

PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DE GOIÁS
ESCOLA POLITÉCNICA
GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA DE COMPUTAÇÃO



WALCY SANTOS REZENDE RIOS

**SEGMENTAÇÃO DE IMAGENS MICROSCÓPICAS PARA QUANTIFICAÇÃO
DA INFECÇÃO DE LEISHMANIOSE EM MACRÓFAGOS COM VISÃO
COMPUTACIONAL**

Goiânia
2022

WALCY SANTOS REZENDE RIOS

**SEGMENTAÇÃO DE IMAGENS MICROSCÓPICAS PARA QUANTIFICAÇÃO
DA INFECÇÃO DE LEISHMANIOSE EM MACRÓFAGOS COM VISÃO
COMPUTACIONAL**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à
Escola Politécnica, da Pontifícia Universidade
Católica de Goiás, como parte dos requisitos
para a obtenção do grau de Bacharel em
Engenharia de Computação.

Orientador(a): Prof. Dr. Clarimar José Coelho.

Goiânia
2022

WALCY SANTOS REZENDE RIOS

**SEGMENTAÇÃO DE IMAGENS MICROSCÓPICAS PARA QUANTIFICAÇÃO
DA INFECÇÃO DE LEISHMANIOSE EM MACRÓFAGOS COM VISÃO
COMPUTACIONAL**

Este Trabalho de Conclusão de Curso foi julgado adequado para obtenção do grau de Bacharel em Engenharia de Computação e aprovado em sua forma final pela Escola Politécnica, da Pontifícia Universidade Católica de Goiás, em 13 de junho de 2022.

Profa. Ma. Ludmilla Reis Pinheiro dos Santos
Coordenador(a) de Trabalho de Conclusão de Curso

Banca examinadora:

Orientador(a): Prof. Dr. Clarimar José Coelho

Coorientador: Diogo Fernandes Costa Silva

Arthur Ricardo de Sousa Vitória

Arthur Galdino Dangoni

Goiânia
2022

RESUMO

A Leishmaniose é uma das vinte doenças negligenciadas conforme classificação da Organização Mundial da Saúde (OMS). Considerada um grande problema de saúde pública, representa um complexo de doenças com importante espectro clínico e diversidade epidemiológica. A Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz) no Brasil realiza o processo de identificação do índice da doença, por meio da contagem manual de amastigotas encontrados em macrófagos, sendo um processo suscetível a erros, além de desgastante para especialistas da área. Este trabalho propõe a automação do processo de contagem de leishmania em macrófagos, através de segmentação semântica, utilizando Redes Neurais. O conjunto de dados foi construído com imagens captadas por smartphones, com amostras geradas em laboratório para realizar o experimento. Os resultados foram comparados com estatísticas obtidas por especialistas em contagem manual. A abordagem proposta foi capaz de segmentar e contar macrófagos e leishmania, atingindo um coeficiente de determinação de 0,8. Portanto, a automação da contagem de leishmaniose com a utilização de Redes Neurais demonstra ser uma metodologia promissora para auxiliar o trabalho dos médicos especialistas no cálculo da taxa de infecção por leishmaniose.

Palavras-chave: Leishmania, Segmentação Semântica, Índice de Infecção

ABSTRACT

Leishmaniasis is one of the twenty neglected diseases according to the World Health Organization (WHO) classification. Considered a major public health problem, it represents a complex of diseases with an important clinical spectrum and epidemiological diversity. The Oswaldo Cruz Foundation (Fiocruz) in Brazil conducts the process of identifying the level of the disease, through the manual count of amastigotes found in macrophages, being a process susceptible to errors and exhausting for specialists in the area. This work proposes the automation of the process of counting leishmania in macrophages through semantic segmentation using Neural Networks. The dataset was built with images captured by smartphones, with samples generated in the laboratory to perform the experiment. The results were compared with statistics obtained by experts in manual counting. The proposed approach was able to segment and count macrophages and leishmania, reaching a Coefficient of determination of 0.8. Therefore, the automation of leishmaniasis counting using neural networks proves to be a promising methodology to assist the work of specialist physicians in calculating the rate of leishmaniasis infection.

Keywords: Leishmaniasis, Semantic Segmentation, Infection Rate

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Representação da estrutura de uma ANN, com três camadas, sendo a camada de entrada, camada escondida e camada de saída.....	12
Figura 2 - Tensor de saída do Segmentador Semântico.....	14
Figura 3 - Segmentação Semântica com transformada de <i>watershed</i>	16
Figura 4 – Fluxograma da metodologia proposta.....	17
Figura 5 – Lâmina com três lamínulas de leishmanias, com representação dos quadrantes cartesianos.....	18
Figura 6 - Microscópio Primo Star com suporte para acoplamento de celular, no laboratório de Computação Científica da PUC-GO.....	19
Figura 7 - Imagem anotada	20
Figura 8 – Cenários de Macrófagos não Contáveis.....	21
Figura 9- Cenários de Macrófagos Contáveis.....	22
Figura 10 - Processo de recorte da imagem para remoção de fundo.....	23
Figura 11 – Exemplo de imagem e sua respectiva máscara – A) Imagem – B) Máscara da Imagem.....	23
Figura 12 - Transformações possíveis em tempo de execução.....	25
Figura 13 - Curva de erro no treino e validação entre as arquiteturas de segmentação semântica.....	30
Figura 14 - Curva da métrica Média IoU no treino e validação entre as arquiteturas de segmentação semântica.....	30
Figura 15- Curva da métrica IoU no treino e validação entre as arquiteturas de segmentação semântica.....	30
Figura 16 - Métricas dos melhores modelos.....	32
Figura 17 - Resultado do segmentador semântico em dados externos.....	33
Figura 18-Segmentação de Leishmaniose com diferentes valores de limiar de ativação	34
Figura 19 – Impacto da Distância mínima sobre o Coeficiente de Determinação em treino e teste.....	35
Figura 20 - Impacto do Limiar de Ativação sobre a Segmentação de Leishmania em treino e teste.....	36
Figura 21 - Imagens com cenário caótico e simples.....	37

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Melhores resultados de cada arquitetura no conjunto de Validação.....	31
Tabela 2 – Métricas dos melhores modelos no conjunto de Validação.....	32
Tabela 3 – Índice de Infecção predito pelo esperado das amostras no conjunto de treino/validação.....	37
Tabela 4 – Índice de Infecção predito pelo esperado das amostras no conjunto de teste.	38
Tabela 5 – Métricas das amostras de treino e teste.....	39

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANN – *Artificial Neural Networks* (Redes Neurais Artificiais)

CNN – *Convolutional Neural Networks* (Redes Neurais Convolucionais)

IoU – *Intersection Over Union* (Intersecção Sobre União)

GPU – *Graphics Processing Units* (Unidade de Processamento Gráfico)

LIPMED – Laboratório Interdisciplinar de Pesquisas Médicas

OMS – Organização Mundial de Saúde

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	10
2 REFERENCIAL TEÓRICO	12
2.1.1 Rede Neurais Convolucionais	13
2.1.2 Camada de Convolução.....	13
2.1.3 Segmentação Semântica.....	13
2.1.4 Mecanismo de Atenção.....	14
2.2 Processamento Digital de Imagens.....	15
2.2.1 Transformada de watershed.....	15
3 MATERIAIS E MÉTODOS	17
3.1 Aquisição dos dados.....	17
3.2 Cálculo do Índice de Infecção no LIPMED.....	19
3.3 Anotação dos dados.....	20
3.4 Critério de anotação.....	20
3.5 Pré-Processamento.....	22
3.6 Segmentador Semântico.....	24
3.7 Intersecção sobre União (IoU).....	24
3.8 Treinamento do Segmentador Semântico.....	25
3.9 Pós-Processamento.....	26
3.10 Métricas de Avaliação ao Índice de infecção.....	27
4 RESULTADOS	29
4.1 Resultado da Segmentação Semântica.....	29
4.2 Resultados do Pós-Processamento	34
5 CONCLUSÃO	40

1 INTRODUÇÃO

As leishmanioses são antroponoses consideradas um grande problema de saúde pública e representam um complexo de doenças, de acordo com o Ministério de Saúde Brasileiro. Isto significa que, trata-se de uma doença primária aos animais, e secundária aos humanos. O vetor da doença são insetos denominados flebotomíneos, conhecidos popularmente como mosquito-palha, tatuquira e birigui (Ministério da Saúde do Brasil, 2017). A maioria das pessoas que são infectadas não desenvolvem sintomas durante a vida, contudo o termo leishmaniose refere a condição de adoecer por meio da infecção transmitida pelo vetor (Organização Mundial de Saúde – OMS).

Existem três principais formas da doença: Leishmaniose Tegumentar ou cutânea (LT), Leishmaniose Visceral (LV), também conhecido como Calazar e Leishmaniose Muco cutânea (LM). Sendo a primeira forma a mais comum, a segunda a mais letal e a terceira a mais incapacitante (OMS). A LT produz úlceras na pele, desde braço, perna e rosto, caso a quantidade de lesões seja significativa pode causar deficiência ao paciente. LV é caracterizada por crises de febre irregular, inchaço no baço e fígado, anemia e perda de peso. Se a doença não for diagnosticada e tratada, a mortalidade pode atingir 100% em dois anos. A LM trata-se de uma variante a LT, na qual produz lesões nas mucosas, como nariz, garganta, boca e tecidos circundantes. Pode destruir parcialmente ou totalmente as mucosas do paciente, levando a incapacitação ou a exclusão social (OMS, 2022).

De acordo com a Organização Mundial de Saúde com pesquisa realizada em 2018, 92 países ou territórios foram considerados endêmicos ou tiveram casos relatados anteriormente para Leishmaniose Cutânea e para Leishmaniose Visceral 83 países ou territórios. Estima-se mais de 30 mil casos novos da forma Calazar por ano e 1 milhão de casos da forma Cutânea, em decorrência de mais de 1 bilhão de pessoas viverem em áreas consideradas endêmicas e com risco de infecção. Apesar da crescente incidência mundial da LT ao redor do mundo, pelo fato de raramente ser fatal, é considerada uma doença negligenciada, com pouco interesse de financiadores, autoridades de saúde pública e profissionais em atividades de pesquisa (Reithinger et al., 2007).

Para confirmar o diagnóstico, existem duas técnicas, a primeira baseada em biópsia da lesão, e a segunda por coleta de amostra por esfregaço da lesão. Após o tingimento das amostras, observa-se no microscópio ótico para visualizar as formas amastigotas, sem flagelo. As observações da amostra com respeito a Taxa de Infecção e o Índice de

Infecção da doença são relevantes para o profissional da área da saúde tomar decisões assertivas no tratamento do paciente.

O processo para calcular o Índice da doença é realizado de forma manual, executado por especialista, portanto é pouco acessível, suscetível a erros, além de ser desgastante ao profissional da área. Em decorrência disso, é relevante automatizar essa tarefa e tornar o prognóstico acessível, gerando contribuições para toda a sociedade, em especial a população mais carente.

Em 2011, Pedro G. F. A. Nogueira, propôs analisar imagens de microscópio utilizando visão computacional e reconhecimento de padrões para adquirir a Taxa de Infecção dos macrófagos e o Índice de Infecção da doença Leishmaniose, contudo o conjunto de dados abordado é por corante fluorescente. A metodologia foi por segmentação semântica sem supervisão, seguido do método *watershed* como pós-processamento.

Em 2020, Coelho et al. propôs a contagem das *Leishmania* dentro de macrófagos, com métodos de Processamento Digital de Imagens com base na morfologia de objetos, de forma não supervisionada. Sendo a falta de robustez a diferentes cenários, uma possível limitação do método.

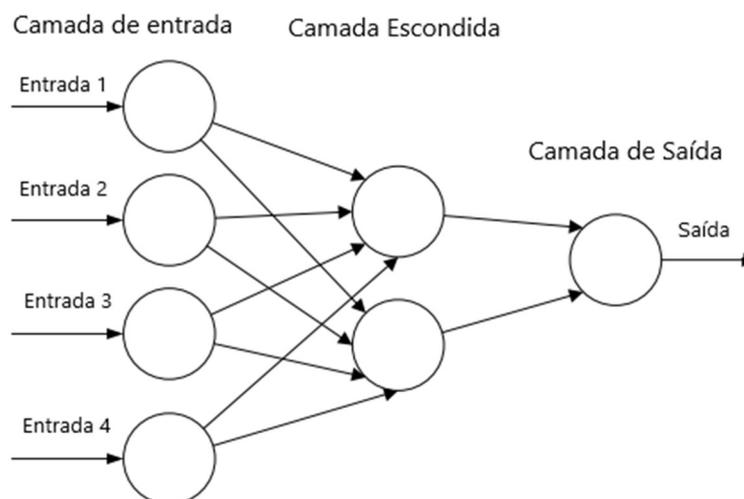
Este trabalho propõe a automatização através de um celular acoplado ao microscópio com um suporte, para realizar a coleta de imagens. A abordagem proposta para quantificar o Índice de Infecção da doença Leishmaniose, é por segmentação semântica com Redes Neurais Profundas de forma supervisionada, seguido de pós-processamento para quantificar as instâncias. A supervisão é necessária para replicar a metodologia atual, adotada pelos especialistas do Laboratório Interdisciplinar de Pesquisas Médicas (LIPMED).

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Redes Neurais Artificiais

Redes Neurais Artificiais (ANN) são sistemas de processamento computacional inspirados no sistema nervoso orgânico (O'Shea et al.). As ANNs são compostas por um grande número de nós computacionais, referenciados como neurônios que de forma conjunta e dispersa aprendem com a entrada e otimizam para a saída final.

Figura 1 – Representação da estrutura de uma ANN, com três camadas, sendo a camada de entrada, camada escondida e camada de saída.



Fonte: Adaptado de O'Shea, et al., 2015

Em uma rede neural artificial a entrada é distribuída com pesos para cada conexão para a camada escondida, que tomará decisões a partir da camada anterior e avaliará como uma mudança nos pesos ou prejudica ou melhora o resultado, referenciado como aprendizado. Ao empilhar várias camadas escondidas é conhecido como aprendizado profundo. A rede que está demonstrada na Figura 1, é conhecida como *feed forward*, cujo paradigma é os dados percorrem da camada de entrada até a camada de saída sem ciclos.

2.1.1 Rede Neurais Convolucionais

Rede Neural Convolucional (CNN – Convolutional Neural Network) é uma arquitetura de aprendizado profundo que pertence à classe de redes neurais *feed forward*. A primeira demonstração que teve êxito em demonstrar o conceito foi em 1998, pelo pesquisador Yann Lecun, com a criação do modelo conhecido por LeNet, com foco em classificar dígitos escritos a mão (LECUN, et al., 1998). Contudo, somente a partir de 2012 as CNN tornaram-se o estado da arte em classificação de imagens, com a criação da arquitetura proposta por Alex Krizhevsky, conhecida como AlexNet (Krizhevsky et al., 2012). A principal relevância das CNNs está na extração de características de forma automatizada (ALBAWI; MOHAMMED; ALZAWI, 2017).

2.1.2 Camada de Convolução

A convolução é uma operação linear entre duas funções que gera uma terceira função (WEISSTEIN, [S.D.]). Na operação de convolução, é realizado o produto entre dois elementos, na qual em visão computacional os elementos são pixels de uma imagem multiplicado pelos filtros gerados (em inglês kernel).

A camada de convolução tem a função de extrair características relevantes aos dados de entrada por meio de seus múltiplos filtros Convolucionais intrínsecos, além de camadas auxiliarem na preservação das principais características e descartar características menos expressivas, sendo efetivo para classificar imagens. A saída de uma camada de Convolução é conhecido como mapa de características.

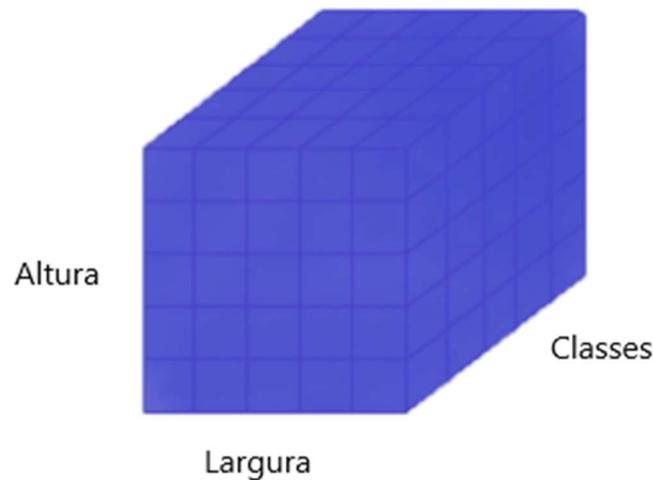
2.1.3 Segmentação Semântica

Segmentação Semântica é a tarefa de associar uma classe para cada pixel de uma imagem (Wang et al. 2018). Enquanto a classificação, atribui uma classe a toda a imagem. A limitação dessa técnica é a falta da informação sobre instâncias da mesma classe, ou seja, não é possível separar objetos sobrepostos de mesma classe. A tarefa de segmentação semântica em Redes Neurais Profundas, é associada a arquitetura de Codificador-Decodificador (em inglês: *encoder-decoder*), em que a etapa do *encoder* é responsável por extrair as principais características para que a etapa do *decoder* consiga projetar semanticamente as características discriminativas aprendidas (UNET WORKS, e +30).

A etapa do extrator de características, ou Codificador, é previamente treinado em conjunto de dados de classificação como o conjunto ImageNet.

Diferentes abordagens adotam métodos diferentes para *encoder* e *decoder*, como arquiteturas que possuem Camadas de Convolução, Totalmente Conectadas (*feed forward*) ou com Mecanismo de Atenção.

Figura 2 - Tensor de saída do Segmentador Semântico



Fonte: Autoria Própria

Um Segmentador Semântico tem como saída um tensor de três dimensões, exemplificado na Figura 2, em outras palavras um cubo de imagens, com dimensões (Altura, Largura, Classes). Onde, Classes é a quantidade de classes do conjunto de dados, incluso a classe considerada fundo e Altura e Largura são as propriedades da imagem.

2.1.4 Mecanismo de Atenção

O nervo óptico do sistema visual de um ser vivo recebe estímulos sensoriais maciços, excedendo em muito o que o cérebro pode processar. Contudo, nem todos os estímulos são processados da mesma forma. A focalização e a concentração permitem direcionar a atenção para objetos de interesse (Zhang et al, 2022). A habilidade de focar a atenção somente em uma pequena fração do todo, é uma informação evolucionária.

Inspirados por esse fenômeno, foi projetado esse conceito para as Redes Neurais Artificiais, Bahdanau et al. em 2014, no cenário de tradução de texto, foi o primeiro a obter sucesso, observando claras vantagens sobre sentenças longas aos métodos prévios.

Posteriormente, Vaswani et al. em 2017, com a proposta de utilizar somente mecanismo de atenção para tradução de texto, observou de fato o impacto de arquiteturas baseadas em atenção, revolucionando toda a área de Processamento de Linguagem Natural. Devido ao sucesso desse método, não demorou até a área de Visão Computacional aderir e renovar o estado da arte.

2.2 Processamento Digital de Imagens

É um conjunto de técnicas computadorizadas para capturar, representar e transformar imagens (PEDRINI; SCHWARTZ, 2007). Uma imagem digital é uma representação de imagem analógica, por meio de matrizes com resoluções espaciais pré-definidas, com altura e largura, onde cada elemento da matriz é conhecido como pixel. (GONZALEZ; WOODS, 2008). A imagem digital tradicional, é a interpolação de três matrizes bidimensionais, em que cada uma representa um canal de cor, conhecido como imagem RGB, em português: vermelho, verde e azul (em inglês: *red, green, blue*). Caso a imagem digital possua somente um canal de cor, será representada em tons de cinza.

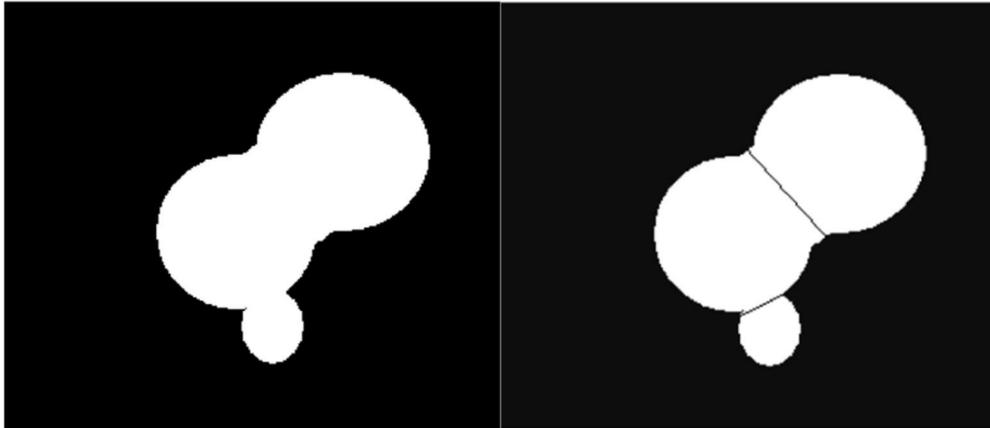
2.2.1 Transformada de *watershed*

É uma técnica de segmentação de imagens com morfologia matemática. Essa técnica computacional é normalmente comparada com a inundação de um relevo topográfico. O processo de inundação gera bacias hidrográficas que, ao tentarem se encontrar, é levantada uma barreira entre elas (AUDIGIER, 2004). Na literatura existem diversas abordagens para solucionar essa transformada, neste trabalho a implementação utilizada se dá por extração de marcação proposto por Yang et al. em 2006. A tarefa de segmentação semântica com esta técnica tem como finalidade principal a delimitação de instâncias, sendo a entrada da função outra segmentação semântica, conforme ilustrado na Figura 3.

Figura 3 - Segmentação Semântica com transformada de *watershed* - A) Imagem original de segmentação de núcleos - B) Resultado da segmentação após a transformada de watershed

A)

B)

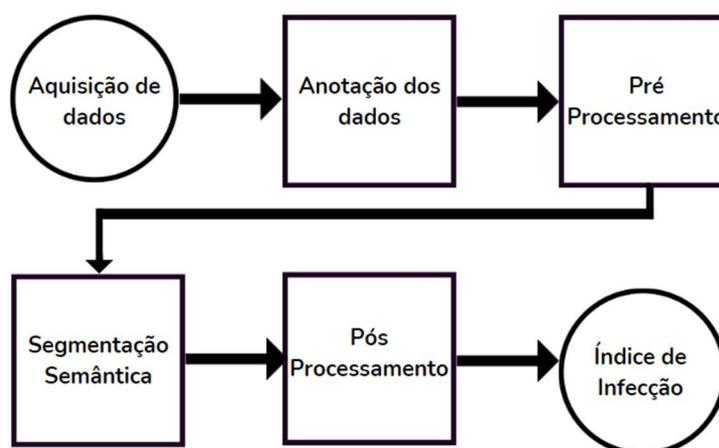


Fonte: Adaptado de Yang et al, 2006

3 MATERIAIS E MÉTODOS

Nesta seção é descrito os materiais e métodos utilizados para atingir os objetivos propostos e realizar os experimentos necessários. A Figura 4 ilustra as principais etapas da metodologia proposta, contendo o início com a Aquisição de dados, Anotação dos dados coletados, etapa de Pré-Processamento, etapa de Segmentação Semântica e por fim o Pós-Processamento, para obter o Índice de Infecção da doença Leishmaniose.

Figura 4- Fluxograma da metodologia proposta



Fonte: Autoria Própria (2022)

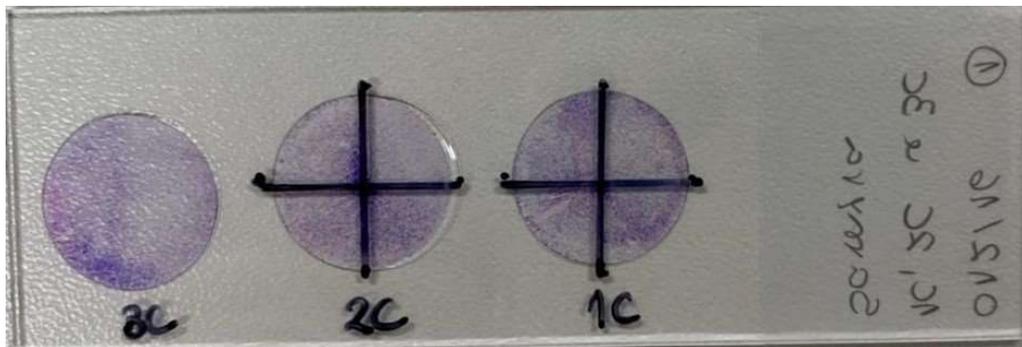
3.1 Aquisição dos dados

A cultura e o conjunto de dados foram elaborados no Laboratório Interdisciplinar de Pesquisas Médicas – Fiocruz, localizado no município do Rio de Janeiro, cuja técnica utilizada para tingir as amostras é por *May-Grunwald-Giemsa*, sendo uma técnica de coloração de esfregaço sanguíneo que utiliza corante para componentes nucleares e citoplasmáticos das células (LABORCLIN, 2018).

Os dados utilizados são imagens, e as coletas foram realizadas no Laboratório de Computação Científica da Pontifícia Universidade Católica de Goiás, por meio do acoplamento de uma câmera de celular a um microscópio focado em 100x, modelo Zeiss Primo Star. Os aparelhos utilizados para a coleta de imagens foram: Moto Z2 Play e Redmi Note 5, com resolução espacial de 3024x4032 e 1536x2048, respectivamente. A

amostragem das imagens coletadas foi realizada a partir de lâminas, em que cada lâmina possui 3 lamínulas, e essas são divididas em 4 quadrantes cartesianos. Em cada secção do quadrante da lamínula são tiradas cinco fotos, totalizando vinte fotos por lamínula e sessenta fotos por lâmina. O número acumulado de imagens utilizadas para anotação foi de 606 imagens. Dentro do conjunto de anotação há 120 imagens com a contagem final do Índice de Infecção pelo próprio especialista da Fiocruz, além disso há mais 120 imagens destinadas a um conjunto de teste externo sem anotação. As lamínulas com gabarito do especialista serão analisadas após o pós-processamento.

Figura 5 – Lâmina com três lamínulas de leishmanias, com representação dos quadrantes cartesianos



Fonte: Autoria Própria (2022)

Figura 6- Microscópio Primo Star com suporte para acoplamento de celular, no laboratório de Computação Científica da PUC-GO



Fonte: Autoria Própria (2022)

3.2 Cálculo do Índice de Infecção no LIPMED

O cálculo do Índice de Infecção no LIPMED é realizado por meio de inferência estatística em cada lamínula dentro de um conjunto de 100 macrófagos considerados contáveis pelos especialistas. A partir desse conjunto é feito o registro da contagem de leishmanias por macrófago. Com base nisso é calculado a taxa de infecção, sendo a quantidade de macrófagos que possuem leishmania dentre as amostras. Por fim, o índice de infecção é a razão entre a soma de leishmanias e a taxa de infecção.

$$\text{Taxa de Infecção} = \frac{MC_L}{MC} \quad (1)$$

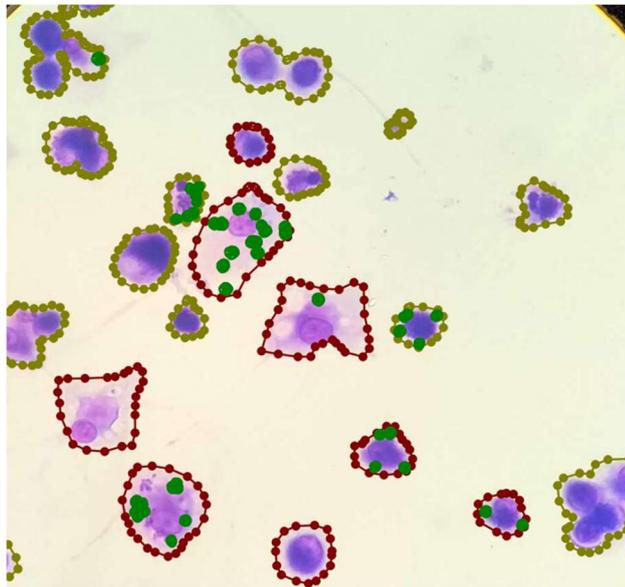
$$\text{Índice de Infecção} = \frac{\text{Leish}}{\text{Taxa de infecção}} \quad (2)$$

Em que, MC_L é a quantidade e macrófagos contáveis com leishmanias, MC é o total de macrófagos contáveis e $Leish$ é a quantidade de leishmanias.

3.3 Anotação dos dados

O método proposto tem como principal etapa a segmentação semântica supervisionada, ou seja, se faz necessário a anotação dos dados, para que sirva de gabarito. O processo de anotação de imagens foi realizado em polígonos nas bordas do objeto. Além de realizar a contagem das leishmanias, tem-se como objetivo replicar o método de contagem pelos especialistas do LIPMED, portanto, a anotação contém três classes, sendo: macrófagos contáveis, macrófagos não contáveis e leishmania, sendo capaz de comparar com a metodologia já existente.

Figura 7- Imagem anotada



Fonte: Autoria Própria (2022)

3.4 Critério de anotação

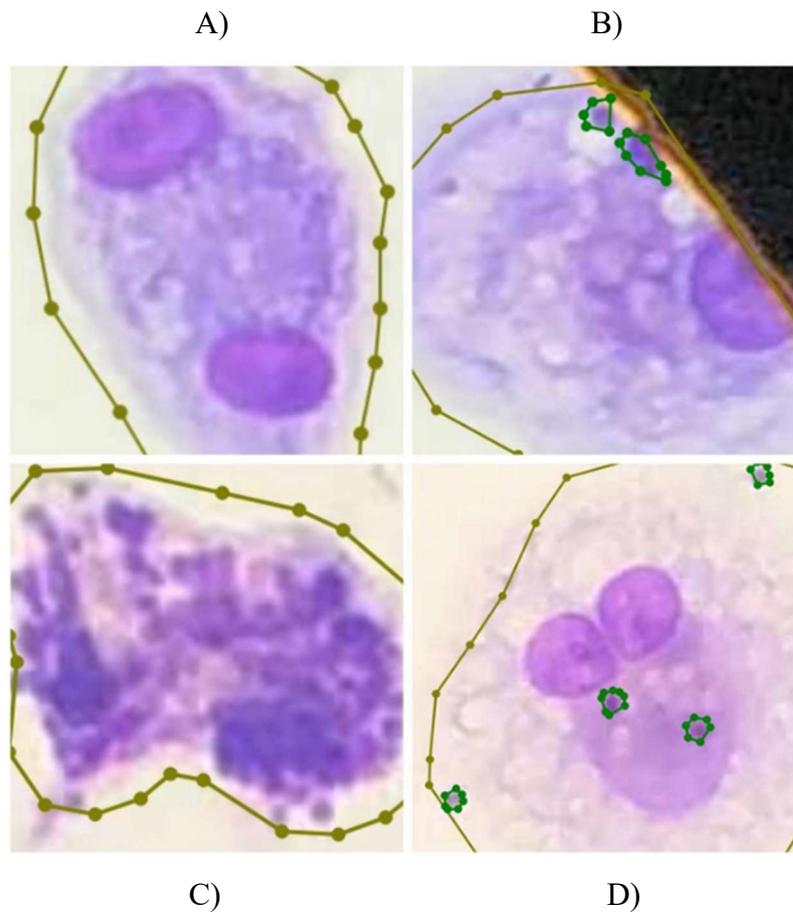
Com base no processo adotado pelo LIPMED foi necessário a criação de critérios de anotação para espelhar o método de classificação entre macrófagos contáveis e não contáveis.

Os critérios de anotação usados para classificar macrófagos não contáveis foram:

- Se o macrófago estiver dividido na borda do microscópio;
- Se houver mais de um núcleo, ocorrendo o processo mitótico;
- Se não houver núcleo definido;

- Se houver um grande número de leishmanias sobrepostas;
- Se os macrófagos estiverem muito próximos, quase sobrepostos.

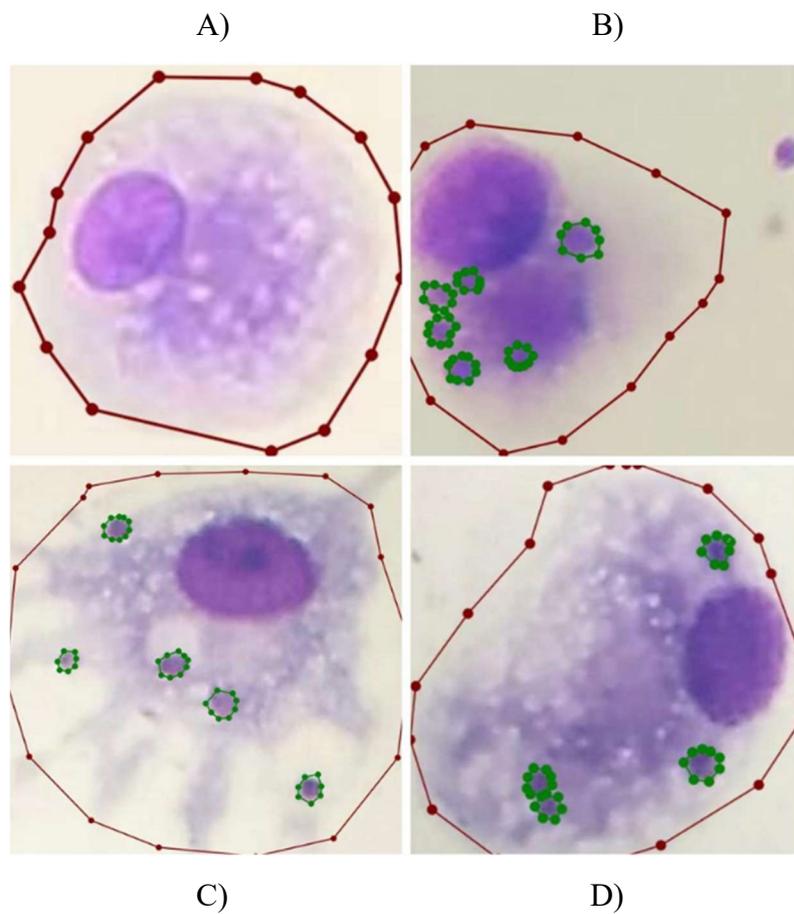
Figura 8 – Cenários de Macrófagos não Contáveis - A) Macrófago sobreposto a outro; B) Macrófago seccionado na borda; C) Macrófago sem núcleo definido e grande número de leishmanias sobrepostas; D) Macrófago em processo mitótico



Fonte: Autoria Própria (2022)

Todos os macrófagos que não atendem aos critérios dos macrófagos não contáveis são considerados macrófagos contáveis. As Leishmanias devem ser anotadas tanto em macrófagos contáveis quanto não contáveis, contudo leishmanias fora de quaisquer macrófagos não devem ser anotadas.

Figura 9- Cenários de Macrófagos Contáveis - A) Macrófago contável sem leishmania; B) Macrófago contável com leishmanias dentro e leishmania fora; C, D) Macrófagos contáveis com leishmanias

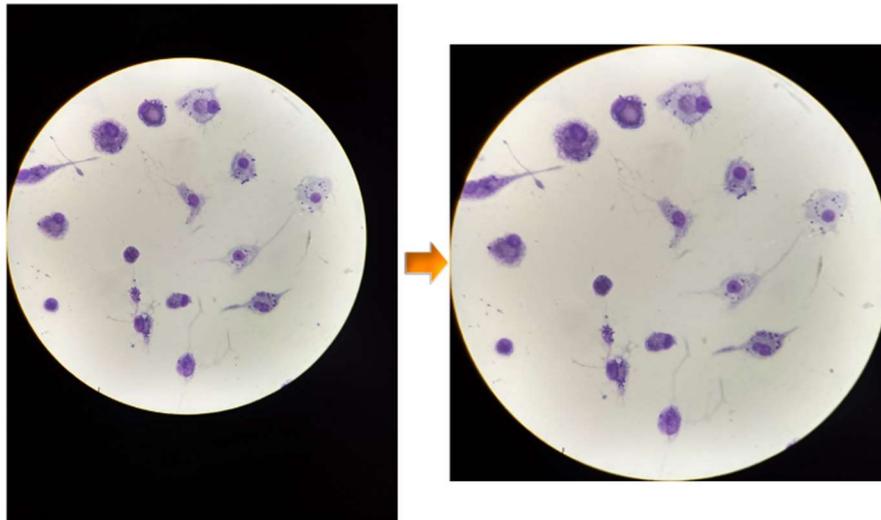


Fonte: Autoria Própria (2022)

3.5 Pré-Processamento

Por conta do método de aquisição das imagens, por meio da acoplagem do celular ao microscópio, uma parte de cada imagem é um fundo preto, que não contém qualquer informação relevante para a solução. Ou seja, é feito um pré-processamento para recortar a imagem com foco somente na parte relevante. Essa etapa também é aplicada nas máscaras criadas, e é realizada com técnicas de contorno de Processamento Digitais de Imagens. Houve redução de 40% até 50% na resolução espacial em cada imagem com a essa etapa.

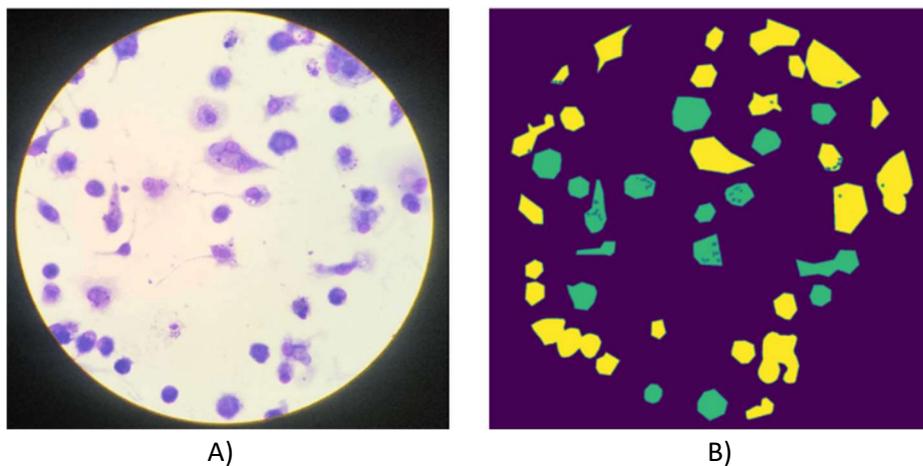
Figura 10 - Processo de recorte da imagem para remoção de fundo



Fonte: Autoria Própria (2022)

A abordagem proposta é baseada em segmentação semântica de forma supervisionada. O gabarito nessa tarefa é uma outra imagem de mesmo tamanho, contendo o valor da classe pixel a pixel, denominado de máscara. Após o processo de anotação por meio de código de programação em Python é gerado imagens de mesmo tamanho com apenas um canal de cor, com valores entre 0 e N-1, sendo N o número de classes.

Figura 11- Exemplo de imagem e sua respectiva máscara – A) Imagem – B) Máscara da Imagem



Fonte: Autoria Própria (2022)

3.6 Segmentador Semântico

Neste trabalho foram utilizadas três arquiteturas de segmentação semântica, duas com métodos Convolucionais e outra com Mecanismo de Atenção e Camadas Totalmente Conectadas, sendo UNet de 2015, DeepLabV3+ de 2018 e SegFormer de 2021, respectivamente.

A escolha das arquiteturas UNet (Ronneberger et al., 2015) e DeepLabV3+ (Chen et al., 2018) é em decorrência de serem utilizados como referência na literatura. A UNet é uma arquitetura com somente camadas de convolução, enquanto a DeepLabV3+ utiliza outra abordagem de convolução conhecida como Convolução Dilatada. A arquitetura de 2021, proposta pela Nvidia, é uma abordagem leve, sendo simples e eficiente (Xie et al., 2021), com base em mecanismo de atenção e redes *feed forward*, atingindo métricas competitivas ao estado da arte com tempo de treinamento significativamente inferior.

Neste trabalho possuímos 4 classes, sendo: Fundo, Leishmania, Macrófago Contável e Macrófago não Contável. É possível utilizar a saída do segmentador canal a canal de classes, ou realizar a operação de *argmax* no tensor e transformar em somente uma imagem com as classes que predominam em cada pixel.

3.7 Intersecção sobre União (IoU)

A Intersecção sobre União (IoU) é uma métrica de avaliação popular para tarefas como segmentação, detecção de objetos e rastreamento (Rezatofighi et al., 2019), também conhecido como Índice de Jaccard.

IoU é um método para quantificar a sobreposição percentual entre a predição e o gabarito. Esse método é bastante aplicado em tarefas de detecção de objetos, e segmentação semântica em que é necessário a localização do objeto além da classificação. Na tarefa de segmentação semântica é comparado a imagem predita com a máscara como gabarito. A avaliação pode ser com base em cada canal de classe separadamente e realizar a média ao fim, conhecido como *mean* IoU, ou na imagem final após a função *argmax*. Neste trabalho, é utilizado as duas abordagens para fins comparativos.

A Intersecção sobre União é representada da seguinte forma:

$$IoU = \frac{|A \cap B|}{|A \cup B|} \quad (3)$$

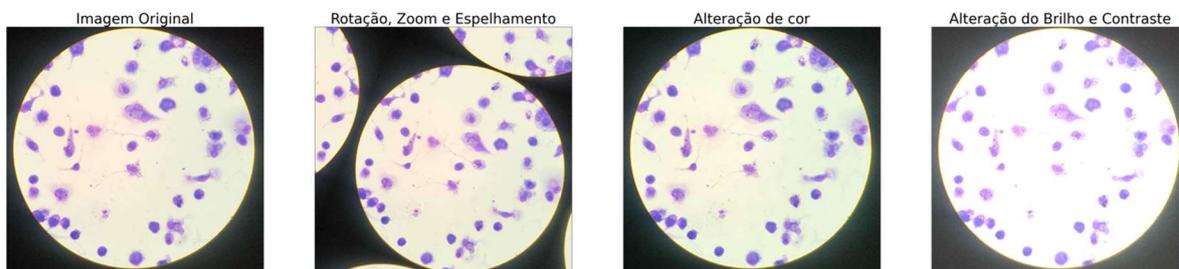
Onde A e B representam os objetos preditos e o gabarito.

3.8 Treinamento do Segmentador Semântico

Nas arquiteturas de Camadas Convolucionais, sendo UNet e DeepLabV3+, foi testado diferentes métodos de extração de características residuais: ResNet50, ResNet101, ResNext50d. A arquitetura SegFormer, é composta de Mecanismo de Atenção e redes *feed forward*, e contém cinco versões, sendo b0 a b5, sendo a principal diferença entre as versões a profundidade das arquiteturas. Em relação a essa arquitetura, foram realizados experimentos com as versões b0, b1, b2 e b3.

O conjunto de dados é dividido entre treino e validação, com 20% para validação e 80% para treino. As imagens são redimensionadas para tamanho espacial de 512x512, com técnica de redução *nearest* nas máscaras para evitar a interpolação de novos valores. É utilizado transformações nas imagens em tempo de treinamento para aumento dos dados, com as configurações padrão da biblioteca *Albumentations*. As transformações adotadas foram: *Rotate*, *RGBShift* e *RandomBrightnessContrast*, dentre essas transformações está incluso aumento de zoom, rotação, alteração do brilho, contraste e cores. Cada transformação tem uma probabilidade de ser aplicada, gerando assim, várias possibilidades por imagem, com as probabilidades de: 0.5, 0.5, 0.3, respectivamente. Tais transformações são somente aplicadas no conjunto de treino. Além disso, as imagens são normalizadas.

Figura 12 - Transformações possíveis em tempo de execução



Fonte: Autoria Própria (2022)

Para a seleção da taxa de aprendizado e extratores de características, em cada arquitetura foi testado a busca em grade (em inglês: *grid search*) pela facilidade de paralelização. Todas as tentativas treinaram por 4800 passos de atualização, ou o cenário mais comum, 80 épocas e tamanho do lote de 8 com o otimizador *AdamW*. O treinamento foi realizado por unidade de processamento gráfico ou *Graphics Processing Unit* (GPU), nas plataformas gratuitas do Google, sendo *Google Colab* e *Kaggle Notebook*. Os extratores de características das camadas Convolucionais foram previamente treinados no conjunto de dados ImageNet, enquanto a arquitetura SegFormer no conjunto de dados ADE20K. A função de custo foi a mais comum para a tarefa de classificação, a Entropia Cruzada. Após o treinamento, foi realizado um rápido experimento sem as transformações das imagens dispostas na Figura 9, para verificar o impacto nas métricas.

Os melhores modelos foram classificados por meio da métrica *mean IoU* no conjunto de validação. As bibliotecas de códigos utilizadas foram: *Pytorch*, *Pytorch Lightning*, *HuggingFace*, *Segmentation Models*.

3.9 Pós-Processamento

A tarefa de segmentação semântica associa cada pixel da imagem a uma classe, contudo não há distinção de instância, ou seja, não é possível separar objetos sobrepostos. Por conta disso, é utilizado o método *watershed*, para separar as leishmanias e posteriormente contá-las.

O objetivo é contar a quantidade de leishmanias, somente em macrófagos contáveis. Dessa forma é necessário a saída do modelo com a segmentação dos macrófagos contáveis, além da segmentação das leishmanias. O método proposto de pós-processamento é recortar (em inglês: *crop*) a região de todos os macrófagos considerados contáveis pela Rede Neural, sendo a região de interesse e aplicar o método *watershed* recorte a recorte, na segmentação das leishmanias.

A segmentação dos macrófagos contáveis percorre uma função Sigmoide para que fique no intervalo de 0 a 1, e é utilizado um limiar de ativação de 0,5, valor este que não há impacto relevante com sua modificação, concluído por testes empíricos. O método de contorno foi a base para realizar o *crop* nos macrófagos contáveis. Para remoção de ruídos, objetos considerados pertencentes a classe com tamanho muito pequeno em relação aos demais, se fez necessário a criação de um filtro com base em um tamanho mínimo de 20 pixels de altura e largura da caixa delimitadora (em inglês: *bounding box*) ao recorte.

A segmentação das leishmanias também percorre uma função Sigmoide para que fique no intervalo de 0 a 1. Os parâmetros que mais influenciam no pós-processamento é a distância mínima no método *watershed*, e o limiar de ativação para a segmentação das leishmanias. Foi realizado experimentos com o melhor modelo de segmentação semântica, para definir os valores ótimos de limiar de ativação e distância mínima comparando com o valor gerado pelos especialistas do laboratório IPAMED. O intervalo percorrido para o limiar de ativação foi de 0,3 até 0,75, variando em 0,05, e para a distância mínima de 1 até 5 no conjunto dos inteiros. Esse processo foi realizado duas vezes, sendo a primeira com conjunto de imagens que fez parte do treinamento e, a segunda, sendo um conjunto que não fez parte do treinamento.

As amostras utilizadas nesse processo de otimização são pertencentes à seção de lâminas cuja identificação é “013 16 1” com as lamínulas: 1A, 1C, 2A, 2C, 3A, 3C, 4A, 4C, 5A, 5C, 6A, 6C.

É necessário registrar a contagem de Leishmanias, a contagem de Macrófagos Contáveis com Leishmanias e o total de Macrófagos Contáveis. Com base nesses valores, calcula-se a Taxa de Infecção e o Índice de Infecção descrito na Seção 3.2.

3.10 Métricas de Avaliação ao Índice de infecção

O Índice de infecção predito é comparado com o do especialista do laboratório IPEMED, sendo tratado como gabarito. O método proposto para comparação entre o predito pelo esperado foi com base em três métricas: a) Raíz Quadrática Média (em inglês: *root squared mean*) ou *RMSE*, b) Erro Médio Absoluto (em inglês: *mean absolute error*) ou *MAE* e, c) Coeficiente de Determinação R^2 .

$$RMSE = \sqrt{\frac{1}{N} \sum_{i=1}^N (\hat{y}_i - y_i)^2} \quad (4)$$

$$MAE = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N |\hat{y}_i - y_i| \quad (5)$$

$$R^2 = 1 - \frac{\sum_{i=1}^N (y_i - \hat{y}_i)^2}{\sum_{i=1}^N (y_i - \bar{y}_i)^2} \quad (6)$$

Em que N são todos os dados, \hat{y}_i são os valores preditos, y_i são os valores esperados e \bar{y}_i é a média dos valores esperados. O intervalo do RMSE e MAE, é de 0 a infinito, e quanto mais próximo de 0 melhor, e para o R^2 o intervalo é de 0 a 1 e quanto mais próximo de 1 melhor.

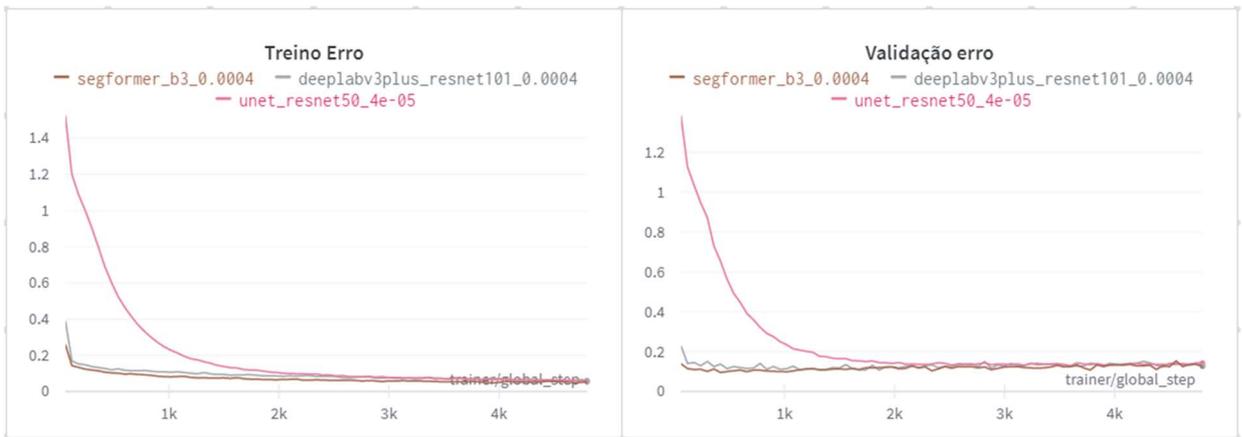
4 RESULTADOS

Este capítulo apresenta os resultados da etapa de segmentação semântica em cada arquitetura testada, com seus gráficos de perda e métricas, seguido de uma tabela comparativa, contendo a função de custo, e métricas de IoU. Consequente aos resultados do pós-processamento realizado com o melhor modelo adquirido.

4.1 Resultado da Segmentação Semântica

No total, como experimentos na tarefa de segmentação, descrita na Secção 3.7, foram treinados 33 modelos. Como comparação entre as arquiteturas propostas, gráficos de treino e validação serão ilustrados, em relação à curva de erro, média de IoU por classe, e IoU após a junção do cubo de imagens com a função *argmax*. Houve suavização de 40% nos gráficos com relação ao IoU para enfatizar a tendência de cada arquitetura com menor variância. Posteriormente, a comparação será entre os cinco principais modelos dentre todos.

Figura 13 - Curva de erro no treino e validação entre as arquiteturas de segmentação semântica



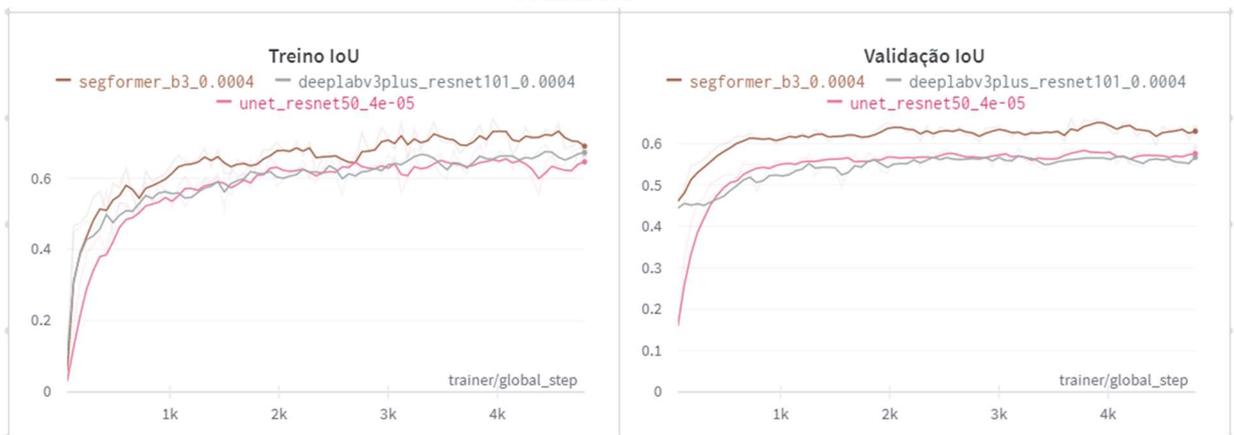
Fonte: Autoria Própria (2022)

Figura 14 - Curva da métrica Média IoU no treino e validação entre as arquiteturas de segmentação semântica



Fonte: Autoria Própria (2022)

Figura 15- Curva da métrica IoU no treino e validação entre as arquiteturas de segmentação semântica



Fonte: Autoria Própria (2022)

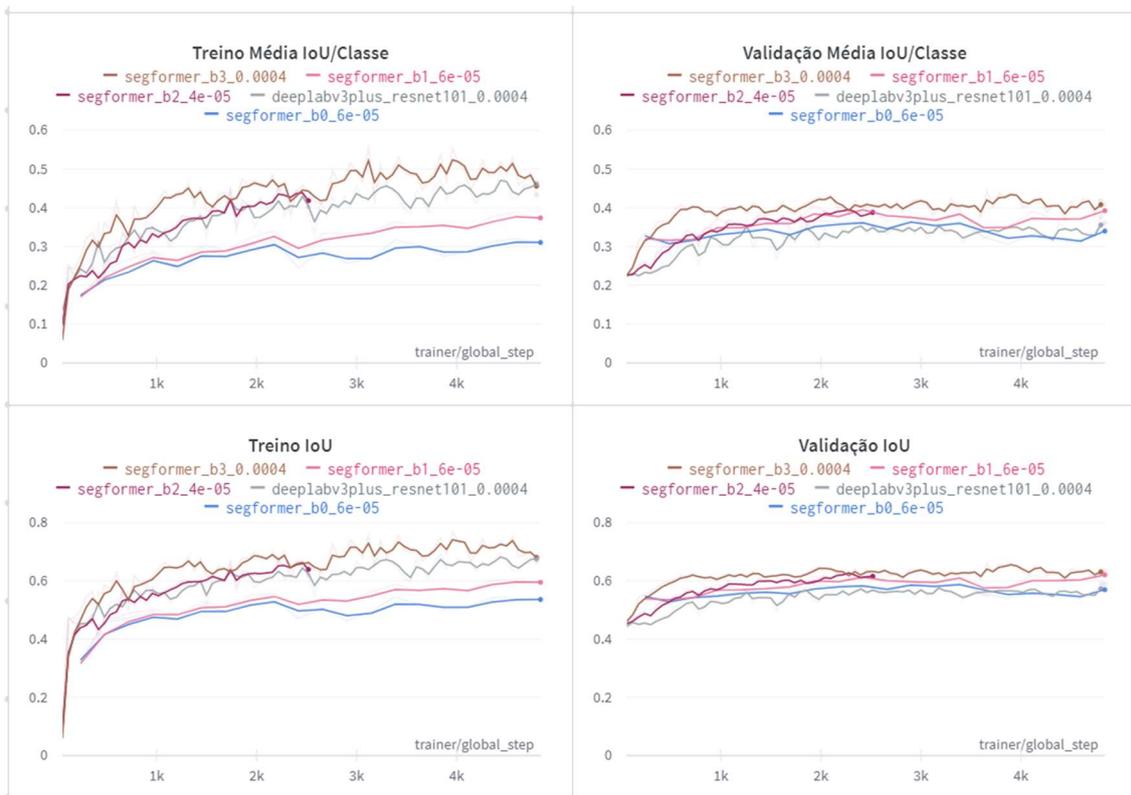
Verifica-se na Figura 13, com a curva de erro de treino e validação que em relação a função de custo houve convergência após 2000 passos de otimização. Os resultados dispostos nas Figura 13 e 14, são esperados em decorrência do avanço das técnicas na tarefa de segmentação semântica, sendo a UNet uma técnica de 2015, DeepLabV3+ de 2018 e SegFormer de 2021. Portanto, a melhor arquitetura, dentre as testadas, foi a mais recente, SegFormer criada pela Nvidia.

Tabela 1 – Melhores resultados de cada arquitetura no conjunto de Validação

Modelo	Média IoU/Classe	IoU	Passo
UNet	0.364	0.5898	3779
DeepLabV3+	0.3771	0.5915	4799
SegFormer-B3	0.4602	0.6855	4739

Dentre os 5 melhores modelos em relação à métrica de IoU, 4 pertencem a arquitetura SegFormer com diferentes versões e hiper parâmetros. O gráfico da Figura 16 contém os melhores resultados de todos os modelos com as métricas: média de IoU por classe, e IoU após a junção da saída do modelo com a função *argmax*, com suavização de 20%. Acerca destes experimentos, todos os modelos são robustos o suficiente para super ajustarem nos dados de treinamento, conhecido como *overfitting*.

Figura 16 - Métricas dos melhores modelos



Fonte: Autoria Própria (2022)

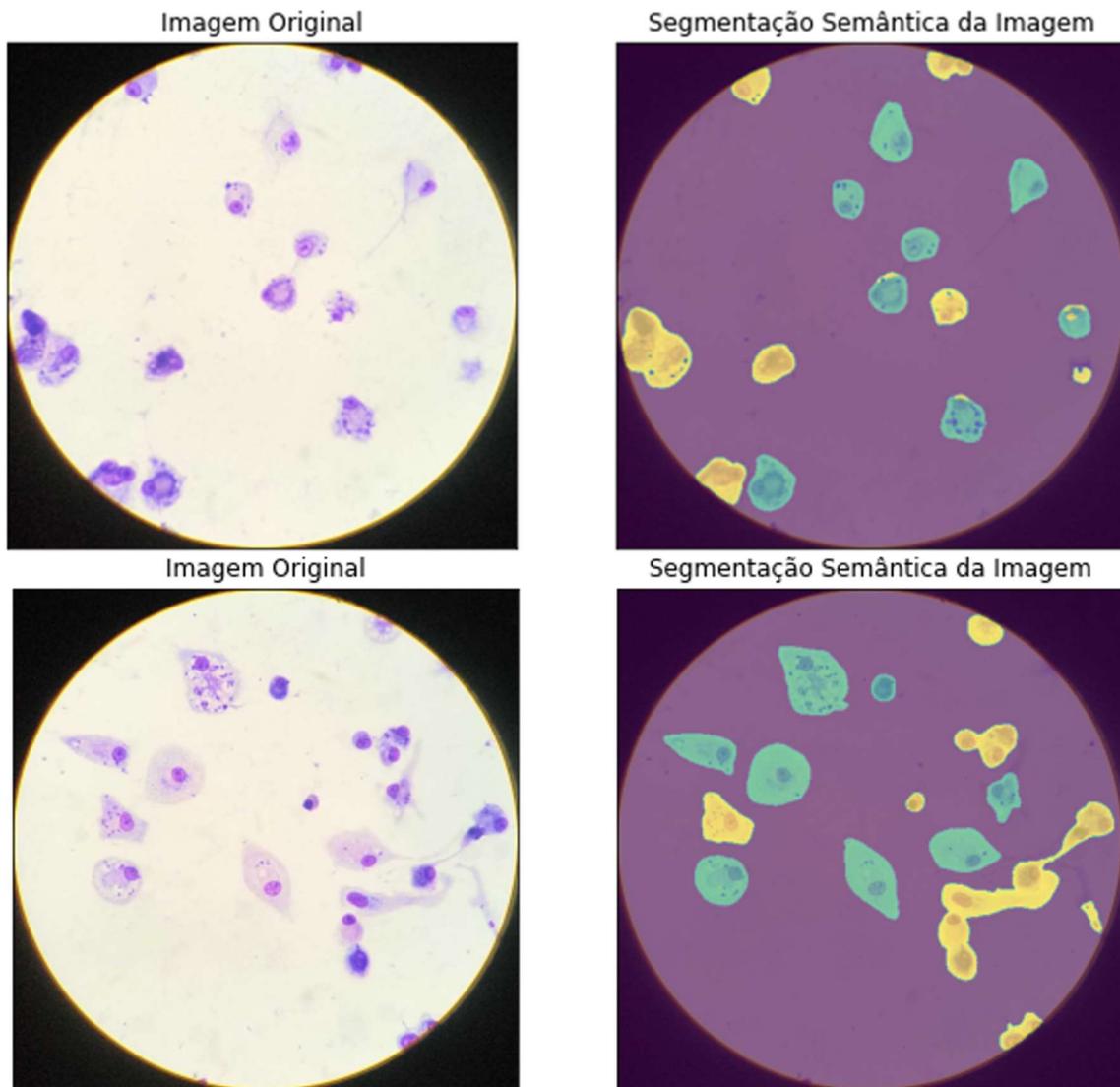
Com base nisso, o melhor modelo obtido a rede SegFormer-B3 com os hiper parâmetros: {tamanho do lote = 8, épocas = 80, taxa de aprendizado = 4e-4, passo = 4739}

Tabela 2 – Métricas dos melhores modelos no conjunto de Validação

Modelo	Média IoU/Classe	IoU	Passo
SegFormer-B0	0,3769	0,5967	2903
SegFormer-B1	0,364	0,6352	4800
DeepLabV3+	0,3771	0,5915	4799
SegFormer-B2	0,3975	0,6324	2279
SegFormer-B3	0,4602	0,6855	4739

A Figura 17 contém a segmentação semântica da melhor rede em uma imagem de teste fora do escopo usado para treinamento e validação, simulando um cenário real. A segmentação da Figura 17 representa a forma final de segmentação, contendo todas as classes por meio da interpolação do cubo de imagens para somente uma imagem. Contudo, como as leishmanias que queremos contar são sobrepostas aos macrófagos, a análise da contagem será feita classe a classe no tensor de saída.

Figura 17 - Resultado do segmentador semântico em dados externos



Fonte: Aatoria Própria (2022)

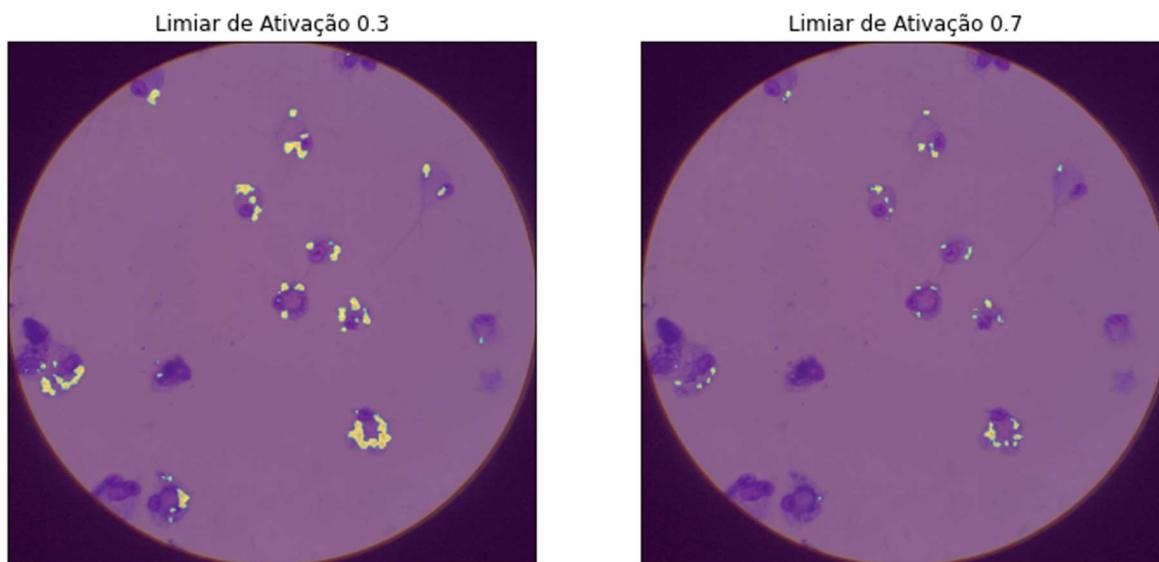
As classes de saída na Figura 17 são: Macrófago não Contável na cor amarela, Macrófago Contável em azul claro, e Leishmania em roxo escuro e fundo lilás.

Como verificação do impacto das transformações das imagens no processo de aumento de dados, foi realizado um experimento com a melhor configuração obtida sem qualquer transformações, com duas execuções, variando apenas a semente do algoritmo, o resultado médio obtido foi de 0,4168 para IoU/Classe.

4.2 Resultados do Pós-Processamento

O pós-processamento proposto requer a segmentação isolada de Macrófagos Contáveis e Leishmanias, contudo, é necessário um Limiar de Ativação para servir de filtro para a confiança do modelo. Além disso, o método *watershed*, também possui a parametrização da distância mínima. Ou seja, essa etapa depende da otimização desses parâmetros. A Figura 18, ilustra como o parâmetro do limiar de ativação impacta na predição das Leishmanias.

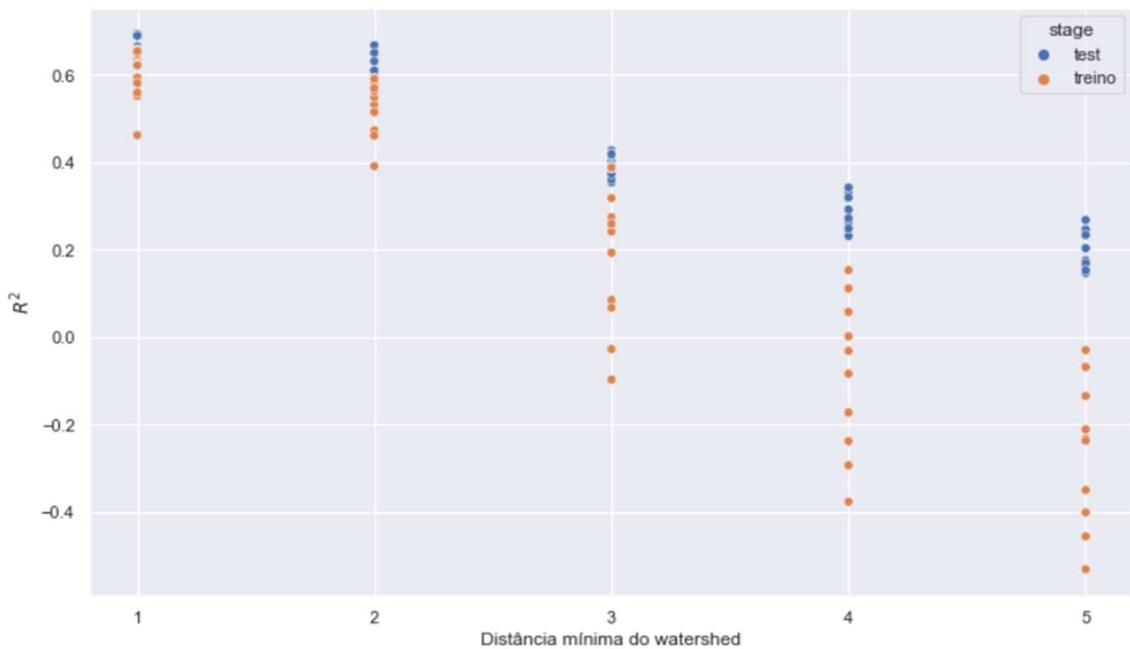
Figura 18- Segmentação de Leishmaniose com diferentes valores de limiar de ativação



Fonte: Autoria Própria (2022)

Não é desejável que algum humano faça essas otimizações manualmente, em decorrência de tornar-se um gargalo ao processo. Desse modo, como solução, foram realizados experimentos, com combinações entre o limiar de ativação da Leishmania e distância mínima do método *watershed* em comparação com o gabarito do Índice de Infecção das amostras cuja identificação é “013 16 1”. Dessa forma, torna-se notório o impacto de cada parametrização ao longo das combinações.

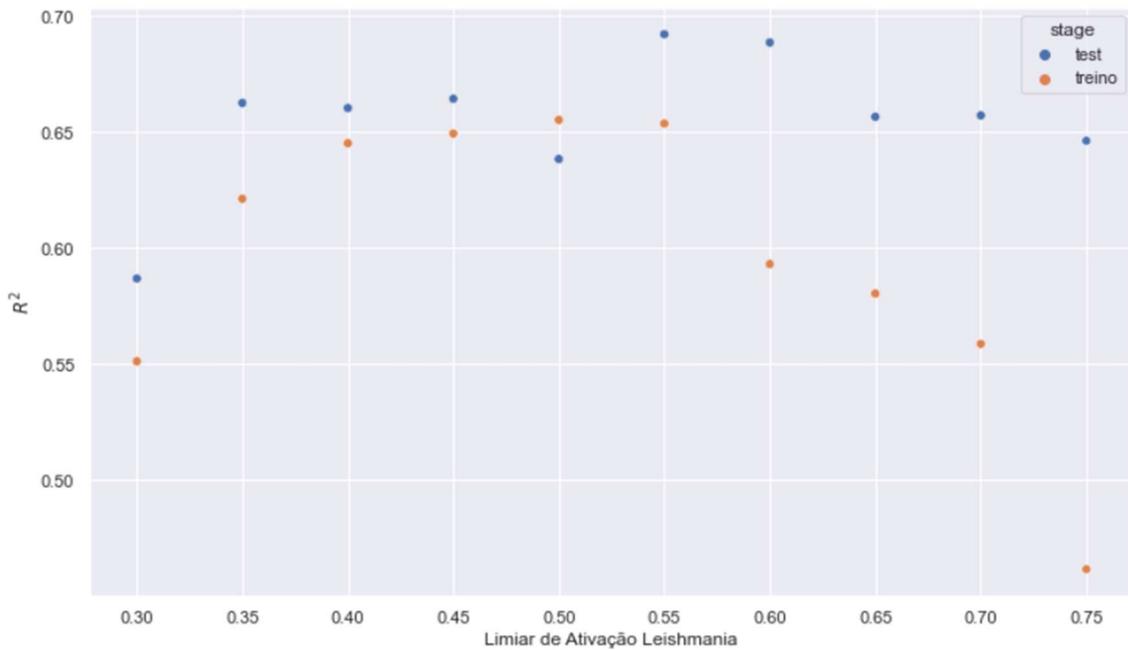
Figura 19 – Impacto da Distância mínima sobre o Coeficiente de Determinação em treino e teste



Fonte: Autoria Própria (2022)

De acordo com a Figura 19, onde se relaciona a variação da distância mínima com a métrica R^2 ou Coeficiente de Determinação, é notado que o melhor valor para a distância mínima do método *watershed* é 1, para o problema em questão. Dessa forma, a Figura 20, contém a variação do parâmetro Limiar de Ativação de Leishmania filtrado para apenas a Distância Mínima igual a 1.

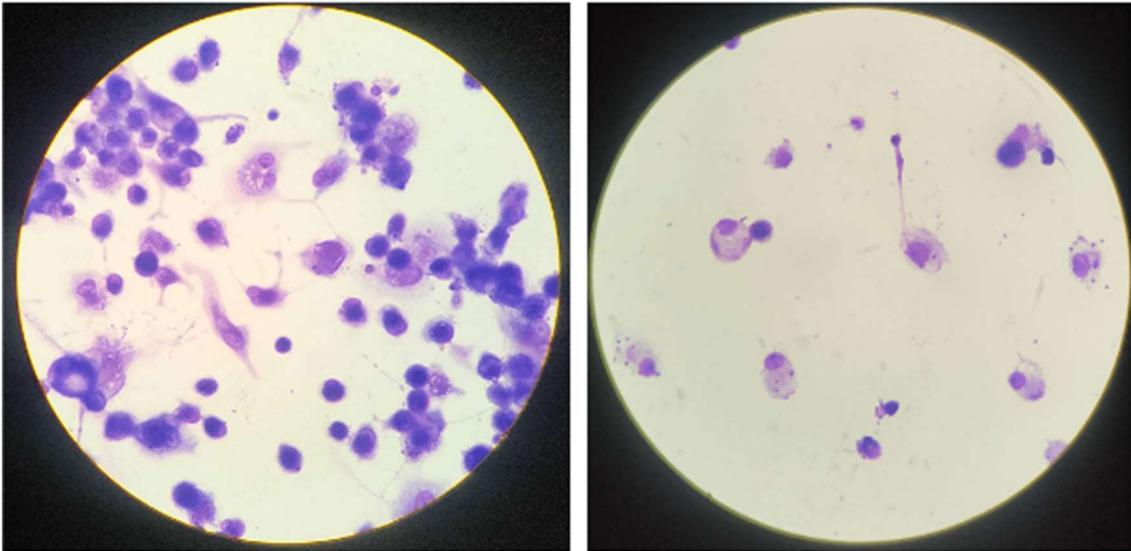
Figura 20 - Impacto do Limiar de Ativação sobre a Segmentação de Leishmania em treino e teste



Fonte: Autoria Própria (2022)

As amostras coletadas possuem níveis de complexidade distintos, onde uma imagem pode possuir um cenário simples e, em outra, um cenário caótico, representado na Figura 21. E como o processo de contagem é feito por inferência estatística, descrito na Seção 3.2, é necessário coletar e anotar uma grande variedade de cenários. Por meio da Figura 20 é perceptível que há diferença de cenário nos conjuntos de treino e teste, pois é contraintuitivo o resultado do teste sobrepor o de treino, além da queda abrupta da métrica com o aumento do valor no eixo X. Desse modo, com base nesse experimento o valor adotado como ótimo para essa etapa foi de 1 para Distância Mínima do *watershed*, e 0,55 para o Limiar de Ativação da Segmentação da Leishmania, por performar bem o conjunto de teste e satisfatório no de treino.

Figura 21 - Imagens com cenário caótico e simples, respectivamente



Fonte: Autoria Própria (2022)

Tabela 3 – Índice de Infecção predito pelo esperado das amostras no conjunto de treino/validação

Lamínulas do conjunto de treino/validação

Lamínula	Índice de Infecção Gabarito	Índice de Infecção Predito	Taxa de Infecção Gabarito	Taxa de Infecção Predita	Total Predito de Macrófagos Contados
<u>1A</u>	5,2105	5,3115	0,57	0,8243	74
<u>1C</u>	5,6461	5,3286	0,65	0,7692	91
<u>2A</u>	4,5555	3,1053	0,45	0,5621	169
<u>2C</u>	6,3137	6,892	0,51	0,8303	112
<u>3A</u>	0	2,1052	0	0,2620	145
<u>5A</u>	7,4761	5,3333	0,63	0,7068	191

Tabela 4 – Índice de Infecção predito pelo esperado das amostras no conjunto de teste

Lamínulas do conjunto de teste

Lamínula	Índice de Infecção Gabarito	Índice de Infecção Predito	Taxa de Infecção Gabarito	Taxa de Infecção Predita	Total Predito de Macrófagos Contados
<u>3C</u>	0	1,7826	0	0,1642	140
<u>4A</u>	5,1525	4,5606	0,59	0,6439	205
<u>4C</u>	5,34	3,6101	0,5	0,6781	174
<u>5C</u>	4,0392	3,9	0,51	0,6451	186
<u>6A</u>	0	1,625	0	0,1839	87
<u>6C</u>	5,2153	4,1376	0,65	0,6123	178

Os resultados obtidos sobre o Índice de infecção, descritos na Tabela 4 e 5, indicam que o método proposto neste trabalho consegue performar bem em alguns cenários, como na amostra 1A, 4A e 5C, onde o erro predito absoluto é menor do que 1. Contudo, nos cenários com pouca Leishmania ou nenhuma, como a amostra 3C, onde o gabarito indica 0, o método proposto consegue detectar poucas instâncias de Macrófagos Contáveis com Leishmanias, ocasionando em baixa Taxa de Infecção. Em decorrência desse cenário, a Taxa de Infecção Predita tornou-se filtro como valor de confiança para a o Índice de Infecção, com valor de 0,3. Ou seja, onde a Taxa de Infecção for menor do que 0,3, o Índice de Infecção será considerado 0, dessa forma estará mais de acordo com a forma que é feito no LIPMED.

$f(taxa, Leish) = \begin{cases} 0, & taxa < 0,3 \\ Leish/taxa, & x \geq 0,3 \end{cases}$	(5)
--	-----

Onde $f(taxa, Leish)$ é o Índice de Infecção predito com filtro, $taxa$ é a Taxa de Infecção obtida, e $Leish$ a quantidade total de Leishmanias encontradas em macrófagos contáveis.

Tabela 5 – Métricas das amostras de treino e teste

	Métricas		
	R^2	MAE	$RMSE$
Treino	0,6536	1,1159	1,3888
Teste	0,6921	1,1577	1,3128
Treino com filtro	0,7863	0,7651	1,0909
Teste com filtro	0,8653	0,5898	0,8682

As métricas alcançadas estão dispostas na Tabela 5. Ressalta-se que não houve qualquer normalização dos dados, na elaboração do cálculo das métricas, porém, de qualquer forma o Coeficiente de Determinação (R^2) não sofre alteração com a escala. A utilização do filtro para auxiliar em cenários com poucas ou nenhuma leishmania teve impacto positivo significativo nas métricas dispostas.

5 CONCLUSÃO

Esse trabalho apresenta um método para automatizar o processo de prognóstico do Índice de Infecção da doença Leishmaniose, através da quantificação de *Leishmania* em Macrófagos, com a utilização de visão computacional com Redes Neurais e Pós-Processamento. Apresenta-se como proposta a tarefa de Segmentação Semântica com Redes Neurais, aliado ao Processamento Digital de Imagens para realizar a contagem. O modelo de Inteligência Artificial é avaliado com a métrica IoU, separado em treino e validação. Em seguida, a avaliação do Índice Predito pelo Esperado, principalmente, pela métrica R^2 . Na etapa do pós-processamento, foram necessários filtros parametrizáveis na otimização do processo para a contagem, assim atingindo métricas satisfatórias nos cenários testados.

No método proposto, fez-se necessário a anotação de imagens para servir de exemplos para a Inteligência Artificial, o que demandou bastante tempo e recurso, sendo o maior gargalo do trabalho.

O presente trabalho teve como foco, a criação de uma metodologia para replicar o modo de execução no Laboratório Interdisciplinar de Pesquisas Médicas - Fiocruz, objetivando gerar uma solução de base para futuras abordagens com diferentes propostas. Os resultados obtidos atingiram 0,8653 de R^2 no conjunto final de teste, em comparação com a contagem dos especialistas. Como trabalho futuro, imperioso se faz a integração da metodologia a um aplicativo móvel para testagem em cenários reais. Além disso, é desejável uma otimização do segmentador semântico, de forma mais exaustiva, com mais recursos despendidos.

6 REFERÊNCIAS

AUDIGIER, Romaric Matthias Michel. Segmentação e visualização tridimensional interativa de imagens de ressonancia magnetica. 2004. 121p. Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia Eletrica e de Computação, Campinas, SP. Disponível em: <https://hdl.handle.net/20.500.12733/1597779>.

A NOGUEIRA, P. *et al.* Determining Leishmania Infection Levels by Automatic Analysis of Microscopy Images. *Arxiv*, [S.L.], p. 1-92, 2013. ArXiv. <http://dx.doi.org/10.48550/ARXIV.1311.2621>

BAHDANAU, Dzmitry; CHO, Kyunghyun; BENGIO, Yoshua. Neural Machine Translation by Jointly Learning to Align and Translate. *Arxiv*, [S.L.], p. 1-15, 2014. ArXiv. <http://dx.doi.org/10.48550/ARXIV.1409.0473>.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. . **MANUAL DE VIGILÂNCIA DA LEISHMANIOSE TEGUMENTAR**. Brasília: Ministério da Saúde, 2017. 191 p.

CHEN, Liang-Chieh *et al.* Encoder-Decoder with Atrous Separable Convolution for Semantic Image Segmentation. *Arxiv*, [S.L.], p. 1-18, 2018. ArXiv. <http://dx.doi.org/10.48550/ARXIV.1802.02611>.

COELHO, G.; GALVÃO FILHO, A. R.; VIANA-DE-CARVALHO, R.; TEODORO-LAUREANO, G.; ALMEIDA-DA-SILVEIRA, S.; ELEUTÉRIO-DA-SILVA, C.; PEREIRA, R. M. P.; SOARES, A. DA S.; SOARES, T. W. DE L.; GOMES-DA-SILVA, A.; NAPOLITANO, H. B.; COELHO, C. J. Microscopic Image Segmentation to Quantification of Leishmania Infection in Macrophages. **Fronteiras: Journal of Social, Technological and Environmental Science**, v. 9, n. 1, p. 488-498, 5 mar. 2020.

GONZALEZ, Rafael C.; WOODS, Richard E. PROCESSAMENTO DIGITAL DE IMAGENS. 3. ed. São Paulo: Pearson Universidades, 2009. (ISBN: 9788576054016). Disponível em: <https://www.travessa.com.br/processamento-digital-de-imagens-3-ed2009/artigo/26cce117-de8a-4eea-afc9-93c8da20e9d0>.

KRIZHEVSKY, Alex; SUTSKEVER, Ilya; HINTON, Geoffrey E.. ImageNet classification with deep convolutional neural networks. **Communications Of The Acm**, [S.L.], v. 60, n. 6, p. 84-90, 24 maio 2017. Association for Computing Machinery (ACM). <http://dx.doi.org/10.1145/3065386>.

LABORCLIN PRODUTOS PARA LABORATÓRIOS (Brasil). **MAY GRUNWALD - GIEMSA**. 2. ed. Curitiba: Ltda, 2018.

LATEEF, Fahad; RUCHEK, Yassine. Survey on semantic segmentation using deep learning techniques. **Neurocomputing**, [S.L.], v. 338, p. 321-348, abr. 2019. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.neucom.2019.02.003>.

Leishmaniasis, **WORLD HEALTH ORGANIZATION**, 2022. Disponível em: <https://www.who.int/health-topics/leishmaniasis>. Acesso em 20 de maio de 2022.

O'SHEA, Keiron; NASH, Ryan. An Introduction to Convolutional Neural Networks. ArXiv, [S. l.], p. 1-10, 26 nov. 2015.

PEDRINI, Hélio; SCHWARTZ, Willian Robson. *Análise De Imagens Digitais: Princípios, Algoritmos E Aplicações*. São Paulo: Cengage Learning, 2007. 528 p. (ISBN-10: 8522105952 - ISBN-13: 978-8522105953).

REITHINGER, Richard; DUJARDIN, Jean-Claude; LOUZIR, Hechmi; PIRMEZ, Claude; ALEXANDER, Bruce; BROOKER, Simon. Cutaneous leishmaniasis. **The Lancet Infectious Diseases**, [S.L.], v. 7, n. 9, p. 581-596, set. 2007. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s1473-3099\(07\)70209-8](http://dx.doi.org/10.1016/s1473-3099(07)70209-8).

ROERDINK, Jos B.T.M.; MEIJSTER, Arnold. The Watershed Transform: definitions, algorithms and parallelization strategies. **Fundamenta Informaticae**, [S.L.], v. 41, n. 12, p. 187-228, 2000. IOS Press. <http://dx.doi.org/10.3233/fi-2000-411207>

RONNEBERGER, Olaf; FISCHER, Philipp; BROX, Thomas. U-Net: convolutional networks for biomedical image segmentation. **Lecture Notes In Computer Science**, [S.L.], p. 234-241, 2015. Springer International Publishing. http://dx.doi.org/10.1007/978-3-319-24574-4_28.

SEVAK, Jay s *et al.* Survey on semantic image segmentation techniques. **2017 International Conference On Intelligent Sustainable Systems (Iciss)**, [S.L.], p. 1-32, dez. 2017. IEEE. <http://dx.doi.org/10.1109/iss1.2017.8389420>.

WANG, Panqu *et al.* Understanding Convolution for Semantic Segmentation. **Arxiv**, [S.L.], p. 1-10, 2017. ArXiv. <http://dx.doi.org/10.48550/ARXIV.1702.08502>.

WEISSTEIN, Eric W. CONVOLUTION. MathWorld--A Wolfram, [S. l.], [S.D.]. Disponível em: <https://mathworld.wolfram.com/Convolution.html>. Acesso em: 20 de out. de 2020.

XIE, Enze; WANG, Wenhai; YU, Zhiding; ANANDKUMAR, Anima; ALVAREZ, Jose M.; LUO, Ping. SegFormer: simple and efficient design for semantic segmentation with transformers. **Arxiv**, [S.L.], p. 1-14, 2021. ArXiv. <http://dx.doi.org/10.48550/ARXIV.2105.15203>.

YANG, Xiaodong; LI, Houqiang; ZHOU, Xiaobo. Nuclei Segmentation Using Marker-Controlled Watershed, Tracking Using Mean-Shift, and Kalman Filter in Time-Lapse Microscopy. **Ieee Transactions On Circuits And Systems I: Regular Papers**, [S.L.], v. 53, n. 11, p. 2405-2414, nov. 2006. Institute of Electrical and Electronics Engineers (IEEE). <http://dx.doi.org/10.1109/tcsi.2006.884469>.

ZHANG, Aston; LIPTON, Zachary C.; LI, Mu; SMOLA, Alexander J.. Dive into Deep Learning. **Arxiv**, [S.L.], p. 407-450, 2021. ArXiv. <http://dx.doi.org/10.48550/ARXIV.2106.11342>.



PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DE GOIÁS
GABINETE DO REITOR

Av. Universitária, 1069 • Setor Universitário
Caixa Postal 86 • CEP 74605-010
Goiânia • Goiás • Brasil
Fone: (62) 3946.1000
www.pucgoias.edu.br • reitoria@pucgoias.edu.br

RESOLUÇÃO nº 038/2020 – CEPE

ANEXO I

APÊNDICE ao TCC

Termo de autorização de publicação de produção acadêmica

O(A) estudante Walcy Santos Rezende Rios do Curso de engenharia de computação, matrícula 20171003303157, telefone: 62 98152-2352, e-mail wjuniorrios@gmail.com, na qualidade de titular dos direitos autorais, em consonância com a Lei nº 9.610/98 (Lei dos Direitos do Autor), autoriza a Pontifícia Universidade Católica de Goiás (PUC Goiás) a disponibilizar o Trabalho de Conclusão de Curso intitulado SEGMENTAÇÃO DE IMAGENS MICROSCÓPICAS PARA QUANTIFICAÇÃO DA INFECÇÃO DE LEISHMANIOSE EM MACRÓFAGOS COM VISÃO COMPUTACIONAL, gratuitamente, sem ressarcimento dos direitos autorais, por 5 (cinco) anos, conforme permissões do documento, em meio eletrônico, na rede mundial de computadores, no formato especificado (Texto(PDF); Imagem (GIF ou JPEG); Som (WAVE, MPEG, AIFF, SND); Vídeo (MPEG, MWV, AVI, QT); outros, específicos da área; para fins de leitura e/ou impressão pela internet, a título de divulgação da produção científica gerada nos cursos de graduação da PUC Goiás.

Goiânia, 25 de junho de 2022.

Assinatura do autor:

Nome completo do autor: Walcy Santos Rezende Rios

Assinatura do professor-orientador: _____

Nome completo do professor-orientador: Clarimar José Coelho