cấu trúc mạng và số lượng đầu vào
Purwar và cs [24]	Phân cụm K-mean	Phân cụm K-means là thuật toán học không giám sát (unsupervised learning). Kỹ thuật này trích xuất được những thông tin quan trọng dựa trên mối liên quan giữa các điểm dữ liệu
Das và cs [30]	Naive Bayes	Naive Bayes có thời gian huấn luyện và kiểm tra rất nhanh
S. Suryawanshi và V. Dixit [44]	Cây quyết định sử dụng khoảng cách Euclide	Việc tính toán khoảng cách có thể phụ thuộc vào từng loại dữ liệu.
S.P. Premaratne và cs [63]	Feed Forward neural network	Các node được kết nối một chiều duy nhất từ đầu đến cuối mà không có suy luận ngược lại
Díaz và cs [21], Gual-Arnau và cs [35], F.B. Tek và cs [20, 58], L. Malihi và cs [64]	K-nearest neighbors classifier (KNN)	Phân loại K lân cận (K-nearest neighbors classifier) là một thuật toán có giám sát (supervised learning)
Díaz và cs [21], Das và cs [30], M.L. Chayadevi và G. Raju [43], N. Linder và cs [53], S. Savkare và S. Narote [28, 59], S.K. Kumarasamy và cs [61], S. Widodo [62], L. Malihi và cs [64]	Support Vector Machine (SVM)	Máy vector hỗ trợ (SVM) có thể làm việc với dữ liệu gần tách biệt tuyến tính như mô hình hồi quy logistic
F.B. Tek. và cs [20], L. Malihi và cs [64]	Hàm phân lớp tuyến tính của Fisher (Fisher linear discriminant - FLD)	FLD là phương pháp giảm chiều dữ liệu mà vẫn giữ lại những đặc trưng quan trọng nhất cho việc phân loại.
L. Malihi và cs [64]	Phân loại trung bình gần nhất (Nearest mean classifier)	Hữu ích trong các trường hợp lượng mẫu ít nhưng lại có nhiều đặc trưng

Kết luận

Bài tổng quan này giới thiệu một số kỹ thuật trong chẩn đoán tự động bệnh SR dựa trên phân tích hình ảnh tế bào máu. Trong đó, điểm lại vắn tắt các thuật toán, kỹ thuật và phương pháp nhận biết KSTSR qua phân tích hình ảnh có sự hỗ trợ của máy tính và chỉ ra những hạn chế hiện có. Để thực hiện chẩn đoán SR qua hình ảnh vết máu trên lam kính, hệ thống chẩn đoán tự động đòi hỏi 5 giai đoạn quan trọng là thu nhận hình ảnh, tiền xử lý hình ảnh, phân đoạn KST, trích xuất và phân loại tính năng với khả năng xác định sự hiện diện của KSTSR trong mẫu máu bằng cách phân biệt giữa các vật nhuộm màu không phải KST (hồng cầu, bạch cầu, tiểu cầu) và KSTSR. Để xác định nhiễm trùng nếu mẫu máu được chẩn đoán là dương tính, cần thực hiện một quá trình bổ sung xác định các giai đoạn phát triển KSTSR và bệnh bằng cách phân biệt các loài KST và các giai đoạn phát triển của chúng. Tuy nhiên, phần lớn các nghiên cứu phân tích hình ảnh để chẩn đoán SR hiện tại chưa đáp ứng được các yêu cầu nêu trên. Điều này cũng mở ra cơ hội cho các nhà nghiên cứu cải tiến các kỹ thuật ngày càng tốt hơn.

Gần đây, ứng dụng trí tuệ nhân tạo (AI) vào y khoa là một trong những lĩnh vực nghiên cứu ứng dụng nổi trội nhất [65]. Không chỉ riêng Việt Nam mà ở nhiều quốc gia trên thế giới, các sản phẩm thực tế từ ứng dụng AI đều thu hút được sự quan tâm của các nhà đầu tư. Hiện nay, việc phát hiện KSTSR bằng xét nghiệm lam máu nhuộm Giemsa trên kính hiển vi vẫn được coi là phương pháp chính để chẩn đoán SR. Do vậy, phương pháp phân tích hình ảnh này cần được xem xét nghiên cứu để áp dụng AI vào thực tế.

Ứng dụng AI trong chẩn đoán SR sẽ là hướng tiếp cận mới, hiện đại. Công nghệ AI kết hợp với dịch vụ dữ liệu di động có thể giúp cải thiện hiệu quả phát hiện SR vì có thể áp dụng để hỗ trợ các kỹ thuật viên chỉ được đào tạo cơ bản và thậm chí cả những cán bộ y tế không chuyên sâu, thông qua việc sử dụng thiết bị di động để chụp hình ảnh tế bào máu nhuộm Giemsa trên lam kính, chuyển hình ảnh qua mạng viễn thông đến trung tâm lưu trữ dữ liệu và xử lý hình ảnh bằng công nghệ AI. Phần mềm ứng dụng công nghệ AI có thể đưa ra gợi ý giúp xác định các trường hợp bình thường hoặc bất thường ngay sau đó, với độ chính xác cao, rất tiện lợi và giảm thiểu chi phí cho những vùng sâu, vùng xa, đặc biệt là các khu vực biên giới hạ lưu sông Mekong. Hướng nghiên cứu này đòi hỏi sự tham gia của các nhà khoa học thị giác máy tính lẫn các nhà nghiên cứu bệnh học, cũng như các lập trình viên, xây dựng phần mềm để đạt được sự hợp tác giữa các bên và cùng nhau phát triển.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

[1] WHO (2016), *Eliminating Malaria*, https://www.who.int/malaria/publications/atoz/eliminating-malaria/en/.

[2] Cục Y tế Dự phòng - Bộ Y tế (2016), *Sổ tay xét nghiệm bệnh truyền nhiễm*.

[3] Nguyễn Thị Thu Vân (2019), *Thực trạng và một số yếu tố liên quan đến nhiễm ký sinh trùng sốt rét ở vùng dân di biến động tại Bình Phước*, Luận văn Thạc sỹ, Học viện Khoa học và Công nghệ.

[4] Báo điện tử Chính phủ (2011), *Phấn đấu đến năm 2030 sẽ loại trừ bệnh sốt rét*, http://baochinhphu.vn/Tin-noi-bat/Phan-dau-den-nam-2030-loai-tru-sot-ret/66091.vgp.

[5] Viện Sốt rét Quy Nhơn (2008), "Đánh giá kết quả phòng chống sốt rét 2001-2008, định hướng kế hoạch phòng chống sốt rét (2009-2013) khu vực miền Trung và Tây Nguyên", *Hội nghị Phòng chống sốt rét khu vực miền Trung - Tây Nguyên*.

[6] Nguyễn Văn Chương, Huỳnh Hồng Quang (2013), "Sốt rét do ký sinh trùng khi Plasmodium knowlesi tại Việt Nam: tổng hợp và cập nhật y văn thế giới", *Tạp chí Y học Dự phòng*, **23(10)**, tr.47.

[7] Lục Tiểu Nguyên (2005), "Tình hình sốt rét ở nhóm dân đi rừng ngủ rẫy và một số biện pháp can thiệp tại xã Sơn Thái, huyện Khánh Vĩnh, tỉnh Khánh Hòa", *Tạp chí Y học Thực hành*, **511**, tr.110-114.

[8] Nguyễn Đức Hảo (2010), *Xác định tỷ lệ mắc và thực trạng sử dụng thuốc tự điều trị sốt rét cho người ngủ rẫy tại xã Đắk R'Măng, huyện Đắk Glong, tỉnh Đắk Nông năm 2010*, Luận văn Thạc sỹ, Trường Đại học Tây Nguyên.

[9] WHO (2010), *Basic Malaria Microscopy - Part I: Learner's Guide*, https://www.who.int/malaria/publications/atoz/9241547820/en/.

[10] B. Grabias, E. Essuman, I.A. Quakyi, S. Kumar (2019), "Sensitive real-time PCR detection of *Plasmodium falciparum* parasites in whole blood by erythrocyte membrane protein 1 gene amplification", *Malar. J.*, **18(116)**, DOI: 10.1186/s12936-019-2743-9.

[11] N. Siwal, et al. (2018), "Malaria diagnosis by PCR revealed differential distribution of mono and mixed species infections by *Plasmodium falciparum* and *P. vivax* in India", *PLOS ONE*, **13(3)**, DOI: 10.1371/journal.pone.0193046.

[12] K.B. Beshir, N. Diallo, C.J. Sutherland (2018), "Identifying recrudescent *Plasmodium falciparum* in treated malaria patients by real-time PCR and high resolution melt analysis of genetic diversity", *Sci. Rep.*, **8**, DOI: 10.1038/s41598-018-28179-2.

[13] F.B. Tek, A.G. Dempster, I. Kale (2009), "Computer vision for microscopy diagnosis of malaria", *Malar. J.*, **8**, DOI: 10.1186/1475-2875-8-153.

[14] N.E. Ross, C. Pritchard, D. Rubin, A. Duse (2006), "Automated image processing method for the diagnosis and classification of malaria on thin blood smears", *Med. Biol. Eng. Comput.*, **44**, pp.427-436.

[15] L. Gitonga, D. Maitethia Memeu, K. Kaduki, M. Kale, N. Muriuki (2014), "Determination of plasmodium parasite life stages and species in images of thin blood smears using artificial neural network", *Open J. Clin. Diagnostics*, **4**, pp.78-88.

[16] P. Rakshit and K. Bhowmik (2013), "Detection of presence of parasites in human RBC in case of diagnosing malaria using image processing", *2013 IEEE Second International Conference on Image Information Processing (ICIIP-2013)*, pp.329-334.

[17] S.W. Sio, et al. (2007), "MalariaCount: an image analysis-based program for the accurate determination of parasitemia", *J. Microbiol. Methods*, **68(1)**, pp.11-18.

[18] M.I. Khan, B. Acharya, B. Kumar, J. Soni, B. Singh (2011), "Content based image retrieval approaches for detection of malarial in blood images", *Int. J. Biometrics Bioinformatics (IJBB)*, **5(2)**, pp.97-110.

[19] C. Di Ruberto, A. Dempster, S. Khan, B. Jarra (2002), "Analysis of infected blood cell images using morphological operators", *Image Vis. Comput.*, **20**, pp.133-146.

[20] F.B. Tek, A. Dempster, I. Kale (2010), "Parasite detection and identification for automated thin blood film malaria diagnosis", *Comput. Vis. Image Underst.*, **114**, pp.21-32.

[21] G. Díaz, F.A. González, E. Romero (2009), "A semi-automatic method for quantification and classification of erythrocytes infected with malaria parasites in microscopic images", *J. Biomed. Inform.*, **42(2)**, pp.296-307.

[22] M.-H. Tsai, S.-S. Yu, Y.-K. Chan, C.-C. Jen (2015), "Blood smear image based malaria parasite and infected-erythrocyte detection and segmentation", *J. Med. Syst.*, **39(10)**, DOI: 10.1007/s10916-015-0280-9.

[23] A.S. Abdul-Nasir, M.Y. Mashor, Z. Mohamed (2013), "Colour image segmentation approach for detection of malaria parasites using various colour models and K-means clustering", *WSEAS Trans. Biol. Biomed.*, **10(1)**, pp.41-55.

[24] Y. Purwar, S. Shah, G. Clarke, A. Almugairi, A. Muehlenbachs (2011), "Automated and unsupervised detection of malaria parasites in microscopic images", *Malar. J.*, **10**, DOI: 10.1186/1475-2875-10-364.

[25] F. Sheeba, R. Thamburaj, J. Mammen, A. Nagar (2013), "Detection of plasmodium falciparum in peripheral blood smear images", *Proceedings of Seventh International Conference on Bio-Inspired Computing: Theories and Applications (BIC-TA 2012)*, pp.289-298.

[26] S. Punitha, P. Logeshwari, P. Sivaranjani, S. Priyanka (2017), "Detection of malarial parasite in blood using image processing", *Asian Journal of Applied Science and Technology (AJAST)*, **1(2)**, pp.211-213.

[27] S. Kaewkamnerd, C. Uthaipibull, A. Intarapanich, M. Pannarut, S. Chaotheing, S. Tongsima (2012), "An automatic device for detection and classification of malaria parasite species in thick blood film", *BMC Bioinformatics*, **13**, Suppl. 17, DOI: 10.1186/1471-2105-13-S17-S18.

[28] S. Savkare and S. Narote (2015), "Automated system for malaria parasite identification", *Proc. of Int. Conf. Commun. Inf. Comput. Technol.*, DOI: 10.1109/ICCICT.2015.7045660.

[29] N. Ahirwar, S. Pattnaik, B. Acharya (2012), "Advanced image analysis based system for automatic detection and classification malarial parasite in blood images", *Int. J. Inf. Technol. Knowl. Manag.*, **5(1)**, pp.59-64.

[30] D.K. Das, M. Ghosh, M. Pal, A.K. Maiti, C. Chakraborty (2013), "Machine learning approach for automated screening of malaria parasite using light microscopic images", *Micron*, **45**, pp.97-106.

[31] J. Somasekar, B.E. Reddy, E.K. Reddy, C.H. Lai (2011), "An image processing approach for accurate determination of parasitemia in peripheral blood smear images", *International Journal of Computer Applications*, **1**, pp.23-28.

[32] M.-T. Le, T. Bretschneider, C. Kuss, P. Preiser (2008), "A novel semi-automatic image processing approach to determine Plasmodium falciparum parasitemia in Giemsa-stained thin blood smears", *BMC Cell Biol.*, **9(1)**, DOI: 10.1186/1471-2121-9-15.

[33] K. Chakrabortya (2015), "A combined algorithm for malaria detection from thick smear blood slides", *J. Heal. Med. Informatics*, **6(1)**, pp.645-652.

[34] L.B. Damahe, R. Krishna, N. Janwe (2011), "Segmentation based approach to detect parasites and RBCs in blood cell images", *Int. J. Comput. Sci. Appl.*, **4(2)**, pp.71-81.

[35] X. Gual-Arnau, S. Herold-García, A. Simó (2015), "Erythrocyte shape classification using integral-geometry-based methods", *Med. Biol. Eng. Comput.*, **53(7)**, pp.623-633.

[36] V. Makkapati and R. Rao (2009), "Segmentation of malaria parasites in peripheral blood smear images", *IEEE International Conference on Acoustics, Speech and Signal Processing*, pp.1361-1364.

[37] R.R. Devi, V. Rajagopal, S. Mohan, M. Gopu (2011), "Computerized shape analysis of erythrocytes and their formed aggregates in patients infected with P. vivax malaria", *Adv. Comput. An Int. J.*, **2(2)**, pp.71-77, DOI: 10.5121/acij.2011.2207.

[38] L. Zou, J. Chen, J. Zhang, N. Garcia (2010), "Malaria cell counting diagnosis within large field of view", *International Conference on Digital Image Computing: Techniques and Applications*, pp.172-177.

[39] C. Dallet, S.K. Reni, I. Kale (2014), "Real time blood image processing application for malaria diagnosis using mobile phones", *IEEE International Symposium on Circuits and Systems (ISCAS)*, pp.2405-2408.

[40] S.K. Reni, I. Kale, R.C.S. Morling (2012a), "Automated malaria parasite detection in thin blood films: a hybrid illumination and color constancy insensitive, morphological approach", *IEEE Asia Pacific Conference on Circuits and Systems,* pp.240-243.

[41] S. Kareem, R.C.S. Morling, I. Kale (2011), "A novel method to count the red blood cells in thin blood films", *IEEE International Symposium of Circuits and Systems (ISCAS)*, pp.1021-1024.

[42] S.K. Reni, I. Kale, R. Morling (2012b), "Automated *P. falciparum* detection system for post-treatment malaria diagnosis using modified annular ring ratio method", *UKSim 14th International Conference on Computer Modelling and Simulation*, pp.432-436.

[43] M.L. Chayadevi and G. Raju (2015), "Automated colour segmentation of malaria parasite with fuzzy and fractal methods", *Smart Innov. Syst. Technol.*, **3**, pp.53-63.

[44] S. Suryawanshi and V. Dixit (2013), "Improved technique for detection of malaria parasites within the blood cell images", *Int. J. Sci. Eng. Res.*, **4**, pp.373-375.

[45] L. Yunda, A. Alarcón, J. Millán (2012), "Automated image analysis method for *P. vivax* malaria parasite detection in thick film blood images", *Sist. y Telemática*, **10(20)**, pp.9-25.

[46] H. Lee and Y.-P.P. Chen (2014), "Cell morphology based classification for red cells in blood smear images", *Pattern Recognit. Lett.*, **49**, pp.155-161.

[47] J. Gatc, F. Maspiyanti, D. Sarwinda, A. Arymurthy (2013), "*Plasmodium* parasite detection on red blood cell image for the diagnosis of malaria using double thresholding", *International Conference on Advanced Computer Science and Information Systems (ICACSIS)*, pp.381-385.

[48] D. Anggraini, A.S. Nugroho, C. Pratama, I.E. Rozi, V. Pragesjvara, M. Gunawan (2011), "Automated status identification of microscopic images obtained from malaria thin blood smears using Bayes decision: a study case in *Plasmodium falciparum*", *International Conference on Advanced Computer Science and Information Systems*, pp.347-352.

[49] J.E. Arco, J.M. Górriz, J. Ramírez, I. Álvarez, C.G. Puntonet (2015), "Digital image analysis for automatic enumeration of malaria parasites using morphological operations", *Expert Syst. Appl.*, **42(6)**, pp.3041-3047.

[50] S.F Toha and U.K. Ngah (2007), "Computer aided medical diagnosis for the identification of malaria parasites", *International Conference on Signal Processing, Communications and Networking*, pp.521-522.

[51] K. Prasad, J. Winter, U. Bhat, R.V. Acharya, G. Prabhu (2011), "Image analysis approach for development of a decision support system for detection of malaria parasites in thin blood smear images", *J. Digit. Imaging Off. J. Soc. Comput. Appl. Radiol.*, **25(4)**, pp.542-549.

[52] I. Suwalka, A. Sanadhya, A. Mathur, M. Chouhan (2012), "Identify malaria parasite using pattern recognition technique", *International Conference on Computing, Communication and Applications*, pp.1-4.

[53] N. Linder, et al. (2014), "A malaria diagnostic tool based on computer vision screening and visualization of *Plasmodium falciparum* candidate areas in digitized blood smears", *PLOS ONE*, **9**, DOI: 10.1371/journal.pone.0104855.

[54] Y.-W. Hung, et al. (2015), "Parasite and infected-erythrocyte image segmentation in stained blood smears", *J. Med. Biol. Eng.*, **35(6)**, pp.803-815.

[55] S. Jalari and B.E. Reddy (2015), "Segmentation of erythrocytes infected with malaria parasites for the diagnosis using microscopy imaging", *Comput. Electr. Eng.*, **45**, pp.336-351.

[56] B. Maiseli, J. Mei, H. Gao, S. Yin (2014), "An automatic and cost-effective parasitemia identification framework for low-end microscopy imaging devices", *International Conference on Mechatronics and Control (ICMC)*, pp.2048-2053.

[57] M. Nixon and A. Aguado (2019), *Feature Extraction and Image Processing for Computer Vision*, Academic Press, 629pp.

[58] F.B. Tek, A. Dempster, I. Kale (2006), "Malaria parasite detection in peripheral blood images", *British Machine Vision Conference*, pp.347-356.

[59] S. Savkare and S. Narote (2012), "Automatic system for classification of erythrocytes infected with malaria and identification of parasite's life stage", *Procedia Technol.*, **6**, pp.405-410.

[60] S. Raviraja, G. Bajpai, S. Sharma (2007), "Analysis of detecting the malarial parasite infected blood images using statistical based approach", *3rd Kuala Lumpur International Conference on Biomedical Engineering,* pp.502-505.

[61] S.K. Kumarasamy, S. Ong, K. Tan (May 2011), "Robust contour reconstruction of red blood cells and parasites in the automated identification of the stages of malarial infection", *Mach. Vis. Appl.*, **22(3)**, pp.461-469.

[62] S. Widodo (2014), "Texture analysis to detect malaria tropica in blood smears image using support vector machine", *International Journal of Innovative Research in Advanced Engineering*, pp.301-306.

[63] S.P. Premaratne, N.D. Karunaweera, S. Fernando (2006), "A neural network architecture for automated recognition of intracellular malaria parasites in stained blood films", *Proceedings of APAMI & CJKMI-KOSMI Conference*, 4pp.

[64] L. Malihi, K. Ansari-Asl, A. Behbahani (2013), "Malaria parasite detection in giemsa-stained blood cell images", *8th Iranian Conference on Machine Vision and Image Processing (MVIP)*, pp.360-365.

[65] T. Davenport and R. Kalakota (2019), "The potential for artificial intelligence in healthcare", *Futur. Healthc. J.*, **6(2)**, pp.94-98.