

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA

ANDRÉ CAETANO ALVES FIRMO

PICKCELLS – DESENVOLVIMENTO DE UMA SOLUÇÃO AUTOMATIZADA PARA A REALIZAÇÃO DE DIAGNÓSTICOS PARASITOLÓGICOS

ANDRÉ CAETANO ALVES FIRMO

PICKCELLS – DESENVOLVIMENTO DE UMA SOLUÇÃO AUTOMATIZADA PARA A REALIZAÇÃO DE DIAGNÓSTICOS PARASITOLÓGICOS

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para a obtenção do título de Doutor em Biotecnologia.

Área de concentração: Biotecnologia em saúde.

Orientador: Prof. Dr. Valdir de Queiroz Balbino. **Coorientador**: Prof. Dr. Ricardo Ataíde de Lima.

Catalogação na fonte Elaine C Barroso (CRB4/1728)

Firmo, André Caetano Alves

Pickcells-desenvolvimento de uma solução automatizada para a realização de diagnósticos parasitológicos / André Caetano Alves Firmo- 2019.

123 folhas: il., fig., tab.

Orientador: Valdir de Queiroz Balbino Coorientador: Ricardo Ataíde de Lima

Tese (doutorado) – Universidade Federal de Pernambuco. Centro de Biociências. Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia. Recife, 2019.

Inclui referências, apêndice e anexos

1. Parasitologia 2. Biotecnologia 3. Inovação I. Balbino, Valdir de Queiroz (orient.) II. Lima, Ricardo Ataíde de (coorient.) III. Título

616.96 CDD (22.ed.) UFPE/CB-2019-322

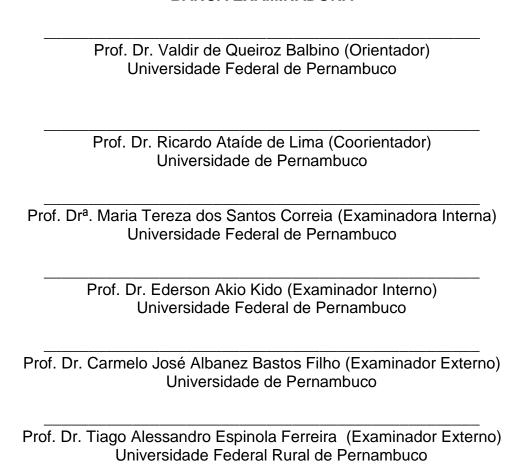
ANDRÉ CAETANO ALVES FIRMO

PICKCELLS – DESENVOLVIMENTO DE UMA SOLUÇÃO AUTOMATIZADA PARA A REALIZAÇÃO DE DIAGNÓSTICOS PARASITOLÓGICOS

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para a obtenção do título de Doutor em Biotecnologia.

Aprovada em: 31/05/2019.

BANCA EXAMINADORA





AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer à Deus por ter me dado forças para concluir mais esta etapa no meu desenvolvimento profissional e pessoal.

A minha família por estar sempre contribuindo para meu desenvolvimento pessoal. Aos meus filhos, Gabriel e Rafael, que me dão motivação e me inspiram a ser um exemplo como: pai, profissional e amigo. A minha amada esposa e amiga Bárbara Fernanda por ser o meu porto seguro me ensinando a cada dia como ser uma pessoa melhor. A minha querida avó, Enelídia, que partiu antes que eu pudesse concluir este trabalho, mas que me deixou grandes ensinamentos e muitas saudades. Aos meus pais Antônio Caetano e Deusa Maria que me proporcionaram poder chegar até aqui. A minha tia Neuza que sempre cuidou de mim como um verdadeiro filho e a todos que sempre torceram pelo meu sucesso.

Aos amigos, Rodrigo Prado, Paulo Melo, e Allyson Costa, que juntos pudemos transformar essa ideia em um produto e constituir a Empresa Pickcells.

Aos colaboradores, Angelo Brito, Ana Clara, Clodomir Santana, David Carvalho, Gabriel Alves, Izabela França, Kewin Lima, Pedro Buarque e Rafael Gama que juntos formam o melhor time de trabalho.

Aos Professores, Valdir Balbino e Ricardo Ataíde, que acreditaram no meu potencial e me proporcionaram a oportunidade de contribuir com este estudo para a melhoria dos serviços em saúde pública.

Aos amigos, Reginaldo, Benício e Lucilene, técnicos do Laboratório Central de Pernambuco que me auxiliaram na coleta das imagens e do material laboratorial. A Dr^a Geane que me disponibilizaram o acesso e a infraestrutura do laboratório.

E a todos que direta ou indiretamente me influenciaram de alguma maneira na conclusão deste trabalho.

RESUMO

O aumento da densidade populacional vem alterando a ocupação dos espaços em áreas urbanas e rurais. Essa ocupação sem planejamento acarreta problemas que vão desde a mobilidade urbana até a promoção de saúde pública. A principal causa de enfermidades nessas comunidades é a falta de saneamento básico, promovendo doenças como a Esquistossomose e geo-helmintíases. Nesta tese é apresentada uma solução automatizada para a identificação e contagem dos ovos de Schistosoma mansoni e os geo-helmintos: Ascaris lumbricoide, Trichuris trichiura e Enterobius vermicularis; a partir de um dispositivo de aquisição de imagens coletadas de lâminas de amostras de fezes. Este trabalho é fruto de uma parceria entre o Laboratório Central de Pernambuco - LACEN, o Laboratório de Bioinformática e Biologia Evolutiva da Universidade Federal de Pernambuco – LABBE e o Laboratório de Óptica Eletrônica do Instituto de Inovação Tecnológica – IIT - UPE. A solução é baseada em um equipamento que realiza a leitura automatizada das lâminas dos exames de fezes de indivíduos suspeitos de estarem infectados, adquirindo e armazenando fotos da lâmina. A partir do processamento digital dessas imagens, é utilizado um software de reconhecimento de padrões baseado em uma cascata de classificadores fracos. Esses classificadores fracos são formados por características de Haar compondo um único classificador forte capaz de reconhecer e contar os ovos de S. mansoni e principais geo-helmintos. O sistema obteve uma acurácia de 87% na detecção e contagem dos ovos dos parasitas.

Palavras-chave: Parasitologia. Biotecnologia. Inovação.

ABSTRACT

The increase in population density comes changing the occupation of spaces in urban and rural areas. This occupation without planning entails problems ranging from urban mobility until the promotion of public health. The main cause of diseases in these communities is the lack of basic sanitation, promoting diseases such as schistosomiasis and geo-helminthiasis. This thesis is presented an automated solution for identifying and counting the eggs of *Schistosoma mansoni* and main geo-helmintos: Ascaris lumbricoide, Trichuris trichiura e Enterobius vermicularis; from an image acquisition device collected stool samples blades. This work is the result of a partnership between the Laboratório Central de Pernambuco - LACEN, o Laboratório de Bioinformática e Biologia Evolutiva da Universidade Federal de Pernambuco -LABBE e o Departamento de Óptica Eletrônica da Universidade de Pernambuco. The solution is based on a equipment that performs automated reading of the sheets of the stool examinations of individuals suspected of being infected, taking pictures of the each position in asheets. From the digital processing of these images, using a pattern recognition software based on a cascade of weak classifiers. These weak classifiers are formed by Haar features composing a single strong classifier can recognize and count the eggs of S. mansoni and major geo-helmintos. The system obtained an accuracy of 87% in the detection and counting of the eggs of the parasites.

Keywords: Parasitology. Biotechnology. Inovation.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Schistossoma mansoni: parasita na forma adulta	17
Figura 2 - Positividade (%) 2010 – 2015	18
Figura 3 - Ovo de Schistossoma mansoni	19
Figura 4 - Miracídio	19
Figura 5 - (A) Caramujo do gênero Biomphalaria glabrata e (B) cercária	20
Figura 6 - Ciclo da Esquistossomose	21
Figura 7 - Ascaris lumbricoide adulto	24
Figura 8 - Ovo de <i>Ascaris lumbricoide</i>	26
Figura 9 - Ciclo da Ascaridíase.	26
Figura 10 - <i>Trichuris trichiura</i> adulto	28
Figura 11 - Ovo de <i>Trichuris trichiura</i>	29
Figura 12 - Ciclo da Tricuríase	30
Figura 13 - <i>Enterobius vermicularis</i> adulto	31
Figura 14 - Ovo de <i>Enterobius vermicularis</i>	32
Figura 15 - Ciclo da Enterobíase	33
Figura 16 - Disciplinas usadas na criação da solução proposta	34
Figura 17 - Visão computacional, relação com outras disciplinas	35
Figura 18 - Modelo de um sistema de visão computacional	36
Figura 19 - Exemplo de amostragem de um sinal contínuo. (A) sinal contínuo, (B)	
mapeamento de alguns pontos do sinal contínuo e (C) discretização o	ok
sinal contínuo.	37
Figura 20 - (A) Imagem representada como superfície, (B) Imagem representada	
como matriz de intensidade visual e (C) Imagem representada como	
uma matriz 2D.	38
Figura 21 - Exemplo de imagem em várias resoluções	38
Figura 22 - Diagrama esquemático de um sensor CMOS	39
Figura 23 - Exemplo da aplicação de um filtro de distorção onde, (A) é a imagem	
original e (B) é a imagem com aplicação do filtro	40
Figura 24 - Exemplo da aplicação de grayscale onde, (A) é a imagem original e (E	3) é
a imagem convertida em grayscale	40

Figura 25 -	Exemplo da aplicação de equalização de histograma onde, (A) é a
	imagem original e (B) é a imagem com a aplicação de equalização de
	histograma41
Figura 26 -	· Histograma da imagem, (A) antes da correção e (B) após a aplicação da
	correção41
Figura 27 -	Exemplo da aplicação da segmentação por detecção de borda onde, (A)
	é a imagem original e (B) o resultado da segmentação42
Figura 28 -	Exemplo da aplicação de segmentação por corte onde, (A) é a imagem
	original e (B) o resultado da segmentação43
Figura 29 -	Exemplo de aplicação de segmentação por região de crescimento onde,
	(A) é a imagem original e (B) o resultado da segmentação43
Figura 30 -	Exemplo de detecção de animais46
Figura 31 -	Exemplo de subjanela para cálculo da imagem integral47
Figura 32 -	Características básicas de Haar47
Figura 33 -	Exemplo de uma cascata de classificadores fracos C1, C2,, Cn
	formando um classificador forte47
Figura 34 -	Exemplo de um layout de utilização dos serviços da AWS para
	provimento da distribuição de imagens52
Figura 35 -	- Equipamento DAPI da BioBrasil53
Figura 36 -	· Conjunto TF-TEST da BioBrasil53
Figura 37 -	· Fluxograma por fase da solução55
Figura 38 -	· Modelagem em 3D da peça "L"56
Figura 39 -	Modelo 3D da base de acondicionamento dos componentes eletrônicos.
	57
Figura 40 -	Modelo 3D do suporte do microscópio USB58
Figura 41 -	· Mesa para acomodação da lâmina58
Figura 42 -	Diagrama em blocos do software de comando59
Figura 43 -	Classes do software de comando59
Figura 44 -	Placa de controle dos motores61
Figura 45 -	Eixos x e y montados com os motores61
Figura 46 -	· (A) Base acomodando todas as partes eletrônicas, (B) base fechada e
	com furação para o sistema mecânico62
Figura 47 -	Equipamento montado (A) vista frontal, (B) vista lateral62
Figura 48 -	(A) Tela inicial do software de controle e (B) tela de ajuste do foco63

Figura 49 - Fluxo de utilização do equipamento	64
Figura 50 - Arquitetura do sistema nas nuvens	64
Figura 51 - (A) aplicação do filtro de grayscale, (B) aplicação do filtro de histogra	ama,
(C) aplicação do filtro de suavização gaussiano.	68
Figura 52 - Foto com a marcação de um ovo de <i>S. mansoni.</i>	69
Figura 53 - Fluxograma do uso da solução de ponta a ponta	70
Figura 54 - (A) Tela inicial do portal web, (B) tela com os exames realizados	71
Figura 55 - (A) Tela com o resultado de uma lâmina, (B) tela com o exemplo das	3
imagens	71
Figura 56 - Raspberry Pi Camera Board V2	72
Figura 57 - Câmera acoplada ao microscópio	73
Figura 58 - Foto do ovo de <i>S. mansoni</i> adquirida com a câmera acoplada no	
microscópio	73
Figura 59 - Lentes e prismas extraídos do tubo óptico de um microscópio	74
Figura 60 - Novo conjunto óptico	74
Figura 61 - Novo sistema mecânico montado com os eixos X, Y e Z	75
Figura 62 - Layout da placa de controle dos motores.	76
Figura 63 - Sensor TSL235 montado na placa LORA WIFI 32	77
Figura 64 - Equipamento montado e em testes no LABEND	77
Figura 65 - Imagem do ovo de S. mansoni. (A) Com o primeiro equipamento e (В)
com o novo equipamento	78
Figura 66 - Designe do novo equipamento	82

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANVISA Agência Nacional de Vigilância Sanitária

AWS Amazon Web Services

B. glabrata Biomphalaria glabrata

CAD Computer Aided Design

CCD Charged-Coupled Device

CMOS Complementary Metal Oxide Semiconductor

CNC Computer Numeric Control

DATASUS Departamento de Informática do Sistema Único de Saúde

DVD Digital vídeo disc

E. vermicularis Enterobius vermicularis

et al. e outro

GPIO General Purpose Input/Output

Grayscale Escala de tons de cinza

HTTP Hypertext Transfer Protocol

INPI Instituto Nacional da Propriedade Industrial

LABBE Laboratório de Bioinformática e Biologia Evolutiva

LABEND Laboratório de Endemias

LACEN Laboratório Central de Pernambuco

OEM Original Equipment Manufacture

OMS Organização Mundial de Saúde

PC Personal Computer

PSO Particle Swarm Optimization

S. mansoni Schistosoma mansoni

SSH Secure Shell

T. trichiura Trichuris trichiura

UFPE Universidade Federal de Pernambuco

UPE Universidade de Pernambuco

USB Universal Serial Bus

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	15
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	17
2.1	VISÃO GERAL DA ESQUISTOSSOMOSE	17
2.2	VISÃO GERAL DAS PRINCIPAIS GEO-HELMINTÍASES	23
2.2.1	Ascaridíase	24
2.2.2	Tricuríase	28
2.2.3	Enterobíase	31
2.3	ANALISE DIGITAL DE IMAGENS	34
2.3.1	Visão Computacional	34
2.3.2	Pré-processamento de Imagem	39
2.3.3	Inteligência Artificial E Detecção	44
2.3.4	Proposta de Detecção de (FIRMO, 2017)	46
2.3.5	Computação nas Nuvens	49
2.4	SOLUÇÕES DE ANÁLISE DE LÂMINAS DE PARASITOLOGIA	52
3	JUSTIFICATIVA E OBJETIVOS	54
3.1	JUSTIFICATIVA	54
3.2	OBJETIVOS	54
3.3	OBJETIVO GERAL	54
3.4	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	54
4	MATERIAIS E MÉTODOS	55
4.1	ARRANJO EXPERIMENTAL 1ª FASE – DISPOSITIVO DE AQUISIÇÂ	ÁΟΕ
	ARMAZENAMENTO DAS IMAGENS DAS LÂMINAS	55
4.2	ARRANJO EXPERIMENTAL 2ª FASE – SISTEMA DE DETECÇÃO	
	INTEGRADO	64
4.3	ARRANJO EXPERIMENTAL 3ª FASE – TREINAMENTO DA SOLUÇA	ÃO .68
5	RESULTADOS	70
5.1	ATUALIZAÇÃO DO DISPOSITIVO DE AQUISIÇÃO E ARMAZENAME	ENTO
	DAS LÂMINAS	73
5.2	TESTE NO LABORATÓRIO DE ENDEMIAS DO LACEN	77

6	CONCLUSÃO8
	REFERÊNCIAS84
	APÊNDICE A – CRIAÇÃO DA STARTUP89
	ANEXO A - DEPOSITO DA PRIMEIRA PATENTE NO INPI9
	ANEXO B - DEPOSITO DA SEGUNDA PATENTE NO INPI109
	ANEXO C - TRABALHO APRESENTADO NO 53º MEDTROP 2017 122

1 INTRODUÇÃO

globalização, aumento populacional diferenças Fatores como socioeconômicas viabilizam a disseminação das doenças tropicais negligenciadas. Nesse sentido, o diagnóstico rápido, preciso e automatizado é considerado uma ferramenta essencial para a implementação de estratégias de controle dessas endemias. Inicialmente, os parasitos que serão avaliados são o Schistosoma mansoni, Ascaris lumbricoides. Trichuris trichiura e o Enterobius vermicularis. Esquistossomose mansônica afeta cerca de 200 milhões de pessoas em várias regiões do mundo (WHO, 2012). No Brasil, a doença é considerada uma endemia e apresenta de 2,5 a 6 milhões de indivíduos parasitados (NASCIMENTO & OLIVEIRA, 2013). Sua distribuição é observada na faixa litorânea que compreende desde a região Norte até a região Sul, apresentando-se como endêmica em vários estados do Nordeste (KATZ & PEIXOTO, 2000). Pernambuco tem a segunda maior prevalência entre os estados nordestinos, representando 15,2% da região (KANO, 1992). Nesse estado, a esquistossomose é historicamente endêmica na região rural, em localidades onde as taxas de infecção humana variam de 12% a 82%.

Casos humanos de infecção aguda têm sido detectados em regiões praieiras (BARBOSA, et al., 2014), onde a doença está sendo introduzida devido à ausência de planejamento socioeconômico na ocupação desses espaços (BARBOSA, et al., 2013). Associadas as mesmas condições fitossanitárias da esquistossomose, encontram-se as geo-helmintíases. Segundo a Organização Mundial de Saúde (Organization, 2019), 1,5 bilhões de pessoas no mundo são afetadas por geohelmintos. Estima-se que 800 milhões de infectados sejam crianças em fase escolar. Em Pernambuco, a prevalência de infectados para as áreas endêmicas foi de 33,2% em 2010, segundo dados da Secretaria Estadual de Saúde de Pernambuco (PERNAMBUCO, 2019). As infecções provocadas pelo T. trichiura afetam quase 800 milhões de pessoas no mundo, sendo as crianças em idade escolar a maioria dos indivíduos infectados (WHO, 2006), que, como consequências da infecção, podem apresentar sinais de desnutrição, atraso no crescimento, retardo mental e déficits educacionais (BETHONY, BROOKER, & ALBONICO, 2006). O E. vermicularis é uma das parasitoses que acomete principalmente crianças em idade pré-escolar. Na cidade de Gaozhou na China, a prevalência da Enterobíase atingiu 54.86% das 802 crianças avaliadas (LI, et al., 2015). No Brasil, estudos apontam o E. vermicularis como um dos helmintos mais frequentemente encontrados nos exames coproparasitológicos (SILVA & GONÇALVES DA SILVA, 2010).

O A. lumbricoides, por sua vez, infecta aproximadamente 819 milhões de pessoas no mundo (PULLAN, 2014) cujas regiões que apresentam as mais altas prevalências estão nos países em desenvolvimento localizados na Ásia, África e América Latina (HOTEZ, 2008). A prevalência elevada de ascaridíase pode ser atribuída à capacidade de apenas uma fêmea liberar cerca de 27 milhões de ovos durante o curso de uma infecção. Além disso, os ovos são altamente resistentes a condições ambientais extremas (HOTEZ, 2010). O Brasil apresenta uma escassez de estudos de âmbito nacional, relacionados à prevalência e incidência desses parasitos. Contudo, Pernambuco tem a segunda maior prevalência entre os estados nordestinos, representando 15,2% da região (NETO, et al., 2012). Estudos pontuais, realizados em alguns estados do país como Piauí (ALVES, MACEDO, & RAMOS, 2003)], Rio Grande do Sul (ANTUNES & LIBARDONI, 2017), Espírito Santo (DAMÁZIO, SOARES, & SOUZA, 2016) e Rio de Janeiro (FARIA, ZANINI, & DIAS, 2017), avaliaram a prevalência de parasitoses intestinais, em específicos relacionados com A. lumbricoides e T. trichiura. (SILVA, FONTES, & SANTOS, 2016) avaliaram amostras de fezes de crianças na faixa etária entre zero e quinze anos. Os resultados mostraram que entre os parasitos intestinais encontrados, os mais frequentes foram T. trichiura (51,5%) e A. lumbricoides (46,6%), corroborando estudos anteriores que citam estas parasitoses como algumas das mais frequentes entre as populações menos favorecidas economicamente.

O diagnóstico através do exame parasitológico de fezes ainda é a melhor alternativa por ter uma boa sensibilidade e um menor custo de operação. Nesse método, algumas iniciativas estão sendo desenvolvidas na automatização do processo de leitura da lâmina até a identificação dos parasitas. Essas iniciativas ainda possuem um custo elevado e propõem modificar a fase pré-analítica da amostra.

A proposta desta tese é desenvolver uma solução automatizada, capaz de adquirir e armazenar imagens das lâminas, independentemente do método de preparo pré-analítico da amostra; disponibilizar as imagens através de uma ferramenta remota; reconhecer os padrões dos ovos de *S. mansoni* e principais geo-helmintos trazendo à rotina laboratorial as bases fundamentais para: a identificação, tratamento, controle e erradicação dessas endemias.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 VISÃO GERAL DA ESQUISTOSSOMOSE

As esquistossomíases, denominadas também esquistossomose ou bilharzioses, são doenças produzidas por helmintos trematódeos do gênero Schistosoma que tem como principais agentes etiológicos, para o homem, as espécies: *Schistosoma mansoni*, *Schistosoma haematobium* e *Schistosoma japonicum*. É também conhecida, popularmente, como "barriga d'água" (REY, 2010).

S. mansoni determina uma infecção denominada esquistossomíases mansônica ou intestinal, devido à localização dos parasitos nas vênulas do intestino grosso e sobretudo do reto, com sintomas predominantemente intestinais. Nas formas mais graves, há envolvimento hepatoesplênico e hipertensão no sistema porta. Sua distribuição geográfica, na África, na América do Sul e nas Antilhas, está condicionada pela de algumas espécies de moluscos de água doce, do gênero Biomphalaria, que são os hospedeiros intermediários do parasito. No Brasil, a doença é conhecida popularmente como xistossomose, xistossomose, xistosa ou doença dos caramujos. Na Figura 1 é mostrado o parasita S. mansoni na sua forma adulta (REY, 2010)



Figura 1 - *Schistossoma mansoni*: parasita na forma adulta. Fonte: http://demedgid.com.ua

Segundo estimativa da Organização Mundial da Saúde (OMS), 200 milhões de pessoas em 76 países sofrem de esquistossomose. No Brasil, o leste da Região Nordeste e o nordeste e leste do Estado de Minas Gerais convivem com a esquistossomose em situação endêmica. A região nordeste apresentou cerca de 76 % de casos positivos em todo o Brasil no período de janeiro de 2010 a janeiro de 2017. Segundo estimativas do Ministério da Saúde, em 2016 foram detectados 12.009 casos. Em 2016, 3,3% do total de 353.540 pessoas examinadas no Brasil registraram

a doença. Cerca de 92,4% dos casos positivos em 2016 foram concentrados na região nordeste, 7,4% na região sudeste e 0,2% na região norte. Os dados foram extraídos do portal DATASUS do ministério da saúde (DATASUS, 2019). Na Figura 2 é mostrada a distribuição da doença no território nacional.

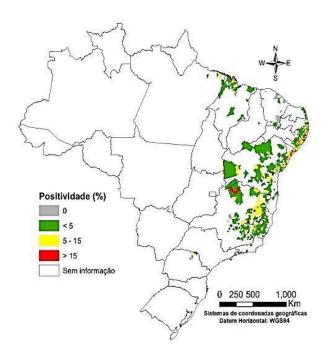


Figura 2 - Positividade (%) 2010 – 2015. Fonte: http://portalsaude.gov.br

No ciclo da doença, o hospedeiro elimina nas fezes o ovo, que mede cerca de 114-175 por 45-68 μm, sem opérculo, com um formato oval e na parte mais larga apresenta um espículo voltado para trás. O que caracteriza o ovo maduro é a presença de um miracídio, visível pela transparência da casca. O ovo maduro é a forma usualmente encontrada as fezes. Na Figura 3 é mostrado o ovo de *S. mansoni*. Quando os ovos maduros atingem a água doce em condições adequadas, principalmente de temperatura e luz, ocorre a eclosão e sendo liberada uma forma larvária ciliada denominada de miracídio que possui em média 180 x 62 μm. Os miracídios nadam a procura do hospedeiro intermediário. Fora do hospedeiro, normalmente, o miracídio não sobrevive além de um dia (seis horas em média). A Figura 4 apresenta o miracídio.



Figura 3 - Ovo de *Schistossoma mansoni*. Fonte: Autor.

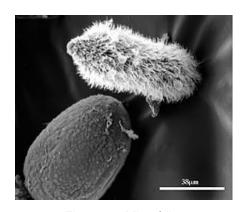


Figura 4 - Miracídio. Fonte: http://www.path.cam.ac.uk

No seu ciclo evolutivo, os miracídios mansônicos hospedam-se nos caramujos do gênero Biomphalaria, espécies de água doce (no Brasil, *B. glabrata*, *B. straminea* e *B. tenagophila*), penetrando em qualquer parte descoberta destes moluscos, tendo preferência pela base das antenas ou pelo pé. Estes moluscos vivem principalmente em pequenas porções de águas paradas ou de fraca correnteza, onde haja luz solar e pouca poluição (riachos de pequena declividade e fundo arenoso, valas de irrigação, alagadiços, etc.).

Após a penetração no caramujo, os miracídios transformam-se em esporocistos primários em 48 horas, possuindo em seu interior as células germinativas. O período de vida dos esporocistos é de 18 a 21 dias. A partir do 14º dia de penetração do miracídio, no interior do esporocisto primário, inicia-se a formação dos esporocistos secundários ou rédeas, que também possuem um aglomerado de células germinativas. As rédeas passam a sofrer uma série de modificações, especialmente em seu crescimento e em seu interior, onde se dá o complexo processo de formação de uma grande quantidade de cercárias, pois cada miracídio que infesta o caramujo poderá resultar no final da transformação em mais de 10 mil cercárias. Depois de 25 a 30 dias ou até um pouco mais, dependendo da temperatura da água em que vive o caramujo e da própria espécie deste, as cercárias começam a sair das rédeas, à taxa aproximada de 1000 por dia, durante cerca de duas semanas no caso da mansônica, e nadam à procura dos hospedeiros vertebrados. Na Figura 5 é mostrado um caramujo do gênero glabrata e uma cercaria.



Figura 5 - (A) Caramujo do gênero Biomphalaria glabrata e (B) cercária. Fonte: http://www.xenophora.org e http://www.path.cam.ac.uk

Cada cercária é formada por um corpo e uma cauda que se bifurca na parte terminal. Mede cerca de 140 por 4µm, podendo viver até 3 dias, na água. Penetrando pela pele do hospedeiro vertebrado, alcança a corrente sanguínea entre 2 e 15 minutos, podendo também penetrar pela mucosa, quando água infectada é ingerida, embora esta forma de contágio seja muito menos significativa.

Em seguida, migram para o intestino, no sentido inverso à corrente sanguínea, e instalam-se nas vênulas da parede intestinal, onde permanecem constantemente acasalados, vivendo em média dois anos, mas em determinadas situações até 30 anos. Com um dia de infecção, é possível encontrar larvas nos pulmões e nove dias depois as mesmas rumam para o fígado, onde alimentam-se de sangue e iniciam sua maturação. No vigésimo dia, os vermes, já adultos, começam a se acasalar e sete dias depois a fêmea já libera os primeiros ovos.

Cada fêmea pode produzir em média 300 ovos por dia. Destes ovos provenientes das fêmeas, cerca de 20% caem no tubo intestinal e são eliminados com as fezes. Porém, a maioria, são retidos pelos tecidos, após serem carregados pelos vasos sanguíneos, dando origem aos granulomas. Do momento da penetração da cercária até o início da produção de novos ovos, completa-se um intervalo em torno de 1 a 2 meses, denominado de período de incubação. Em média, apenas após o quadragésimo dia de infecção será possível encontrar ovos de *S. mansoni* nas fezes do enfermo. Na Figura 6 é apresentado o ciclo da doença em cinco fases distintas.

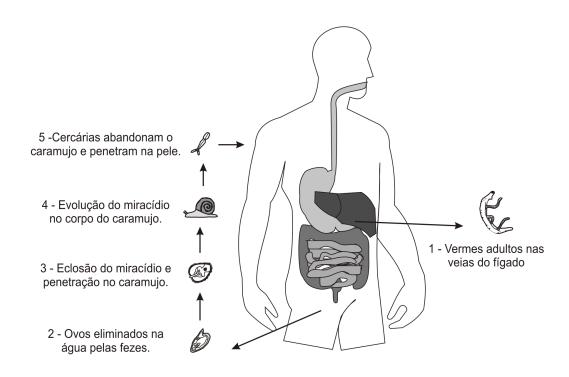


Figura 6 - Ciclo da Esquistossomose. Fonte: Autor.

Os sintomas mais comuns são mal-estar, febre, dor de cabeça, perda do apetite, suor intenso, tosse, diarreia com ou sem dor abdominal. Nos casos crônicos pode ocorrer dor abdominal, dificuldade de digestão e náuseas. Os sintomas mais agudos surgem quando os vermes amadurecem no organismo humano, após quatro a seis semanas da infecção, mas não é raro, na sua passagem pelos pulmões, provocarem febres e problemas respiratórios. Dependendo do grau de infestação, o fígado pode aumentar de tamanho e o doente ficar com a barriga inchada, daí a denominação de barriga d'água.

A duração desta fase estende-se até 40 a 60 dias, quando começam a aparecer os primeiros ovos nas fezes, evidenciando a maturação dos parasitas e o quadro febril declina lentamente. O paciente passa, então, para a fase crônica com diarreias, evacuações muco sanguinolentas e cólicas abdominais. Em casos mais graves, devido a fibrose extensa do fígado, ocorre hipertensão da circulação portal -acumula-se sangue no baço e aparecem varizes no esôfago, órgãos cujas veias desembocam no sistema porta. A ruptura das varizes esofágicas provoca hemorragias extensas (hematêmese) e muito graves. A desnutrição dos pacientes é devida não só a anemia decorrente das hemorragias, mas também ao funcionamento insuficiente do fígado. A cura exige medicamentos específicos.

O diagnóstico é uma das maiores barreiras para o tratamento e controle da doença. Atualmente os métodos para o diagnóstico da esquistossomose são:

- Exame parasitológico de fezes ovos de S. mansoni podem ser encontrados nas fezes, a partir do 40º dia após o contágio, sendo a técnica de sedimentação espontânea utilizada para identificação dos mesmos em ovos viáveis ou não, para pacientes atendidos nos serviços de saúde. Os ovos são de 114 a 175 mm de comprimento e de 45 a 68 mm de espessura, tendo uma espinha lateral proeminente. O método de Kato-Katz (KATZ & CHAIA, Coprological diagnosis of Schistosomiasis I. Evaluation of Quantitative Technique., 1968) é utilizado em inquéritos coproscópicos e investigações epidemiológicas, devido à sua facilidade operacional em campo e por permitir a quantificação de ovos por grama de fezes.
- Biópsia retal a biópsia é um método de fácil execução e indolor, porém, por ser uma técnica invasiva, é pouco utilizada. Na esquistossomose crônica, sem hipertensão portal, uma biópsia retal apresenta cerca de 80% de positividade enquanto que no exame de fezes, 50%.
- Outros biópsia de órgãos comprometidos, e.g. biópsia hepática é destinada a casos especiais, quando se necessita conhecer o quadro histológico do fígado, em formas agudas ou hepatoesplênicas, ou para diagnóstico diferencial.
- Reações sorológicas o diagnóstico utilizando soro do paciente para detecção de IgG3 e IgM contra *S. mansoni* pode indicar infestação atual ou passada. Existem vários tipos de reações sorológicas para a esquistossomose, mas não têm ampla aplicação na prática. Elisa e imunofluorescência são utilizados em estudos clínicos experimentais, como proposto por Matas (RABELLO, 2008).
- Intradermorreação consiste na inoculação de antígeno geralmente preparado com vermes adultos ou cercárias, na face anterior do antebraço, na quantidade de 0,01 a 0,05 ml. Sua interpretação é feita 15 minutos após a inoculação. Este método não tem sido utilizado na prática.

Outros exames por imagens como ultrassonografia hepática e ressonância magnética da medula espinhal estão sendo utilizados no diagnóstico da doença. Estas e outras propostas são descritas por (CARVALHO, COELHO, & LENZI, 2008).

O tratamento é feito, sobretudo, por meio da administração de medicamentos como o Oxamniquina ou o Praziquantel. Porém, a melhor maneira de enfrentar a

esquistossomíase (forma adotada pela Nomenclatura Internacional de doenças) é evitar que ela aconteça. Para tanto, faz-se necessária uma extensa política de saúde pública e sanitária, já que a esquistossomíase está diretamente ligada a problemas socioeconômicos. Controlar a existência da Biomphalaria não é suficiente, é preciso melhorar a qualidade de vida das populações e tomar medidas sanitaristas, como, por exemplo, a construção de sistemas adequados de esgoto.

2.2 VISÃO GERAL DAS PRINCIPAIS GEO-HELMINTÍASES

Os helmintos são parasitos distribuídos nos filos Platyhelminthes, Nematoda e Acanthocephala. Parasitas essencialmente invertebrados, podendo ocasionalmente causar parasitismo passageiro no ser humano sem graves consequências. São parasitoses intestinais que representam as doenças mais comuns do globo terrestre. Na maioria das infecções causadas por esses vermes os principais sintomas são cólicas abdominais, vômitos, anemia, perda de peso, apendicite aguda, fraqueza e cansaço. O quadro clínico está diretamente relacionado com a carga parasitária e com o estado nutricional do hospedeiro.

Segundo o Ministério da Saúde do Brasil (BRASIL, 2019), As helmintíases intestinais são doenças parasitárias de distribuição mundial, porém, as maiores incidências ocorrem nos países subdesenvolvidos, onde se configuram como problema de saúde pública. Uma considerável gama de helmintos está envolvida na etiologia de diversas enfermidades e neste cenário destacam-se as geo-helmintíases, doenças causadas por nematódeos que necessitam passar, pelo menos uma fase de seu ciclo no solo e cuja transmissão depende da poluição fecal deste ambiente. Os geo-helmintos que comumente atacam a saúde da população são: o *Ascaris lumbricoides*, responsável pela ascaridíase, o *Trichuris trichiura*, agente etiológico da tricuríase e o *Enterobius vermicularis* que causa a enterobíase.

As Doenças Tropicais Negligenciadas (DTNs), nome dado pela Organização Mundial de Saúde as patologias associadas à pobreza e que se disseminam com mais facilidade nas partes mais quentes do planeta. As DTNs incluem infecções diversas – dengue, raiva, hanseníase, elefantíase, leishmaniose, doença de Chagas, esquistossomose, entre outras. São patologias que podem debilitar, cegar, mutilar ou desfigurar os afetados. Apesar dos avanços, o organismo internacional alerta que as DTNs ainda causam 534 mil mortes por ano. A OMS estima que 2,4 bilhões de pessoas ainda não têm instalações sanitárias básicas, como banheiros e latrinas,

enquanto mais de 660 milhões continuam a beber água de fontes impróprias, dados da Organização das Nações Unidas no Brasil (BRASIL O. D., 2019).

2.2.1 Ascaridíase

Ascaridíase é o parasitismo desenvolvido pelo homem causado pelo nematoide *Ascaris lumbricoide*. É a mais frequente das helmintíases humanas. O *A. lumbricoide* é encontrado em quase todos os países do mundo e ocorre com frequência variada em virtude das condições climáticas, ambientais e, principalmente, do grau de desenvolvimento socioeconômico da população. As crianças menores de 12 anos são as mais pesadamente atingidas, razão pela qual a ascaridíase é um assunto de alto interesse pediátrico e social (REY, 2010).

Os áscaris são vermes longos cilíndricos e com extremidades afiladas, sobretudo na região anterior, como visto na Figura 7. Quando o número de parasitos por hospedeiro é pequeno, o desenvolvimento torna-se maior, chegando os machos adultos, cerca de 20 a 30 cm de comprimento e apresentam a cor leitosa. As fêmeas adultas medem cerca de 30 a 40 cm de comprimento, sendo mais robustas que os machos (NEVES, MELO, LINARDI, & VITOR, 2005).



Figura 7 - Ascaris lumbricoide adulto. Fonte: http://ascarislumbricoides.org

No ciclo da doença, cada fêmea fecundada é capaz de colocar, por dia, de 200.000 ovos não embrionados, que chegam ao ambiente juntamente com as fezes. A forma dos ovos férteis é oval ou quase esférica. Eles medem, em média 60 µm de comprimento. Os ovos inférteis são mais alongados e têm a casca mais delgada, com a camada albuminosa muito reduzida, irregular ou ausente. Eles medem, em média 80 a 90 µm de comprimento (REY, 2010). Os ovos férteis em presença de temperatura

entre 25° C e 30°C, umidade mínima de 70% e oxigênio em abundancia torna-se embrionados após 15 dias.

A primeira larva L1 forma dentro do ovo e é do tipo rabditoide, isto é, possui o esôfago com duas dilatações, uma em cada extremidade e uma constrição no meio. Após uma semana, ainda dentro do ovo, essa larva sofre muda transformando-se em L2 e, em seguida, nova muda transformando-se em L3 infectante com esôfago tipicamente filarióide (esôfago retilíneo) (NEVES, MELO, LINARDI, & VITOR, 2005). Daí por diante, mantém o seu poder infectante por longo tempo, reduzindo seu metabolismo ao mínimo. Experimentalmente, comprovou-se a infectividade após 7 anos de permanência no solo, mas em condições naturais a viabilidade dos ovos de ser menor (REY, 2010). Após a ingestão, os ovos contendo a L3 atravessam todo o trato digestivo e as larvas eclodem no intestino delgado. A eclosão ocorre graças a fatores ou estímulos fornecidos pelo próprio hospedeiro, como a presença de agentes redutores, o pH, a temperatura, os sais e, o mais importante, a concentração de CO2 cuja ausência inviabiliza a eclosão. As larvas, uma vez liberadas, atravessam a parede intestinal na altura do ceco, caem nos vasos linfáticos e nas veias e invadem o fígado entre 18 e 24 horas após a infecção. Em dois a três dias chegam ao coração direito, através da veia cava inferior ou superior e quatro a cinco dias após são encontradas nos pulmões (ciclo de LOSS). Cerca de oito dias da infecção, as larvas sofrem muda para L4, rompem os capilares e caem nos alvéolos, onde mudam para L5. Sobem pela árvore brônquica e traqueia, chegando até a faringe. Podem então ser expelidas com a expectoração ou serem deglutidas, atravessando incólumes o estômago e fixando-se no intestino delgado. Transformam-se em adultos jovens 20 a 30 dias após a infecção. Em 60 dias alcançam a maturidade sexual, fazem a cópula, ovipostura e já são encontrados ovos nas fezes do hospedeiro. Os vermes adultos têm uma longevidade de um a dois anos (NEVES, MELO, LINARDI, & VITOR, 2005). A Figura 8 mostra um ovo de A. lumbricoide.

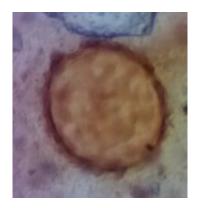


Figura 8 - Ovo de *Ascaris lumbricoide*. Fonte: Autor.

A transmissão ocorre através da ingestão de água ou alimento contaminado com ovos contendo L3. A literatura registra grande número de artigos que avaliam a contaminação das águas de córregos que são utilizadas para irrigação de hortas levando a contaminação de verduras com ovos viáveis. Poeira, aves e insetos (moscas e baratas) são capazes de veicular mecanicamente ovos de *A. lumbricoides*. Além destes mecanismos, a transmissão pode ocorrer pela contaminação do depósito subungueal com ovos viáveis, principalmente em crianças, verificando-se níveis de contaminação que variam de 20 a 52%. A Figura 9 apresenta o ciclo da ascaridíase.

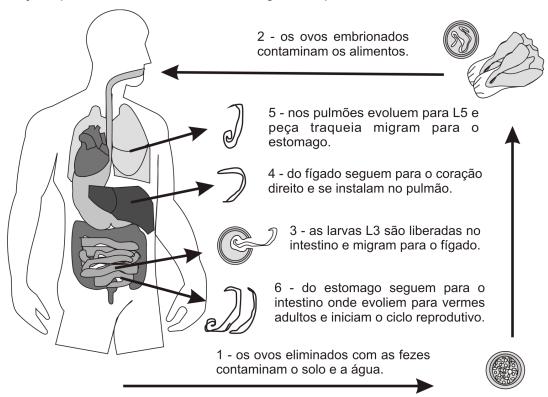


Figura 9 - Ciclo da Ascaridíase. Fonte: Autor.

Calcula-se que apenas um de cada seis indivíduos infectados apresenta manifestações clínicas, devido a que na grande maioria dos casos, o número de vermes albergados é pequeno.

Em casos onde a infecção for maciça podem ocorrer: A migração larvária, pode provocar pequenos focos hemorrágicos e de necrose, bem como reação inflamatória; em alguns casos pode haver aumento de volume do fígado; nos pulmões, principalmente em crianças, pode ocorrer sinais discretos de bronquite com estertores disseminados, a escuta de campos pulmonares. Em alguns casos, as lesões pulmonares chegam a ser graves, com quadro de broncopneumonia ou de pneumonia difusa bilateral, chegando a ser fatal em crianças com pouca idade; No intestino, podem se manifestar com: cólicas intermitentes, dor epigástrica e má digestão, náuseas, perda de apetite e emagrecimento, sensação de coceira no nariz, irritabilidade, sono intranquilo e ranger dos dentes a noite; Há registros de apendicite aguda, invasão da vias biliares, pancreatite aguda, otites, obstrução do canal lacrimal e asfixia por obstrução traqueal (REY, 2010).

Os quadros clínicos não permitem distinguir a ascaridíase de outras verminoses intestinais. Em geral, o diagnóstico é feito pela pesquisa dos ovos nas evacuações do paciente. Um exame direto da matéria fecal, diluída e colocada entre lâmina e lamínula é possível encontrar os ovos em 90% dos casos. Usando a sedimentação espontânea na água, em cálice cônico, os resultados aproximam-se de 100%. O uso de um método de contagem como o Kato-Katz, pode estimar a carga parasitária como: leve, com menos de cinco vermes (ou menos de 5.000 ovos por grama de fezes); regular, entre cinco e dez vermes (5.000 a 10.000 ovos por grama); e pesada, acima de dez (REY, 2010).

O potencial do tratamento das helmintíases intestinais aumentou em muito com a descoberta dos benzimidazóis. Estas drogas são altamente efetivas contra o *A. lumbricoide* e outras helmintíases intestinais. A Organização Mundial de Saúde recomenda quatro drogas — Albendazol, Mebendazol, Levamisol e Pamoato de Pirantel — para o tratamento e controle de helmintos transmitidos pelo solo (NEVES, MELO, LINARDI, & VITOR, 2005).

2.2.2 Tricuríase

Entre os nematódeos pertencentes à ordem Trichurida, três gêneros apresentam grande importância médica: Trichuris, Trichinella e Capillaria. O homem é habitualmente parasitado por *Trichuris trichiura*, cuja distribuição geográfica é mundial. A doença é dita tricuríase, tricurose ou tricocefalose. A Figura 10 apresenta um verme adulto que possui uma forma típica semelhante a um chicote. *T. trichiura* medem de 3 a 5 cm de comprimento, sendo os machos menores que as fêmeas (NEVES, MELO, LINARDI, & VITOR, 2005).

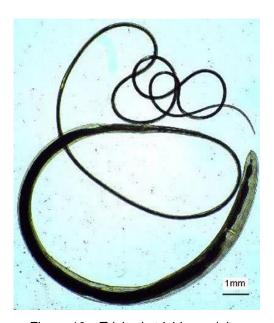


Figura 10 - *Trichuris trichiura* adulto. Fonte: http://www.tabletsmanual.com

No ciclo da doença, os vermes habitam o intestino grosso se reproduzem sexuadamente e os ovos eliminados para o meio externo com as fezes. A sobrevivência dos vermes adultos no homem é estimada em cerca de três a quatro anos. A fêmea fecundada elimina de 3.000 a 20.000 ovos por dia, sugerindo uma reposição diária de 5% a 30% (NEVES, MELO, LINARDI, & VITOR, 2005). O tamanho dos ovos varia entre 50 e 55 µm de comprimento por 22 ou 23 µm de largura. O aspecto é muito característico, pois tem a forma de um barril alongado, com os polos salientes. Na casca são visíveis, a microscopia óptica, três camadas: a externa, mais espessa e de cor castanha, é interrompida nos dois polos, onde um material hialino e refringente fecha as aberturas e faz saliência para o exterior, lembrando por seu aspecto duas rolhas de cristal. As duas camadas internas são mais claras, e de aspecto hialino. Dentro esta célula-ovo, com sua membrana vitelina e o núcleo ainda

não dividido. Enquanto estão no intestino do hospedeiro, os ovos permanecem sem embrionar. Mas, no meio externo, começa a segmentação da célula-ovo que leva a formação de uma larva ao fim de duas a três semanas ou de meses, em função da temperatura e de outros fatores ambientais. A larva não abandona a casca, nem sofre ecdises aí, porém o ovo embrionado passa a ser infectante para o homem.

No laboratório, esses ovos embrionados podem conservar seu poder infectante durante 5 anos. Em condições naturais devem sobreviver no meio durante vários meses. Quando ingeridos pelas crianças ou pelos adultos, eclodem na luz do intestino e as larvas, depois de saírem por um dos polos do ovo, penetram nas criptas glandulares do cécum, onde permanecem dois dias, completando seu desenvolvimento. Os vermes adultos fixam-se a mucosa, onde mantêm mergulhada a extremidade cefálica, e decorridos 70 a 90 dias, depois da ingestão do material infectante, completa-se o ciclo biológico com o aparecimento de ovos nas fezes do novo hospedeiro (REY, 2010).



Figura 11 - Ovo de *Trichuris trichiura*. Fonte: Autor.

Os ovos de *T. trichiura*, apresentado na Figura 11, eliminados com as fezes do hospedeiro infectado contaminam o ambiente, em locais sem saneamento básico. Como os ovos são extremamente resistentes às condições ambientais, podem ser disseminados pelo vento ou pela água e contaminar os alimentos sólidos ou líquidos, sendo, então ingeridos pelo hospedeiro. Ovos de *T. trichiura* também podem ser disseminados por mosca doméstica, que transportam os ovos na superfície externa do corpo, do local onde as fezes foram depositadas até o alimento. Em áreas endêmicas, a prática de geofagias, comer substâncias terrestres como argila, é outra forma de contágio por crianças e mulheres grávidas (NEVES, MELO, LINARDI, & VITOR, 2005). A Figura 12 apresenta o ciclo da tricuríase.

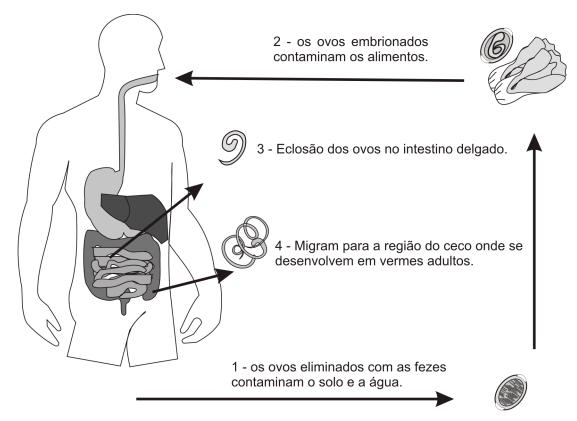


Figura 12 - Ciclo da Tricuríase. Fonte: Autor.

A grande maioria dos indivíduos parasitados é de portadores assintomáticos, não se tendo informações sobre o número de vermes necessários para que surjam efeitos patológicos. Em geral, observa-se uma correlação positiva entre intensidade de infecção e gravidade da sintomatologia, portanto, a maioria dos pacientes com infecção leves é assintomática ou apresenta sintomatologia intestinal discreta, enquanto os pacientes com infecção moderada apresentam graus variados de sintomas, como dores de cabeça, dor epigástrica e no baixo abdômen, diarreia, náusea e vômitos (NEVES, MELO, LINARDI, & VITOR, 2005).

Dada a fecundidade dos tricocéfalos, a pesquisa de seus ovos nas fezes não oferece dificuldade, sendo adequado para isso qualquer método de rotina. A morfologia dos ovos é também inconfundível. Quando se quer calcular o número de helmintos adultos existentes em um paciente, emprega-se a técnica de contagem de Stoll ou a de Kato-Katz.

Considera-se leve um parasitismo por *T. trichiura* que corresponda a eliminação de menos de 5.000 ovos por grama de fezes; entre 5.000 e 10.000 ovos/grama, trata-se de infecção de intensidade média; e acima de 10.000 ovos/grama, de infecção pesada (REY, 2010).

O tratamento é a base de Benzimidazóis, como Albendazol e Mebendazol, são as drogas mais eficientes no tratamento da tricuríase humana. Dados epidemiológicos indicam que estes medicamentos são igualmente eficientes na expulsão do parasito (NEVES, MELO, LINARDI, & VITOR, 2005).

2.2.3 Enterobíase

A enterobíase, enterobiose ou oxiurose, é a verminose intestinal devida ao *Enterobius vermicularis*, pequeno nematoide da ordem Oxyuroidea, mais conhecido popularmente como oxiúro. A infecção costuma ser benigna, mas incômoda, pelo intenso prurido anal que produz e por suas complicações, sobretudo em crianças (REY, 2010). O *E. vermicularis*, mostrado na Figura 13, apresenta nítido dimorfismo sexual, entretanto, alguns caracteres são comuns aos dois sexos: cor branca, filiformes. Na extremidade anterior, lateralmente à boca, notam-se expansões vesiculosas muito típicas, chamadas "asas cefálicas". A boca é pequena, seguida de um esôfago também típico: é claviforme, terminando em um bulbo cardíaco. As fêmeas medem cerda de 1 cm de comprimento, 0,4 mm de diâmetro cauda pontiaguda e longa. Os machos medem cerca de 5mm de comprimento, por 0,2mm de diâmetro. Cauda fortemente recurvada em sentido ventral, com um espículo presente; apresenta um único testículo (NEVES, MELO, LINARDI, & VITOR, 2005).

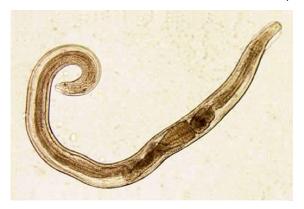


Figura 13 - *Enterobius vermicularis* adulto. Fonte: http://pibid-bio-uepg.blogspot.com.br

No ciclo da doença, após a cópula, os machos são eliminados com as fezes e morrem. As fêmeas, repletas de ovos, se desprendem do ceco e dirigem-se para o ânus (principalmente à noite). Com a oviposição, que se dá na região perianal, completa-se a vida do helminto adulto, que não tardará a morrer. Outras vezes, ao chegarem ao períneo, as fêmeas morrem, ficam ressecadas e se rompem, liberando então vários milhares de ovos cada uma. A duração de sua existência é estimada em

35 a 50 dias. Na ausência de reinfecções, o parasitismo cessa, espontaneamente, em poucas semanas. Os ovos medem 50 a 60 µm de comprimento por 20 a 30 µm de largura e se apresentam ligeiramente achatados de um lado, apresentado na Figura 14. Tem superfície pegajosa, que adere facilmente a qualquer suporte (REY, 2010).



Figura 14 - Ovo de *Enterobius vermicularis*. Fonte: Autor.

Os mecanismos de transmissão que podem ocorrer são:

Heteroinfecção: quando ovos presentes na poeira ou alimentos atingem novo hospedeiro (também conhecida como primo-infecção);

Indireta: quando ovos presentes na poeira ou alimentos atingem o mesmo hospedeiro que os eliminou;

Autoinfecção externa ou direta: a criança (principalmente) ou adulto levam os ovos da região perianal à boca. É o principal mecanismo responsável pela cronicidade dessa verminose;

Autoinfecção interna: parece ser um processo raro no qual as larvas eclodiriam ainda dentro do reto e depois migrariam até o ceco, transformando-se em vermes adultos:

Retroinfecção: as larvas eclodem na região perianal, penetram pelo ânus e migram pelo intestino grosso chegando até o ceco, onde se transformam em vermes adultos (NEVES, MELO, LINARDI, & VITOR, 2005). Na Figura 15 é apresentado o ciclo da enterobíase.

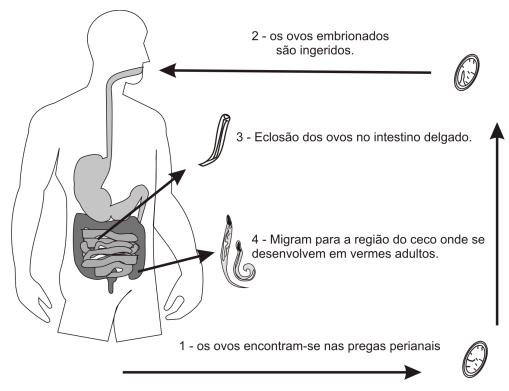


Figura 15 - Ciclo da Enterobíase. Fonte: Autor.

Na maioria dos casos, o parasitismo passa despercebido pelo paciente. Este só nota que alberga o verme quando sente ligeiro prurido anal ou quando vê o verme nas fezes. Em infecções maiores pode provocar enterite catarral por ação mecânica e irritativa. O ceco apresenta-se inflamado e, às vezes, o apêndice também é atingido. As alterações mais intensa e mais frequente é o prurido anal. A mucosa local mostra-se congesta, recoberta de muco contendo ovo e, às vezes, fêmeas inteiras. O ato de coçar a região anal pode lesar ainda mais o local, possibilitando infecção bacteriana secundária. O prurido ainda provoca perda de sono, nervosismo e, devido à proximidade dos órgãos genitais, pode levar à masturbação e erotismo, principalmente em meninas. A presença de vermes nos órgãos genitais femininos pode levar à vaginite, metrite, salpingite e ovarite (NEVES, MELO, LINARDI, & VITOR, 2005).

O diagnóstico através da identificação dos vermes nas roupas íntimas, de cama ou no períneo de crianças. Os exames de fezes, mesmo com técnicas de enriquecimento, só revelam 5 a 10% dos casos de parasitismo. O melhor método é o da fita adesiva ou método de Graham, que consiste em coletar com uma fita adesiva o material da região perianal e analisa-o no microscópio (NEVES, MELO, LINARDI, & VITOR, 2005) (REY, 2010).

O tratamento da enterobíase baseia-se no emprego de um dos antihelmínticos descritos para o tratamento da ascaríase. A Organização Mundial de Saúde recomenda quatro drogas – Albendazol, Mebendazol, Levamisol e Pamoato de Pirantel – para o tratamento e controle de helmintos transmitidos pelo solo (NEVES, MELO, LINARDI, & VITOR, 2005).

2.3 ANALISE DIGITAL DE IMAGENS

Nas análises microscópicas a avaliação visual dos artefatos é o principal fator na definição de um resultado. A digitalização da informação em forma de imagens, impulsionou a necessidade de mecanismos para auxiliar na tomada de decisões. Um sistema de visão computacional, aliado ao processamento digital de imagem e técnicas de inteligência artificial, proporcionam uma solução promissora na tratativa da extração de informação das imagens digitais. Com o aumento da demanda desse tipo de solução, a computação nas nuvens trouxe subsídios para a expansão e distribuição da tecnologia. A Figura 16 apresenta um diagrama da utilização das disciplinas na construção da solução proposta.

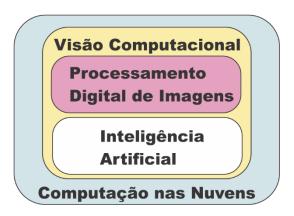


Figura 16 - Disciplinas usadas na criação da solução proposta. Fonte: Autor.

2.3.1 Visão Computacional

Visão computacional é a área de estudo interdisciplinar que simula e tenta reproduzir a incrível capacidade da visão humana nas máquinas, consistindo em captar as imagens, melhorá-las, segmentar, detectar pontos de interesse, extrair informações e finalmente realizar relações entre imagens (BACKES & JUNIOR, 2016).

Segundo (FORSYTH & PONCE, 2011), O surgimento do termo visão computacional em 1970, foi tratado como um mecanismo visual e tentado reproduzir o comportamento inteligente nos robôs. Estudiosos da época perceberam que

reproduzir o comportamento da visão humana onde, a entrada é uma imagem e a saída é uma interpretação, era uma tarefa mais árdua do que aparentava ser.

A partir da proposta inicial de dotar robôs com um comportamento inteligente, evoluiu e ganhou notoriedade juntamente com estudos baseados em análises matemáticas e de dados quantitativos. O difícil desafio de programar estratégias para distinguir diferenças que possam ser realizadas de maneira não supervisionada, tiveram suporte com os estudos de inteligência artificial. Novas técnicas de aprendizado da área de reconhecimento de padrões possibilitaram o planejamento de sistemas autônomos. A visão computacional está diretamente ligada a outras disciplinas, reforçando o aspecto multidisciplinar como mostra a Figura 17.

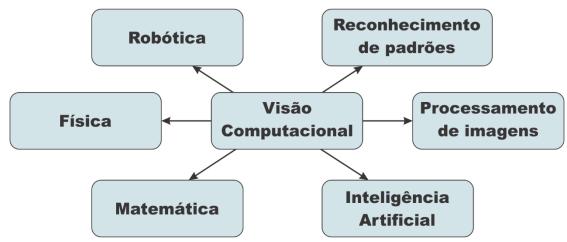


Figura 17 - Visão computacional, relação com outras disciplinas. Fonte: Autor.

A interpretação de imagens deve explorar paradigmas onde as descrições das características são definidas pelo conjunto de procedimentos que constituem os métodos de interseções. A segmentação da imagem e uma das áreas com maior relevância na visão computacional, sendo alvo de inúmeras pesquisas de algoritmos inteligentes norteados por métodos de limites e regiões.

Um sistema de visão computacional pode ser dividido em módulos independentes. Cada módulo possui uma função específica e funcionamento encadeado, onde a saída do módulo anterior é a entrada do próximo módulo. O sistema é representado na Figura 18.

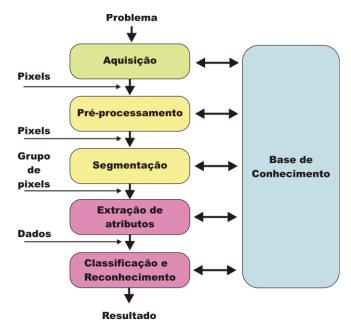


Figura 18 - Modelo de um sistema de visão computacional. Fonte: Autor.

Os módulos podem ser descritos como:

Aquisição – é o módulo responsável pela digitalização da informação. Utiliza um *hardware* para capturar a informação e convertê-la de sinal analógico para digital. São exemplos de *hardware*: câmeras fotográficas digitais, scanners e filmadoras. A saída desta etapa são os *pixels*, comentados na próxima seção.

Pré-processamento – é o módulo responsável por realizar ajustes na imagem capturada, afim de eliminar ruídos e prepará-la para o módulo de segmentação. A saída deste módulo são os *pixels* tratados.

Segmentação – é o módulo responsável por delimitar a área da imagem a ser analisada através de características do objeto de interesse. A saída deste módulo é um grupo de *pixels* a ser analisado.

Extração de atributos – é o módulo responsável por determinar quais os atributos que podem ser utilizados na caracterização do objeto de interesse. A saída deste módulo são os dados a serem processados para a classificação e reconhecimento.

Classificação e reconhecimento – É o módulo responsável por classificar e reconhecer o objeto de interesse a partir dos atributos extraídos no módulo anterior.

Base de Conhecimento – Reúne as informações sobre a resolução do problema e guia o funcionamento de cada etapa, permitindo a realimentação entre elas.

As imagens digitais são formadas por elementos chamados de *pixels*. Um *pixel* ("Picture Element" ou "pel") representa a intensidade luminosa em um ponto. A imagem digital pode ser representada por uma matriz retangular de *pixels* estabelecida pela função f(x,y), sendo f uma representação da intensidade luminosa do *pixel* e x,y as posições nas colunas e linhas denominadas coordenadas espaciais. Os valores dos pixels são finitos e determinados por uma faixa de valores (GONZALEZ & WOODS, 2009).

Para a conversão de uma imagem analógica em digital, são realizadas duas operações a amostragem e a quantização. A Figura 19 mostra o processo de amostragem e quantização de uma imagem.

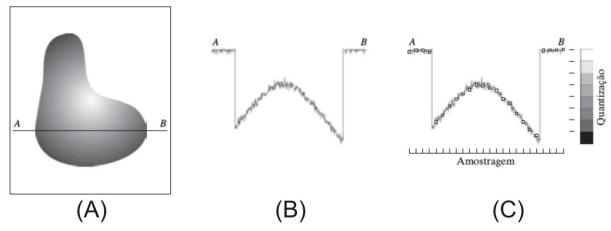


Figura 19 - Exemplo de amostragem de um sinal contínuo. (A) sinal contínuo, (B) mapeamento de alguns pontos do sinal contínuo e (C) discretização do sinal contínuo.

Fonte: (GONZALEZ & WOODS, 2009)

Na Figura 19(A) mostra a imagem f que queremos converter. A função unidimensional da Figura 19(B) é um gráfico que representa os valores da amplitude (nível de intensidade dos pixels) da imagem contínua ao longo do segmento de reta AB na Figura19(A) para realizar a amostragem, colhemos amostras igualmente espaçadas ao longo da reta AB. O conjunto das localizações discretas é a função de amostragem. Para formar uma função digital, os valores de intensidade também são convertidos (quantizados) em quantidades discretas. Figura 19(C) mostra a escala de intensidade dividida em oito intervalos discretos, variando do preto ao branco (GONZALEZ & WOODS, 2009).

Há três formas básicas de representar f(x,y). Essas formas são apresentadas na Figura 20. A representação gráfica com dois eixos representando a localização espacial e o terceiro eixo o valor de f é mostrado na Figura 20(A). A representação de f(x,y) como visualizada em um monitor ou uma fotografia é a

presentada na Figura 20(B) e a representação como uma matriz de valores numéricos é apresentada na Figura 20(C) (GONZALEZ & WOODS, 2009).

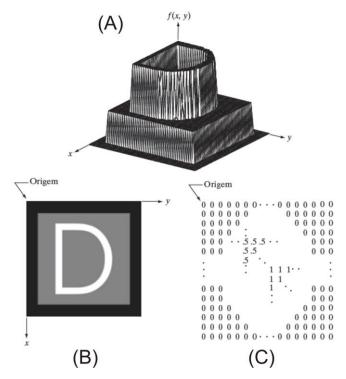


Figura 20 - (A) Imagem representada como superfície, (B) Imagem representada como matriz de intensidade visual e (C) Imagem representada como uma matriz 2D.

Fonte: (GONZALEZ & WOODS, 2009).

O nível de detalhamento que uma imagem pode apresentar é definido como resolução da imagem. A resolução em pixels é definida como o conjunto de dois números positivos inteiros, em que o primeiro número é a quantidade de colunas (largura) de pixels e o segundo é número de linhas (altura) de pixels. (E.g. 640 x 480). A Figura 21 exibe uma imagem N x M em várias resoluções.



Figura 21 - Exemplo de imagem em várias resoluções. Fonte: Autor.

O primeiro estágio em um sistema de processamento de imagens é a aquisição ou captura da imagem real. Neste estágio existem basicamente 2 componentes: Um sensor responsável por produzir um sinal elétrico (analógico)

proporcional a intensidade de luz captada e um digitalizador responsável por converter a saída elétrica em informação digital. O equipamento mais utilizado para aquisição de imagens é a câmera de vídeo.

Os sensores com tecnologia CMOS são constituídos por vários transistores que amplificam o sinal luminoso e permitem a leitura de cada pixel individualmente. O processo de fabricação dos chips CMOS é idêntico ao da maioria dos microprocessadores, onde a miniaturização permitiu que além do sensor, outros circuitos como o digitalizador pudessem ser incluídos no mesmo invólucro. Os chips CMOS são menos sensíveis a luz, apresentam pior qualidade e são mais susceptíveis a ruídos. O consumo de energia dos chips CMOS é menor do que os chips CCD. A Figura 22 exemplifica um invólucro de um sensor CMOS.

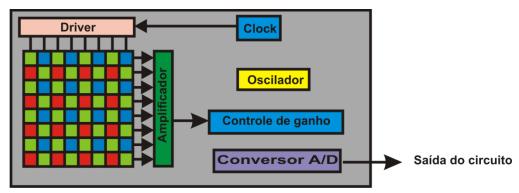


Figura 22 - Diagrama esquemático de um sensor CMOS. Fonte: (FIRMO, 2017)

2.3.2 Pré-processamento de Imagem

A extração de informação da imagem adquirida na etapa anterior pode não ser uma tarefa simples. Vários motivos podem dificultar a interpretação da informação contida na imagem pelas etapas de reconhecimento. Destacam-se como principais causadores de ruídos: o tipo do sensor utilizado na aquisição, a iluminação do ambiente e a posição relativa entre o objeto de interesse e a câmera. Na etapa de préprocessamento são usadas algumas ferramentas a fim de minimizar o ruído e preparar a imagem para as etapas de reconhecimento, como descrito por (GONZALEZ & WOODS, 2009) e (RAY & ACHARYA, 2005).

Há várias ferramentas para o pré-processamento de imagens, pode-se destacar as seguintes:

Filtros – são técnicas que realçam ou atenuam características na imagem. Esses filtros podem ser utilizados no domínio de espaço (ondem alteram diretamente os pixels da imagem) ou no domínio da frequência (onde é utilizada a transformada

de Fourier, aplicado os filtros e depois transformada a imagem novamente para o domínio do espaço). A Figura 23 mostra a aplicação de um filtro de distorção utilizado no domínio de espaço.

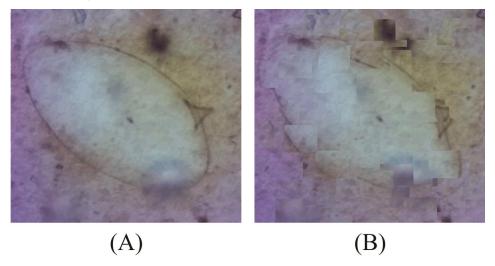


Figura 23 - Exemplo da aplicação de um filtro de distorção onde, (A) é a imagem original e (B) é a imagem com aplicação do filtro.

Fonte: Autor.

Grayscale – Uma outra ferramenta bastante utilizada é a transformação de imagens coloridas para o domínio de tons de cinza. Uma imagem em tons de cinza possui para cada pixel apenas a informação de intensidade, onde podem ter mais intensidade (mais próxima da cor branca) ou menos intensidade (mais próxima da cor preta). Este tipo de representação das cores minimiza a quantidade de cálculos por pixel e elimina alguns tipos de ruídos. A Figura 24 mostra a aplicação de Grayscale em uma imagem.

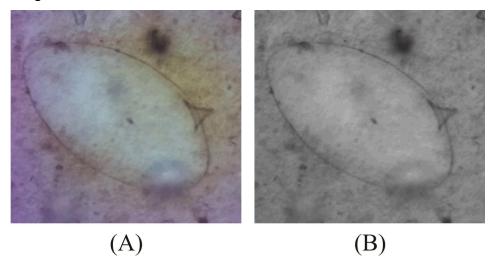


Figura 24 - Exemplo da aplicação de grayscale onde, (A) é a imagem original e (B) é a imagem convertida em grayscale.

Fonte: Autor.

Equalização de Histograma – Um histograma é a representação gráfica da distribuição de cada intensidade por pixel. A equalização do histograma consiste em mapear os valores das intensidades dos pixels entre uma região com pouco contraste e uma com muito contraste e distribuir de maneira uniforme os pixels ao longo da imagem obtendo uma imagem equalizada. A Figura 25 mostra a aplicação de uma equalização de histograma em uma imagem e na Erro! Fonte de referência não encontrada. são exibidos os histogramas das imagens (A) original e (B) resultante.

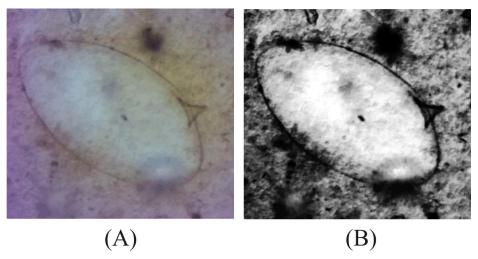


Figura 25 - Exemplo da aplicação de equalização de histograma onde, (A) é a imagem original e (B) é a imagem com a aplicação de equalização de histograma.

Fonte: Autor.

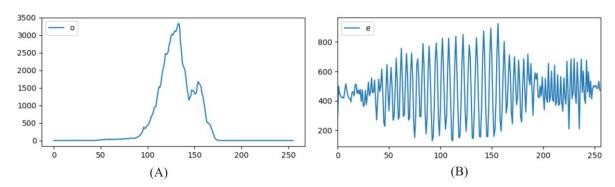


Figura 26 - Histograma da imagem, (A) antes da correção e (B) após a aplicação da correção. Fonte: Autor.

A segmentação da imagem é realizada após a imagem estar devidamente tratada e pronta para ser utilizada pela etapa de reconhecimento, se faz necessário uma etapa intermediária para restringir a região da imagem a ser analisada. Na etapa de segmentação é realizado um particionamento da imagem guiado por características do objeto ou região de interesse. Existem diversas técnicas de segmentação de imagens, onde destacam-se:

Segmentação por detecção de borda — A definição de borda em uma imagem pode ser resumida como a variação súbita dos níveis de intensidade dos pixels. Os detectores de borda são caracterizados por detectar essas variações nos pixels e quando estes pixels estão próximos, eles podem ser conectados formando um contorno e assim definindo uma região ou objeto. Figura 27 ilustra a segmentação por detecção de bordas.

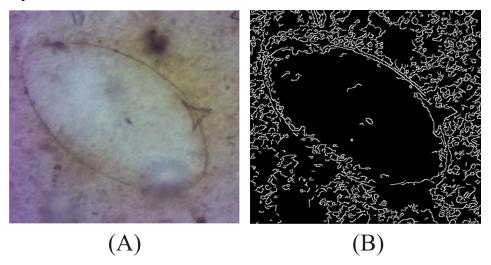


Figura 27 - Exemplo da aplicação da segmentação por detecção de borda onde, (A) é a imagem original e (B) o resultado da segmentação.

Fonte: Autor.

Segmentação por limiarização – Uma maneira de extrair os objetos do fundo é selecionar um limiar T, que separa estes modos. Então, qualquer ponto (x, y) na imagem que f(x, y) > T é chamado de *ponto do objeto*; caso contrário, o ponto é chamado *ponto de fundo*. A imagem segmentada, g(x, y) é dada pela formula (2.1).

$$g(x,y) = \begin{cases} 1 & se \ f(x,y) > T \\ 0 & se \ f(x,y) \le T \end{cases}$$
 (2.1)

Esta metodologia é de simples implementação e utiliza-se de propriedades intuitivas para a criação das imagens segmentadas, sendo bastante rápidas e com baixo custo computacional. A Figura 28 ilustra a aplicação do limitar global.

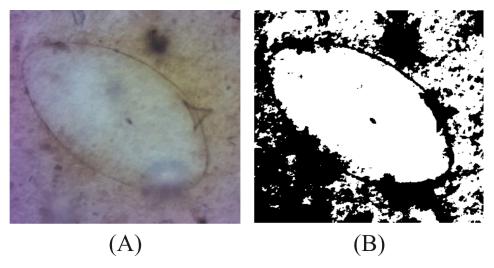


Figura 28 - Exemplo da aplicação de segmentação por corte onde, (A) é a imagem original e (B) o resultado da segmentação.

Fonte: Autor.

Segmentação por limiarização de Otzu – O método de Otzu é tido como ótimo no sentido de maximizar a variância entre classes, uma medida bem conhecida utilizada na análise estatística discriminante. A ideia é que as classes com limiares bem estabelecidos devem ser distintas em relação aos valores de intensidade de seus pixels e, inversamente, que um limiar que oferece a melhor separação entre as classes em termos de valores de intensidade seria o melhor limiar (limiar ótimo). Além do componente ótimo, o método de Otzu tem a importante peculiaridade de se basear inteiramente em cálculos realizados no histograma de uma imagem, um arranjo 1-D obtido facilmente. A Figura 29 mostra a segmentação por limiarização Otzu.

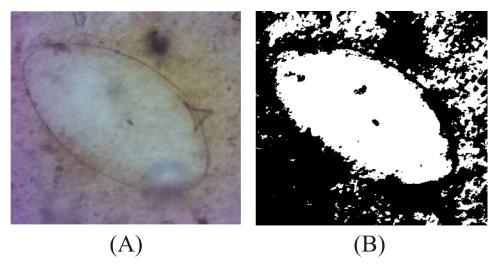


Figura 29 - Exemplo de aplicação de segmentação por região de crescimento onde, (A) é a imagem original e (B) o resultado da segmentação.

Fonte: Autor.

2.3.3 Inteligência Artificial E Detecção

A partir das imagens pré-processada e segmentadas, é possível extrair atributos que caracterizem a região ou objeto de interesse. Os atributos típicos são:

Número de objetos – é a quantização dos objetos de interesse na região segmentada.

Propriedades geométricas – são características particulares em relação a forma do objeto de interesse, como: área, perímetro, centro de gravidade, largura máxima e mínima.

Propriedades de luminância – são dados relativos aos níveis de intensidade de cinza médio de cada região, desvio padrão e momentos estatísticos da distribuição de cada região.

Propriedades associadas à textura – são dados obtidos a partir da textura e padrão de cores da região de interesse.

Com as características definidas, o objetivo da etapa de classificação é distinguir os objetos na imagem agrupando os parâmetros de acordo com sua semelhança para cada região de pixels encontrada. Essa classificação é sempre ponderada por uma medida de erro de classificação. A classificação é uma etapa complexa existindo diversos níveis de automação. Os processos mais simples implicam no agrupamento estatístico onde a decisão humana é fundamental. Os processos mais sofisticados utilizam técnicas de inteligência computacional onde não é necessária intervenção humana.

Segundo (RUSSELL & NORVIG, 2018), há várias técnicas para a implementação de classificadores. Das técnicas mais difundidas podemos destacar:

K-médias – método de agrupamento não-hierárquico por repartição, que produz k diferentes conjuntos com a maior distinção possível entre eles.

Árvores de decisão – método preditivo onde cada ramo da árvore é uma questão de classificação e cada folha é uma partição do conjunto de dados com sua classificação.

Redes neurais artificiais – técnica computacional inspirada na estrutura neural que adquire conhecimento a partir da experiência. É composta por várias unidades de processamento denominadas neurônios. Os neurônios são conectados por canais de comunicação que estão associados a peso e realizam operações sobre

seus dados locais. O comportamento inteligente de uma rede neural artificial vem da interação entre as unidades de processamento da rede.

Classificadores bayesianos – método estatístico que classifica um objeto em uma determinada classe, baseando-se na probabilidade deste objeto pertencer a esta classe.

Suporte a vetor de decisão – nesta técnica a separação entre classes do conjunto de treinamento é feita a partir de um hiperplano que é determinado por alguns pontos, os quais são denominados vetores de suporte.

Deep Learning – técnica que usa várias camadas de unidades de processamento para extração e transformação de características. Uma rede neural com deep learning possui uma camada de entrada, várias camadas escondidas e uma camada de saída.

O reconhecimento de padrões implica no processo onde existe algum conhecimento prévio e algum tipo de armazenamento do conhecimento sobre o objeto a ser reconhecido. Para o reconhecimento, é necessária uma base de conhecimento dos objetos a serem reconhecidos. Esta base pode ser implementada diretamente no código através de regras ou pode ser aprendida a partir de um conjunto de amostras dos objetos a serem reconhecidos por um classificador.

Um objeto pode ser definido por mais de um padrão (textura, forma, cor, dimensões, etc.) e o reconhecimento individual de cada um destes padrões pode facilitar o reconhecimento do objeto como um todo.

As técnicas de reconhecimento de padrões podem ser divididas em dois grandes grupos: No primeiro, os padrões são descritos de forma simbólica e a estrutura é a forma como estes padrões se relacionam. O segundo grupo é baseado em técnicas que utilizam teoria de decisão, neste grupo os padrões são descritos por propriedades quantitativas e deve-se decidir se o objeto possui ou não estas propriedades. Na Figura 30 é apresentado um exemplo de detecção de girafas em uma imagem.

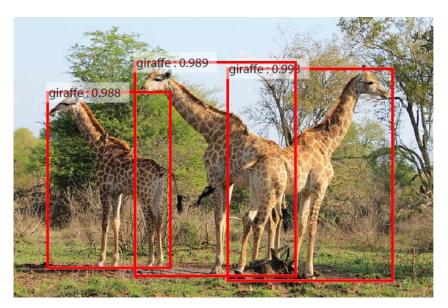


Figura 30 - Exemplo de detecção de animais. Fonte: https://arxiv.org/pdf/1506.01497v3.pdf

Várias técnicas de reconhecimento de padrões podem ser utilizadas na criação dos classificadores. Mais de uma técnica pode ser usada concatenadamente formando um classificador mais robusto e complexo. Uma das técnicas mais utilizadas são as árvores de decisão, por requererem menores recursos computacionais, de fácil implementação e cumprirem bem o papel de classificação.

2.3.4 Proposta de Detecção de (FIRMO, 2017)

A proposta de (FIRMO, 2017) utiliza o Opencv (Open Computer Vision Library) (BRADSKI & KAEBLER, 2008), uma biblioteca multiplataforma de uso livre para o desenvolvimento de aplicativos na área de visão computacional e processamento de imagens. Dentre os diversos recursos disponíveis nesse conjunto de algoritmos destacam-se as funções de processamento de imagem e os classificadores estatísticos.

O modelo de detecção tem como base o desenvolvido por (VIOLA & JONES, 2004) para detecção de face e objetos que permite uma implementação rápida e robusta. O modelo fornece três contribuições básicas:

1. Uma nova forma de representação de imagens chamada de imagem integral. Essa representação é descrita como a localização (x,y) contendo a soma dos valores da intensidade de todos os pixels a esquerda e acima deste ponto, incluindo-o. Como mostra a Figura 31.

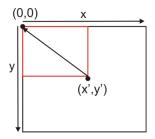


Figura 31 - Exemplo de subjanela para cálculo da imagem integral. Fonte: (FIRMO, 2017).

2. Uma metodologia de seleção de características Haar (PAPAGEORGIOU, OREN, & POGGIO, 1998) básicas na imagem integral a partir de um algoritmo de aprendizagem *boosting* (CARBONETTO, 2002) chamado AdaBoost. As características de Haar são simples retângulos compostos de duas regiões uma clara e outra escura. O valor da característica é a diferença entre a soma das intensidades dos pixels da região clara e a soma das intensidades dos pixels da região escura. A Figura 32 apresenta as características básicas de Haar.



Figura 32 - Características básicas de Haar. Fonte: (FIRMO, 2017)

3. A geração de uma estrutura de vários classificadores fracos interligados em cascata formando um classificador forte. Um classificador fraco hj é uma simples estrutura contendo um vetor de características fj, um limiar θj e uma paridade pj. A ideia central deste classificador é encontrar um limiar que melhor separe o valor de uma característica entre imagens definidas como positivas das características definidas como negativas (LIENHART & MAYDT, 2002). A Figura 33 apresenta o conceito da cascata de classificadores fracos.

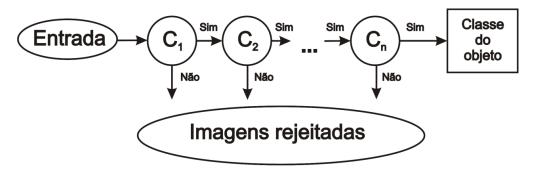


Figura 33 - Exemplo de uma cascata de classificadores fracos C1, C2,..., Cn formando um classificador forte.

Fonte: (FIRMO, 2017).

A proposta de (FIRMO, 2017) altera o algoritmo de treinamento da cascata de classificadores fracos com a implementação de um PSO. *Particle Swarm Optimization* (PSO) foi proposto por (KENNEDY & EBERHART, 1995) e é um dos mais importantes paradigmas de inteligência de enxames. O PSO usa um mecanismo simples baseado no comportamento do voo de pássaros para guiar partículas em busca de uma solução ótima global. O algoritmo de PSO é baseado em uma população de partículas, onde cada partícula representa uma possível solução do problema em questão. Cada partícula *p* pode ser representada como um objeto com várias características. Destacam-se as seguintes características:

 $\vec{x}_p(t)$: A posição atual da partícula;

 $\vec{v}_{p}\left(t\right)$: A velocidade atual da partícula;

 $\vec{y}_p(t)$: A melhor posição individual da partícula.

A posição da partícula é ajustada de acordo com sua própria experiência e da experiência de sua vizinhança. A melhor posição individual da partícula p representa a posição em que a partícula esteve onde obteve a melhor avaliação. O algoritmo do PSO faz uso de duas sequências aleatórias independentes, $r_1 \sim U(0,1)$ e $r_2 \sim U(0,1)$. Estas sequências são usadas para dar a natureza estocástica ao algoritmo. Essas sequências são utilizadas para a atualização da velocidade da partícula $\vec{v}_p(t)$ demonstrada na equação (2.2).

$$\vec{v}_{p,j}(t+1) = \vec{v}_{p,j}(t) + c_1 r_1(t) \left[\vec{y}_{p,j}(t) - \vec{x}_{p,j}(t) \right] + c_2 r_2(t) \left[\vec{b}_j(t) - \vec{x}_{p,j}(t) \right]$$
(2.2)

Onde, b é a posição da melhor partícula do enxame no momento, os valores de r_1 e r_2 são escalados através de constantes c_1e c_2 . Estas constantes são chamadas de coeficientes de aceleração e exercem influência no tamanho máximo do passo de que uma partícula pode dar em uma única iteração. A velocidade que atualiza o passo é especificada separadamente para cada dimensão $j \in 1 \dots n$, de forma que $v_{p,j}$ denota a dimensão j do vetor de velocidade associado com a partícula p.

A posição de cada partícula é atualizada usando o seu novo vetor de velocidade, como descrito na função (2.3). O Algoritmo 1 descreve o pseudocódigo do algoritmo básico do PSO.

$$\vec{x}_n(t+1) = \vec{x}_n(t) + \vec{v}_n(t+1). \tag{2.3}$$

Algoritmo 1 Pseudocódigo do algoritmo do PSO básico.

- 1. Inicializa uma população com *n* partículas.
- 2. Enquanto número máximo de iterações ou fitness desejado não for alcançado.
 - 2.1. Calcula o fitness para cada partícula.
 - 2.2. Atualiza a posição de cada partícula p e se o fitness atual for melhor que o anterior atualiza a melhor posição da partícula pela posição atual.
 - 2.3. Para cada partícula p.
 - 2.3.1. Calcula \vec{v}_{p} (*t* + 1);
 - 2.3.2. Atualiza $\vec{x}_{n}(t+1)$;
 - 2.3.3. Atualiza a posição da melhor partícula do enxame.

(FIRMO, 2017) Utilizou o PSO para encontrar a característica de Haar que tinha o menor erro associado para cada classificador fraco na construção da cascata de classificadores. A partir desta abordagem o treinamento foi até 700 vezes mais rápido e obteve uma taxa de acerto 30% superior que a proposta original de (VIOLA & JONES, 2004).

2.3.5 Computação nas Nuvens

Com os crescentes avanços tecnológicos o uso de dispositivos computacionais, aliados a conectividade por meio da internet, está cada vez mais presente no cotidiano das famílias ao redor do mundo (MARINESCU, 2007). Em 2011, o NIST – US National Institute of Standards and Technology, definiu o termo cloud computing (computação nas nuvens) como: "um modelo para permitir acesso de rede onipresente, conveniente e sob demanda a um grupo compartilhado de recursos de computação configuráveis (por exemplo, redes, servidores, armazenamento, aplicativos e serviços) que podem ser rapidamente provisionados e liberados com o mínimo esforço de gerenciamento ou interação com o provedor de serviços."

Segundo o MELL & GRACE (2011), a computação nas nuvens é caracterizada por 5 atributos: Serviços sob demanda; amplo acesso à rede; agrupamento de recursos; rápido escalonamento e métricas dos serviços. A partir

desses atributos, foram estruturados 4 modelos de prestação dos serviços nas nuvens:

Software como serviço – O SaaS são infraestruturas que só executam aplicativos desenvolvidos pelo provedor do serviço. O acesso aos aplicativos pode ser feito de qualquer equipamento que possua uma interface de acesso mínima como um navegador de internet. Os usuários não gerenciam nem tem controle sobre a infraestrutura dos equipamentos do servidor nem das configurações de gerenciamento das aplicações. São exemplos de SaaS: servidores de Webmails; redes sociais; aplicativos de comunicação; serviços de lojas virtuais, entre outros.

Plataforma como serviço — O PaaS oferece a capacidade de implantar aplicativos adquiridos ou criados pelo consumidor usando linguagens de programação e ferramentas suportadas pelo provedor do serviço. Os usuários têm controle apenas sobre as configurações no ambiente de desenvolvimento e sobre a publicação das aplicações. Não é particularmente útil quando o aplicativo deve ser portátil, quando são usadas linguagens proprietárias de programação ou quando o hardware e o software subjacentes devem ser personalizados para melhorar o desempenho da aplicação. Suas principais áreas de aplicação são o desenvolvimento de software quando vários desenvolvedores e usuários colaboram e os serviços de implantação e teste devem ser automatizados.

Infraestrutura como serviço – O laaS tem a capacidade de fornecer processamento, armazenamento, redes e outros recursos fundamentais de computação; o usuário é capaz de implantar e executar softwares arbitrários, o que pode incluir sistemas operacionais e aplicativos. O usuário não gerencia ou controla a infraestrutura de nuvem subjacente, mas tem controle sobre o sistema operacional, armazenamento, aplicativos implantados e controle limitado de alguns componentes de rede, por exemplo, firewalls de host.

Banco de dados como serviço – o DBaaS é um serviço na nuvem onde o banco de dados é disponibilizado através de um provedor de serviços. Como benefícios pode-se destacar: escalabilidade instantânea; garantia de performance; Expertise especializada; suporte a falhas; últimas atualizações e preços competitivos.

Em meados de 2006 a Amazon criou o AWS baseado no modelo de entrega de IaaS (infraestrutura como serviço). Neste modelo, promoveu a oferta de infraestrutura de servidores de computação e armazenamento interconectados por uma rede de alta performance com suporte e serviços de acesso a esses recursos. A

Amazon é uma das líderes de mercado no provimento de serviços de computação nas nuvens com uma vasta gama de produtos em todos os modelos de serviços (AMAZON, 2019).

Os serviços de maior destaque são:

Amazon EC2 – O Amazon Elastic Compute Cloud fornece um ambiente de computação virtual como laaS, permitindo que sejam utilizadas interfaces de serviços web iniciar instâncias com uma variedade de sistemas operacionais, carregue-os com seu ambiente de aplicativo personalizado, gerencie permissões de acesso à rede. Com esse serviço é possível criar um servidor, definindo: a quantidade de memória RAM, A quantidade de processadores, O tamanho do espaço do disco rígido, a quantidade de interfaces de rede, o sistema operacional e os aplicativos instalados.

AWS Lambda - fornece um serviço de computação sem a necessidade de gerenciamento de um servidor. O Lambda executa seu código em infraestrutura de computação de alta disponibilidade e realiza toda a administração dos recursos de computação, incluindo manutenção de servidor e de sistema operacional, provisionamento de capacidade e escalabilidade automática, implementação de código e de patch de segurança e monitoramento e registro de código. Só é necessário fornecer o código.

Amazon S3 – É um armazenamento de objetos criado para armazenar e recuperar qualquer quantidade de dados de qualquer local: sites e aplicativos móveis, aplicativos corporativos e dados de sensores ou dispositivos da IoT. Fornece alta disponibilidade, escalabilidade e backup dos arquivos com segurança e confiabilidade através de criptografia.

Amazon RDS – O Amazon Relational Database Service facilita configurar, operar e escalar bancos de dados relacionais na nuvem. Fornece o serviço de banco de dados na nuvem com desempenho rápido, alta disponibilidade, segurança e compatibilidade com os principais SGBDs do mercado.

Na Figura 34 é apresentado um exemplo de uma aplicação desenvolvida para prover um sistema de divulgação de imagens nas nuvens onde: O usuário acessa um site hospedado em um servidor EC2 que acessa o banco de dados em uma base RDS, valida os dados e armazena a foto em um serviço S3. Uma função de redimensionamento de imagens é acionada cada vez que uma nova imagem é

armazenada no serviço S3 e executada através de um serviço lambda e distribuído para os diversos tipos de dispositivos.

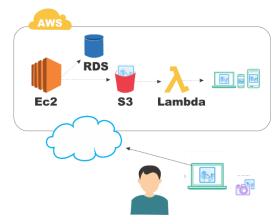


Figura 34 - Exemplo de um layout de utilização dos serviços da AWS para provimento da distribuição de imagens.

Fonte: Autor.

2.4 SOLUÇÕES DE ANÁLISE DE LÂMINAS DE PARASITOLOGIA

Com a popularização de recursos de hardware e software, começa a surgir algumas iniciativas na automatização da rotina laboratorial. Há no mercado algumas ofertas no fornecimento de soluções para a análise automatizada dos exames de análises clínicas. Para urinálise há soluções consolidadas como o sistema COBAS® 6500 da ROCHE (ROCHE, 2019) que analisa até 1.000 amostras por dia. Na área hematológica, a cellavision® (CELLAVISION, 2019) possui uma grande gama de produtos automatizados para a avaliação do sangue como a linha DM1200, que tem capacidade de avaliar 20 lâminas por hora.

Já na área de parasitologia, há algumas barreiras de entrada como: baixo valor agregado dos exames; um processo pré-analítico indesejado e baixa solicitação dos exames pelos médicos, que preferem receitar o tratamento sem o diagnóstico preciso.

Há uma iniciativa da BioBrasil em conjunto com a Unicamp, que desenvolveu uma nova metodologia para realização do pré-analítico chamado de TF-TEST (BIOBRASIL, 2019). O novo método propõe o uso de insumos próprios que juntam 3 amostras, coletadas em intervalos de tempo diferentes, e através de uma centrifugação é confeccionada a amostra que pode ser analisada com a solução DAPI. A solução DAPI é um equipamento que realiza a varredura automatizada da lâmina, preparada com o TF-TEST e realiza a identificação e contagem dos ovos de 15 parasitas intestinais. Como há a necessidade de autorização da ANVISA para

comercialização, os produtos ainda encontram-se em fase de homologação e aguardam a liberação do órgão fiscalizador para a comercialização. As Figura 35 e Figura 36 mostram o equipamento DAPI e o kit do TF-TEST.



Figura 35 - Equipamento DAPI da BioBrasil. Fonte: http://www.bio-brasil.com/produto/dapi



Figura 36 - Conjunto TF-TEST da BioBrasil. Fonte: http://www.bio-brasil.com/produto/tf-test

3 JUSTIFICATIVA E OBJETIVOS

3.1 JUSTIFICATIVA

A partir dos altos índices de contaminação encontrados em Pernambuco, um método de diagnóstico mais rápido e eficiente é de extrema prioridade para a contenção e diagnóstico da Esquistossomose e geo-helmintíases. Com base nos resultados alcançados no trabalho de investigação, apresentados por (FIRMO, 2017).

3.2 OBJETIVOS

3.3 OBJETIVO GERAL

Esta tese propõe a criação de uma solução automatizada, de baixo custo, que seja capaz de auxiliar na detecção e contagem dos ovos de *S. mansoni* e dos principais geo-helmintos.

3.4 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Objetivando o auxílio no mapeamento e controle dessas endemias em Pernambuco, a proposta da solução está dividida em 2 (duas) partes:

- O desenvolvimento de um equipamento para a aquisição e armazenamento de imagens das lâminas dos exames de fezes sem a necessidade de insumos ou de alteração na rotina pré-analítica. Para esta etapa podem-se destacar como principais requisitos: a definição do sistema mecânico, óptico e eletrônico.
- A implementação de uma ferramenta computacional capaz de identificar e contar os ovos de S. mansoni e principais geo-helmintos. Para esta etapa podem-se destacar como principais requisitos: a utilização de técnicas que permitam um tempo de processamento e de resposta rápido; a definição de comandos simples visando uma melhor usabilidade do sistema com o usuário.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

A descrição da solução proposta para a contagem automatizada dos ovos de geo-helmintos nos exames parasitológicos de fezes dos indivíduos suspeitos, está dividida em 3 (três) fases distintas: Na primeira fase, é feita a aquisição das imagens da lâmina do exame parasitológico de fezes dos indivíduos suspeitos e realizado o processamento adequado das imagens. Na segunda fase é apresentado o sistema de detecção dos ovos de geo-helmintos nas imagens geradas a partir da primeira fase. Na terceira fase, é apresentada a proposta de utilização da solução e os testes preliminares. Na Figura 37 há um fluxograma da solução proposta por cada fase.



Figura 37 - Fluxograma por fase da solução. Fonte: Autor.

4.1 ARRANJO EXPERIMENTAL 1ª FASE – DISPOSITIVO DE AQUISIÇÃO E ARMAZENAMENTO DAS IMAGENS DAS LÂMINAS

Com objetivo de realizar a captura das imagens das lâminas dos exames parasitológicos de fezes, a proposta de desenvolvimento de um equipamento para realizar essa tarefa, foi o ponto de partida da 1ª fase da solução. Com a premissa de que o equipamento não fosse um acessório de um microscópio e sim um sistema autônomo, foram elencados os seguintes requisitos:

- 1. Ser capaz de realizar a varredura da lâmina de forma automatizada;
- 2. Possuir um sistema óptico capaz de adquirir imagens digitais;
- 3. Promover uma interface de comando simplificada;
- 4. Capacidade de armazenamento temporário das imagens;
- 5. Realizar o envio das imagens ao sistema de detecção dos ovos, através da internet:

A construção do dispositivo foi dividida em 2 etapas: Componentes e partes; Software de comando. As seções seguintes descrevem as atividades de cada uma das etapas.

Componentes e partes

Em atendimento ao primeiro requisito, a primeira etapa é a construção da estrutura de movimentação da lâmina. A construção da estrutura mecânica foi baseada em um sistema CNC – *Computer Numeric Control* (SMID, 2007). Foi utilizado o sistema de movimentação cartesiano de dois eixos, onde: a lâmina foi apoiada em um suporte com deslocamento em uma direção, determinada de eixo y; a câmera de vídeo fixada em um suporte, com movimento e posição ortogonal ao eixo da lâmina, aqui determinado eixo x.

Para realizar o movimento dos eixos foram utilizados dois motores de passo que possuem tensão de trabalho de 5V e consomem 500mA, foram extraídos de drivers de DVD, utilizados em computadores do tipo PC, e possuem resolução de 18º por passo. Foi projetada uma peça, na ferramenta computacional de CAD Solid Word®, para abarcar os motores e criar os eixos x e y. A peça possui o formato de um "L" com dimensões de: 11,6 cm de largura, 11 cm de comprimento por 16,1 cm de altura. Para a definição dessas medidas foi usado como requisito a distância possível entre o microscópio USB e a lâmina. A Figura 38 mostra a modelagem em 3 dimensões da peça.

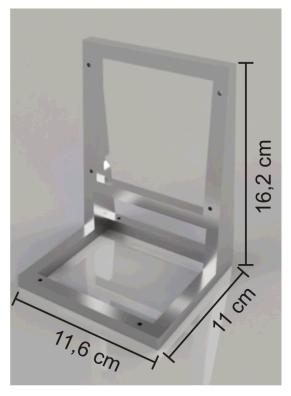


Figura 38 - Modelagem em 3D da peça "L". Fonte: Autor.

Para realizar o controle dos motores de passo, foi utilizada uma plataforma de computador OEM – *Original equipment manufacture* – Raspberry Pi3® (MONK, 2014). No Raspberry foi utilizado o sistema operacional Linux Raspian. Além do microprocessador, foi construído dois drivers de controle dos motores passo. Em cada drive foi usado um circuito integrado de ponte H, SN754410. Fabricado pela Texas Instruments, possui 4 pontes H capaz de controlar motores com tensão entre 4.5V à 36V e correntes de até 1A (TEXAS, 2019). Foi utilizado um roteador Wi-Fi TL-WR702N da TP-LINK para prover uma interface de acesso ao equipamento remotamente, através do protocolo SSH e HTTP.

Para realizar o acondicionamento do Raspberry, drivers de motor de passo, fontes de alimentação e demais componentes, uma caixa foi projetada também no Solid Words®. As dimensões externas são de 16,8 cm de largura, 15,5 cm de comprimento de 9,8 cm de altura. A Figura 39 mostra o esboço da caixa. O roteador Wi-Fi foi conectado por meio da porta USB, ficando externo ao protótipo.

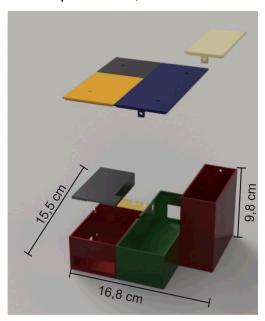


Figura 39 - Modelo 3D da base de acondicionamento dos componentes eletrônicos. Fonte: Autor.

Um microscópio USB foi utilizado para a obter as imagens das lâminas. Ele possui câmera com um sensor CMOS, um sistema de iluminação próprio com leds, conectividade USB e resolução de 640x480 pixels. Para fixar o microscópio ao motor do eixo x, foi projetado um mecanismo na ferramenta de CAD descrita neste trabalho. Este mecanismo permite realizar um ajuste fino do foco do microscópio de forma manual por meio de um parafuso micrométrico. A Figura 40 mostra o esboço do mecanismo.

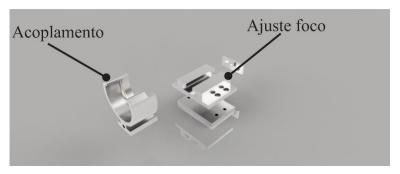


Figura 40 - Modelo 3D do suporte do microscópio USB. Fonte: Autor.

Para a acomodação da lâmina, também foi desenvolvido um suporte na ferramenta CAD que é fixado ao motor no eixo y. A peça é uma mesa de 8,2 cm de largura por 7 cm de comprimento. As medidas da mesa foram definidas para abarcar uma lâmina de microscopia padrão. A Figura 41 mostra a peça já impressa através de uma impressora 3D.

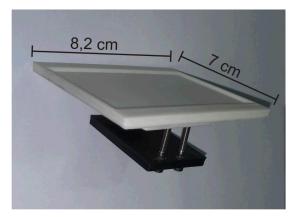


Figura 41 - Mesa para acomodação da lâmina. Fonte: Autor.

Software de comando

Para realizar o acionamento dos motores, a aquisição e formatação das imagens, estabelecer a comunicação e envio das imagens para o servidor nas nuvens, através da internet, foi desenvolvido um software responsável por essas ações. Para a criação do software de comando foi eleito o uso de uma placa Raspberry Pi 3 com microprocessador por possuir poder computacional necessário para a execução de todas as funcionalidades. A Figura 42 apresenta o diagrama em blocos das ações do software.

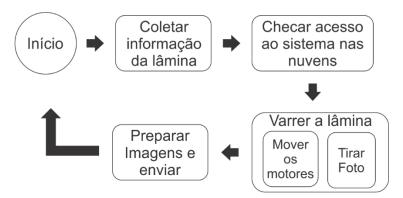


Figura 42 - Diagrama em blocos do software de comando. Fonte: Autor.

O software foi construído com a linguagem de programação Python (PADMANABHAN, 2016), que faz parte do sistema operacional Raspian, que é distribuído sobre a licença de código aberto e é baseado no sistema operacional Linux Debian. A Figura 43 mostra as classes do programa.

App.py Device.py VideoStream.py WebcamVideoStream.py PiVideoStream.py Gcode.py MotorControl.py Driver_Stepper_Motor.py H_bridge.py Drive_corexy.py Drive_c.py Send.py

Figura 43 - Classes do software de comando. Fonte: Autor.

O software foi construído com o paradigma de orientação à objetos, que preconiza a abstração de funcionalidades agrupadas em classes. Em seguida temos a descrição das ações de cada classe:

App.py – Classe principal do sistema responsável pela inicialização de todos as subtarefas. É a partir dessa classe que é iniciado o serviço de exibição das telas do sistema, inicialização da classe Device e Send.

Device.py – Classe responsável pelo gerenciamento das partes mecânicas, eletrônica e óptica. É a partir desta classe que ocorre toda a manipulação do equipamento.

VideoStream.py – Classe responsável pelo controle do sistema óptico. A biblioteca contempla duas subclasses que controlam dois tipos de câmeras.

WebcamVideoStream – Classe responsável por controlar uma câmera do tipo USB. É através dessa classe que é adquirida a imagem do microscópio digital.

PiVideoStream – Classe responsável por controlar uma câmera do tipo proprietária para uso com as placas Raspberry. Essa classe permite que sejam experimentados novos acoplamentos ópticos.

Gcode.py – Classe responsável pelo controle dos motores de movimentação do sistema mecânico. A classe foi criada utilizando o padrão do código G para o posicionamento de máquinas industriais que fazem uso de sistemas Comando Numérico Computadorizado (CNC). Essa classe aciona dois tipos de controles eletrônicos dos motores e é capaz de trabalhar em dois sistemas de movimentação.

MotorControl.py – Classe que seleciona a combinação do controle eletrônico e o sistema de movimentação.

Driver_Stepper_Motor.py – Classe que aciona o drive A4988 (POLULU, 2019) e similares para comandar controles de passo.

H_bridge.py – Classe que aciona circuitos integrados exclusivos de ponte H como o SN754410 (TEXAS, 2019) para controlar motores de passo.

Drive_corexy.py – Classe com a lógica para acionamento consecutivo dos motores promovendo a movimentação em sistemas de core XY.

Drive_c.py – Classe com a lógica de acionamento consecutivo dos motores promovendo a movimentação em um sistema de eixos cartesiano.

Send.py – Classe responsável pela autenticação do usuário e envio das imagens para o servidor nas nuvens.

A montagem do equipamento foi realizada em 2 etapas distintas: Montagem das partes eletrônicas e mecânicas e montagem do microscópio USB e interface de controle.

Para a montagem do conjunto eletromecânico foi desenvolvida uma placa, com uma placa perfurada de prototipagem rápida, responsável por conter os circuitos integrados SN754410 e conexões com o Raspberry e motores. A Figura 44 apresenta a placa.

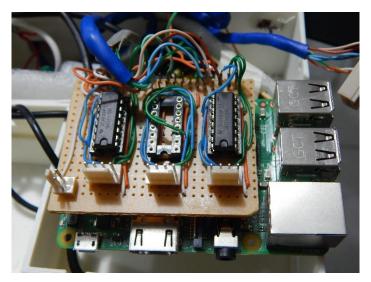


Figura 44 - Placa de controle dos motores. Fonte: Autor.

A placa é conectada à placa Raspberry através das portas GPIO e fornece alimentação aos motores.

Os dois conjuntos de motores, promovendo um sistema de movimentação plano cartesiano, onde no eixo x está acoplado o microscópio USB e no eixo y a lâmina a ser analisada. Toda a parte estrutural do equipamento foi projetada e confeccionada em impressão 3D de baixo custo. A Figura 45 apresenta os dois eixos montados.

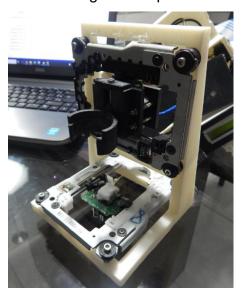


Figura 45 - Eixos x e y montados com os motores. Fonte: Autor.

Para montagem da interface de controle foi desenvolvida uma base capaz de acomodar a fonte de alimentação e a placa do Raspberry. A Figura 46 apresenta a base do equipamento.

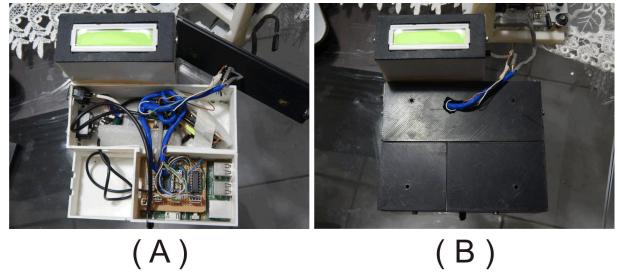


Figura 46 - (A) Base acomodando todas as partes eletrônicas, (B) base fechada e com furação para o sistema mecânico.

Fonte: Autor.

Também foi desenvolvido uma interface de notificação das ações do equipamento por um display de led e adicionado uma tampa acrílica para proteção do conjunto no momento da leitura das lâminas. A Figura 47Figura 47 mostra o equipamento montado.

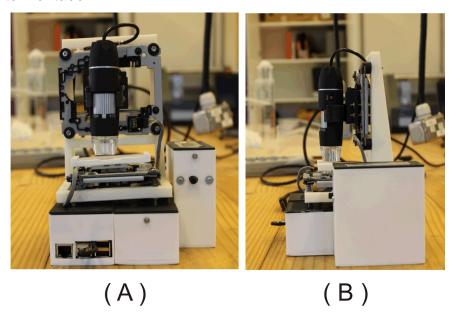


Figura 47 - Equipamento montado (A) vista frontal, (B) vista lateral. Fonte: Autor.

Para que seja possível acessar o software de controle é necessário acessar a interface através de um smartphone ou Computador. Esse acesso é provido por um roteador que cria uma rede de dados privada entre os dispositivos. Com os dispositivos conectados, em um navegador web é acessado o endereço http://192.168.15.6:5000 e visualizado a tela de entrada padrão. Nessa tela são

fornecidos os dados da lâmina e o usuário e senha de acesso ao servidor nas nuvens. A partir dessa mesma tela é possível visualizar, em tempo real, a imagem que está sendo capturada pela câmera permitindo ajustar o foco do microscópio digital. O ajuste do foco é feito de maneira manual, apenas uma vez, antes de iniciar a leitura automática da lâmina. Com o foco ajustado é possível iniciar a leitura automática a partir do botão Iniciar. É iniciada a movimentação da lâmina e adquiridas as imagens de cada quadro da movimentação. Ao término da leitura, as imagens são preparadas e enviadas ao servidor nas nuvens e o sistema mecânico volta ao posicionamento inicial permitindo que uma nova leitura seja iniciada. Nesta primeira versão, o equipamento é capaz de armazenar 100 exames, no cartão de memória de 16GB, caso não encontre acesso à internet. A Figura 48 mostra a Tela inicial e a tela de ajuste do foco.

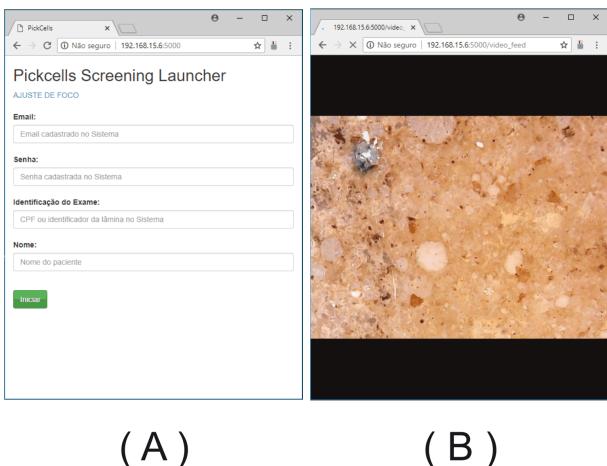


Figura 48 - (A) Tela inicial do software de controle e (B) tela de ajuste do foco. Fonte: Autor.

Sistema Pronto para uso Colocar a Acessar o sistema Fornecer as informações Aciona a analizada dispositivo do sistema Automática Usuário do dispositivo de captura Há acesso a NÃO internet? Envia fotos ao Servidor nas SIM nuvens Prepara as o envio SIM Guarda as NÃO imagens e deixa o envio pendente Finaliza o processo

A Figura 49 descreve o fluxo de utilização do equipamento.



Figura 49 - Fluxo de utilização do equipamento. Fonte: Autor.

4.2 ARRANJO EXPERIMENTAL 2ª FASE – SISTEMA DE DETECÇÃO INTEGRADO.

Com as imagens coletadas pelo dispositivo de fotodocumentação, é necessário um software para realizar a identificação e contagem dos ovos de geo-helmintos. Esse mesmo software deve ainda ser capaz de estruturar a divulgação das informações com georreferenciamento e confiabilidade. O desenvolvimento do sistema é montado sobre a plataforma Amazon Web Service usando. A Figura 50 mostra a arquitetura do sistema utilizando a infraestrutura da Amazon Web Service (AMAZON, 2019). A seguir serão apresentadas as descrições dos serviços.

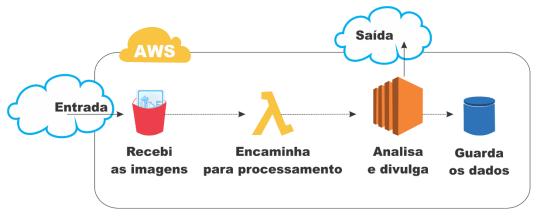


Figura 50 - Arquitetura do sistema nas nuvens. Fonte: Autor.

O primeiro serviço é o de receber os arquivos das imagens enviadas pelo equipamento. Essa função é realizada através do serviço Amazon S3 (AMAZON, 2019). O equipamento varre a lâmina e tira uma foto de cada quadro da lâmina. Está assegurado que a área de varredura é a área da lamínula. Nessa configuração são adquiridas 745 imagens por lâmina. Cada imagem tem resolução de 640x480 pixels e tamanho aproximado de 130KB. Cada conjunto de imagens de uma lâmina equivalem a aproximadamente 97MB. O serviço gratuito do S3 disponibiliza um espaço de armazenamento de 5GB. Com esse espaço é possível armazenar as imagens de 51 lâminas. No Algoritmo 2 está descrito o pseudocódigo das funções desse serviço.

Algoritmo 2 – Pseudocódigo do recebimento.

- 1. O serviço S3 recebe uma requisição de autenticação com o usuário e senha;
- 2. Caso o usuário seja validado;
 - 1. É criada uma área para armazenar as imagens;
 - 2. Associada essa área aos dados da lâmina:
 - 3. Recebida as imagens;
 - Enviada uma resposta para o equipamento do recebimento das imagens;
 - 5. Envia uma notificação para a função Lambda e finalizada a sessão.
- 3. Caso o usuário não seja validado;
 - 1. A requisição é negada.

O serviço do S3 recebe as requisições de envio das imagens e a primeira ação é a de autenticar se o usuário tem permissão para o envio. A etapa de validação do usuário é provida com o uso de criptografia de chaves assimétricas que garante a autenticidade e integridade dos dados enviados através da internet. Com o usuário autenticado, é criado uma pasta para o recebimento das imagens. Essa pasta é associada aos dados da lâmina e assim gerado um novo diagnóstico. A próxima ação é receber os arquivos de imagem e ao final notificar o equipamento sobre o envio. Essa última ação libera o equipamento para realizar uma nova coleta. O serviço S3 é dimensionado para responder a diversas requisições simultâneas o que possibilita que vários equipamentos possam enviar arquivos ao mesmo tempo. Após a notificação do equipamento o serviço S3 envia uma notificação para o serviço AWS lambda (AMAZON, 2019) de que um lote de imagens foi recebido.

Com as imagens armazenadas é necessário iniciar o processo de análise das imagens. Para realizar essa ação é utilizado o serviço Lambda da Amazon. O gatilho para o Lambda é a chegada dos arquivos no serviço S3. O Lambda é configurado para monitorar a área de armazenamento e a cada novo bloco de imagens recebidas encaminhar uma solicitação de análise para o serviço do EC2. Esse serviço provê automatização do fluxo de trabalho por demanda. O algoritmo 3 descreve a função do serviço Lambda.

Algoritmo 3 – Pseudocódigo do encaminhamento.

- A função Lambda recebe uma notificação do serviço S3 que há imagens para processar;
- A função Lambda programada, certifica-se das permissões de acesso aos arquivos;
- O código da função Lambda aciona a tarefa de analisar as imagens através de um programa que está em funcionamento no serviço EC2;
- 4. A função Lambda é finalizada.

Assim que recebe uma notificação do serviço S3, a função Lambda aciona o servidor EC2 e realiza a chamada ao programa de análise das imagens. Essa automação garante que seja criada uma fila de execução de processamentos proporcionando um controle as requisições do servidor Amazon EC2. Além de implementar um nível de segurança adicional pois o usuário da solução não é capaz de acessar o sistema de detecção, apenas a função Lambda tem acesso a executar o programa.

A partir da solicitação de análise da função Lambda o sistema de detecção é acionado no servidor Amazon EC2. Nesse servidor são providos os serviços de inteligência artificial para detecção dos ovos dos geo-helmintos, o sistema de informação para cadastro dos usuários e controle das informações das lâminas, além da visualização das imagens e dos resultados das análises. Este serviço é o que concentra as principais ações do sistema nas nuvens. O Algoritmo 4 descreve as rotinas do serviço análise e divulgação dos resultados.

Algoritmo 4 – Pseudocódigo da análise e divulgação.

- Recebe a requisição de análise das imagens pela função Lambda;
- Executa a detecção dos padrões através do algoritmo proposto por (FIRMO, 2017);
- Armazena as informações da detecção e os dados das lâminas em um banco de dados;
- Analisa os dados e disponibiliza um mapa com as áreas dos casos positivos;
- Formata as informações e apresenta ao usuário através de um portal na internet;

O serviço do EC2 tem duas grandes funções: a primeira é de realizar as análises das imagens e fazer a detecção dos ovos de geo-helmintos e a segunda é de formatar as informações e entregar ao usuário através de um portal na internet.

A primeira ação é feita através do programa de detecção desenvolvido como proposto por (FIRMO, 2017). Utilizando um algoritmo de AdaBoost, otimizado por um PSO, criando uma cascata de classificadores fracos de 10 estágios. O hardware do servidor EC2 é equivalente a um processador de 2 núcleos e 8 GB de memória Ram. Após a execução da detecção, os dados são armazenados em um serviço de banco de dados.

A segunda ação do serviço EC2 é de disponibilizar as informações da detecção. É através de um portal web, com autenticação dos usuários, que é apresentado os resultados da detecção por lâminas. A interface fornece as informações por exame realizado e permite a segmentação dos usuários por unidades de trabalho e níveis de acesso. Além de plotar um mapa com os casos positivos.

Finalizada as análises das imagens, as informações sobre a quantidade de ovos detectados, as informações das lâminas e todos os dados são guardados em um serviço de banco de dados Amazon RDS. O uso de um serviço de banco de dados garante a custódia e confidencialidades das informações, através do uso de algoritmos de criptografia e chaves assimétricas, além de prover a consulta a qualquer tempo.

4.3 ARRANJO EXPERIMENTAL 3ª FASE – TREINAMENTO DA SOLUÇÃO

Com a conclusão da 2ª Fase, foi iniciada a fase de testes da solução. Para a realização dos testes foi estabelecido um convênio com o LACEN/LABEND - Laboratório de Endemias do Laboratório Central de PE. Através do convênio, foram utilizadas 30 lâminas decorrentes dos exames de rotina do laboratório. Na execução dos testes, os dados dos pacientes foram preservados e apenas as lâminas e os resultados foram utilizados.

Como primeira atividade, foram adquiridos dois conjuntos de imagens. Um conjunto que continham ovos dos geo-helmintos, constituindo o conjunto de imagens positivas, e um conjunto de imagens que não tinham ovos, formando o conjunto de imagens negativas.

As imagens positivas foram separadas em 4 grupos: Um grupo apenas com fotos dos ovos de *S. mansoni*; um grupo apenas com fotos de ovos de *T. trichiura*; um grupo apenas com fotos de ovos de A. lumbricoide e um grupo apenas com fotos de *E. vermicularis*.

Cada grupo de fotos passou por um pré-processamento de imagem permitindo uma maior evidenciação das características de cada tipo de ovo. O pré-processamento da imagem consiste na aplicação de filtros na seguinte ordem: A conversão das imagens para uma escala de cor de tons de cinza; aplicação de um filtro de equalização de histograma para ajustes de brilho, contraste e saturação; aplicação de um filtro gaussiano de suavização para minimizar as interferências na imagem. A Figura 51 mostra a aplicação dos filtros em uma foto com dimensões de 640 x 480 pixels.

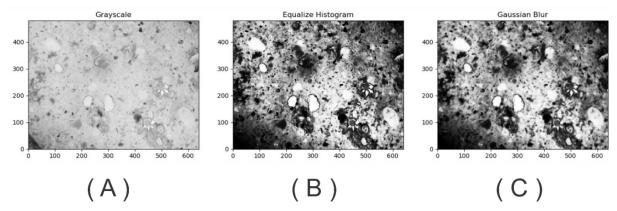


Figura 51 - (A) aplicação do filtro de grayscale, (B) aplicação do filtro de histograma, (C) aplicação do filtro de suavização gaussiano.

Fonte: Autor.

Após o pré-processamento, foram marcadas em cada foto o objeto de interesse, no caso, o ovo dos geo-helmintos. A Figura 52 mostra uma foto com o ovo de *S. mansoni* marcada. A marcação é feita através de um software, que foi desenvolvido para coletar o valor das coordenadas de um quadrado que contivesse o objeto de interesse. Em seguida, essas coordenadas são guardadas em um arquivo que contém o nome da imagem, a quantidade de objetos de interesse e as coordenadas do quadrado na imagem. Esse arquivo é usado para informar ao software de treinamento quais os objetos a serem aprendidos.

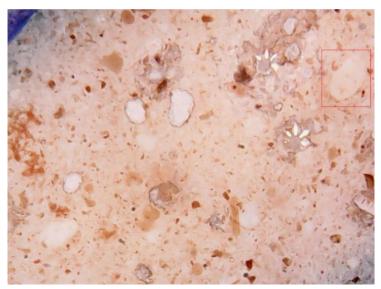


Figura 52 - Foto com a marcação de um ovo de *S. mansoni*. Fonte: Autor.

As imagens marcadas foram apresentadas para o programa de treinamento, que analisando cada imagem, ajustou os pesos e parâmetros utilizados no algoritmo de reconhecimento com o objetivo de identificar os ovos em novas imagens. Das 30 lâminas disponíveis foi possível compor o seguinte conjunto de treinamento: 72 imagens de ovos de *S. mansoni*; 18 imagens de ovos de *T. trichiura*; 70 imagens de ovos de *A. lumbricoide* e 46 imagens de ovos de *E. vermicularis*. O conjunto de imagens negativas foi composto de 100 imagens que não continha ovos de parasitas. Cada treinamento foi realizado de forma independente. O tempo médio de treinamento foi de 30 segundos por geo-helmintos.

5 RESULTADOS

Com o sistema treinado, a próxima ação é o teste com as lâminas. Com o objetivo de validar todo o fluxo da aquisição da imagem até o resultado, foi utilizada uma lâmina apenas com ovos de *S. mansoni*. Com o objetivo de validar toda a cadeia de execução da solução e como a infraestrutura de acesso à internet no LABEND não estava disponível, foi limitado a aquisição das imagens a 45 fotos do centro da lâmina e utilizado uma conexão à internet através de um modem 3G. A Figura 53 apresenta o fluxograma geral da utilização da solução.

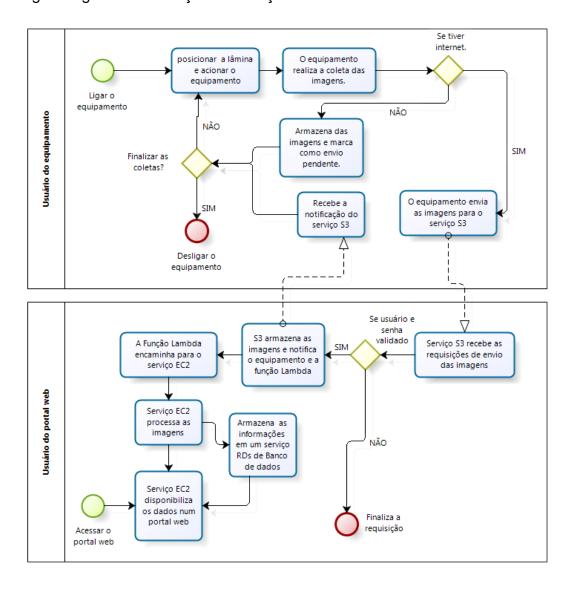




Figura 53 - Fluxograma do uso da solução de ponta a ponta. Fonte: Autor.

Para a lâmina foi atribuído dados fictícios como Nome do Paciente e CPF. O equipamento coletou as imagens em 45 segundos e o tempo total do início do exame até o resultado foi de aproximadamente 2 minutos.

A visualização do resultado do exame foi feita através do acesso ao portal web e visualização das imagens marcadas com a detecção dos ovos. As Figura 54 e Figura 55 apresenta a tela do resultado.

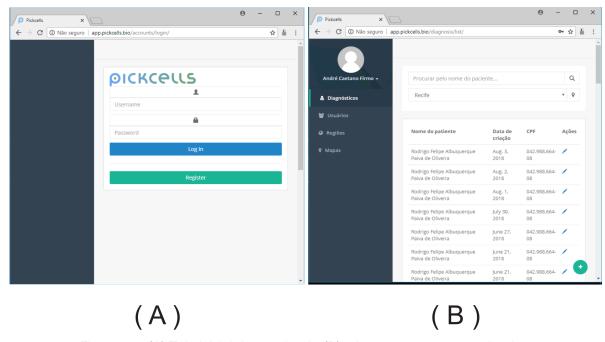


Figura 54 - (A) Tela inicial do portal web, (B) tela com os exames realizados. Fonte: Autor.

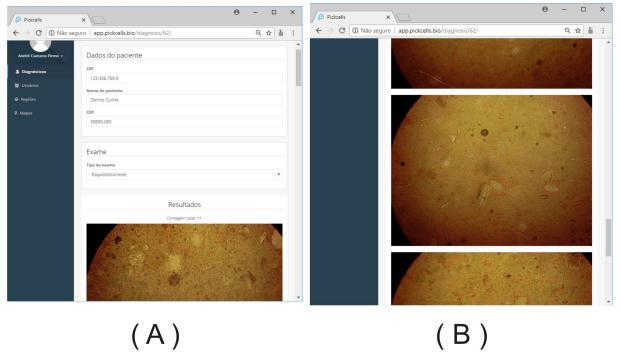


Figura 55 - (A) Tela com o resultado de uma lâmina, (B) tela com o exemplo das imagens. Fonte: Autor.

A partir do resultado obtido, foi apresentado aos técnicos da parasitologia do LABEND que questionaram acerca da qualidade da imagem adquirida. A pesar do sistema realizar corretamente a identificação do ovo de *S. mansoni*, os técnicos do laboratório argumentaram que a imagem adquirida pela solução não apresentava qualidade suficiente, comprada à imagem visualizada através do microscópio óptico, para que ele atestasse sobre a corretude da detecção. Com base nesse questionamento, foi iniciado um novo estudo para melhorar a qualidade das imagens adquiridas pelo equipamento. Com relação ao uso do sistema e a operacionalidade do equipamento não houveram questionamentos por parte dos técnicos.

Com base nas observações dos técnicos do LABEND, foram retomadas as ações de prospecção de soluções para otimização da qualidade das imagens do conjunto óptico. Foi utilizada uma nova câmera de vídeo, Raspberry Pi Camera Board V2. Essa câmera possui um sensor CMOS com resolução de até 3280 x 2464 pixels. Esse sensor permite capturar um pixel de área de 1,12µm x 1,12µm. Foi ajustado a resolução da nova imagem para o padrão 720 x 480 pixels. A Figura 56 apresenta a Raspberry Pi Camera Board V2.

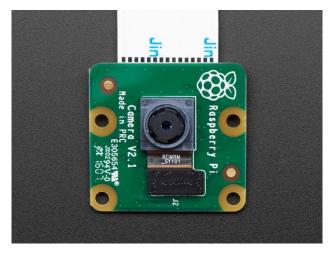


Figura 56 - Raspberry Pi Camera Board V2. Fonte: https://www.adafruit.com

Para a validação da qualidade da imagem, a câmera foi adaptada a um microscópio. Para que houvesse o acoplamento óptico entre as lentes do microscópio e da câmera foram realizadas algumas adaptações. A primeira adaptação foi a retirada da lente da Raspberry Pi Camera Board V2 permitindo acesso direto ao sensor CMOS. Em seguida, foi retirada a lente ocular do microscópio garantindo que a imagem real criada pela lente objetiva incidisse diretamente no sensor CMOS. A Figura 57 mostra o acoplamento da câmera ao microscópio.



Figura 57 - Câmera acoplada ao microscópio. Fonte: Autor.

Com o novo sistema foi possível adquirir imagens com uma magnificência de aumento superior a 100x de aumento, mesmo utilizando apenas uma lente objetiva de 10x. A Figura 58 mostra uma imagem adquirida com o novo conjunto óptico.



Figura 58 - Foto do ovo de *S. mansoni* adquirida com a câmera acoplada no microscópio. Fonte: Autor.

Diante das novas imagens obtidas, os técnicos do LABEND atestaram a credibilidade no uso das imagens com a qualidade adquirida. Foi utilizada esta nova abordagem de aquisição de imagens a partir desse novo conjunto óptico e com movimentação manual da lâmina no microscópio para a criação do novo conjunto de treinamento do sistema de detecção.

5.1 ATUALIZAÇÃO DO DISPOSITIVO DE AQUISIÇÃO E ARMAZENAMENTO DAS LÂMINAS

A partir da validação das novas imagens pelos técnicos do LABEND, foi necessário criar um novo equipamento capaz de suportar um novo conjunto óptico.

Com o objetivo de reproduzir o caminho óptico realizado pela luz, da fonte luminosa até a ocular do microscópio, foi utilizado o conjunto de lentes e prismas encontrados em um tubo óptico de um microscópio. A Figura 59 o esquema da montagem das lentes retiradas de um tubo óptico.



Figura 59 - Lentes e prismas extraídos do tubo óptico de um microscópio. Fonte: Autor

Foi criada uma caixa para abarcar as lentes e prismas. A caixa foi projetada respeitando as distâncias encontradas no tudo do microscópio. Foi construída uma peça de metal para conexão da lente objetiva e realizado o alinhamento das lentes respeitando a centralização encontrada no tubo óptico do microscópio. A Figura 60 apresenta a caixa que abarca o novo conjunto óptico montado.

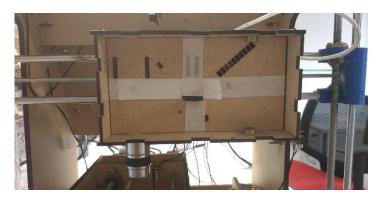


Figura 60 - Novo conjunto óptico. Fonte: Autor.

Afim de proporcionar a movimentação do novo conjunto óptico, foi necessário projetar um novo conjunto mecânico capaz de realizar o deslocamento nos eixos X, Y e Z. Baseado no conceito de CNC (SMID, 2007), usando a movimentação cartesiana de 3 eixos , onde: a lâmina foi apoiada em um suporte com deslocamento em direção determinada de eixo y, o suporte da lâmina foi apoiado em um outro suporte, perpendicularmente no sentido horizontal, com deslocamento em direção

determinada de eixo x e o conjunto óptico, com movimentação e posição ortogonal ao eixo da lâmina, determinado de eixo z.

Para realizar a movimentação dos eixos, foram substituídos os motores extraídos de drivers de DVD, por motores de passo padrão NEMA 17 WS17-0035-04-4. A escolha desses motores foi motivada por suas especificações técnicas que consistem de: Ângulo de passo de 1.8°, corrente de trabalho de 0.4A, tensão de trabalho de 12V e torque de 3.5kgf.cm (WOTIOM, 2019). Além dos motores, o sistema de movimentação é composto por: fuso, castanha, eixo retificado e rolamento linear. Foram utilizados 5 motores sendo: 2 motores para o eixo X, 2 motores para o eixo Z e um motor para o eixo Y. A justificativa para o uso de dois motores nos eixos X e Z é que para garantir a estabilidade do movimento, a tração do conjunto deveria ser feita pelo centro de massa. Como o componente de iluminação deve ficar no centro dos conjuntos e alinhado ao conjunto óptico, se fez necessário, proporcionar a tração com a divisão do esforço mecânico garantindo o menor *stress* do sistema e reduzindo a trepidação. A Figura 61 mostra os 3 eixos montados.



Figura 61 - Novo sistema mecânico montado com os eixos X, Y e Z. Fonte: Autor.

Para controlar os novos motores NEMA 17, foram utilizados 3 drivers de motores de passo A4988 (POLULU, 2019) ao invés do CI SN754410. A justificativa para a substituição é que: é possível fazer um controle preciso da movimentação dos motores com até 1/16 do passo do motor em comparação ao passo completo com a

ponte H. Foi desenvolvido um projeto de placa de controle dos motores e confeccionada uma placa de circuito impresso para substituir a placa anterior. A nova placa utiliza um driver para controlar os motores de cada eixo, também utiliza as portas GPIO, possui um regulador de tensão de 5V para alimentação do Raspberry Pi 3 e controla um Led de alto brilho que provê a iluminação da lâmina. A alimentação de todo o circuito é feita através de uma fonte de 12V 5A. A Figura 62 apresenta o layout da placa de controle.

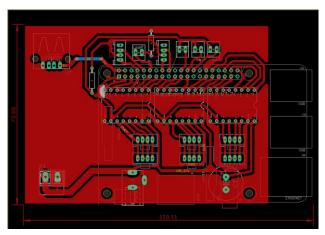


Figura 62 - Layout da placa de controle dos motores. Fonte: Autor.

Na montagem do novo equipamento, um dos grandes desafios foi o alinhamento do novo conjunto óptico com o sistema e iluminação, que antes era provido pelo microscópio USB. Um segundo fator foi o controle da iluminação. Para a determinação dos parâmetros de iluminação foi usado como base um microscópio binocular Coleman N107 (COLEMAN, 2019) e realizado o ajuste de iluminação descrito no procedimento de August Koehler (MURPHY & DAVIDSON, 2012). Foi realizada a medição da irradiação luminosa através do sensor TSL235 (TAOS, 2019) conectado a uma placa de desenvolvimento LORA WIFI 32 (HELTEC, 2019). Com base no valor de 2,08 μW/cm², coletado no microscópio sem a lente ocular, foi ajustada a irradiação da lâmpada do equipamento para prover a mesma intensidade no sensor da câmera do conjunto óptico. A Figura 63 mostra o sensor TSL235 montado na placa LORA WIFI 32.

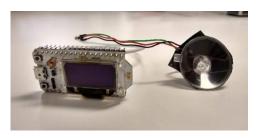


Figura 63 - Sensor TSL235 montado na placa LORA WIFI 32. Fonte: Autor.

5.2 TESTE NO LABORATÓRIO DE ENDEMIAS DO LACEN

Com todas as partes definidas e validadas, a montagem do equipamento foi realizada com a confecção dos suportes em chapas de MDF 3mm com corte laser. O software de comando foi ajustado com a inclusão de uma classe DRIVER_A4988 para controle dos motores e na interface o acionamento do eixo Z é feito através de um botão que permite o ajuste do foco. A Figura 64 mostra o equipamento montado e em testes no laboratório do LABEND. Na Figura 65 temos o comparativo entre as imagens adquiridas com o primeiro equipamento e o segundo equipamento.

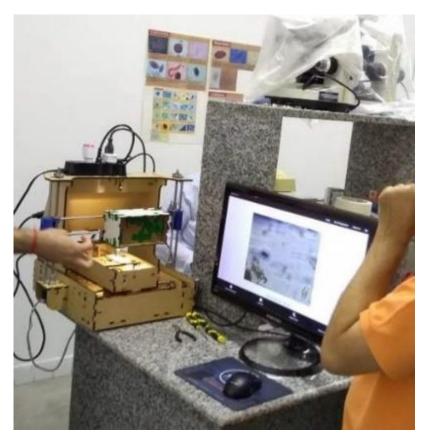


Figura 64 - Equipamento montado e em testes no LABEND. Fonte: Autor.

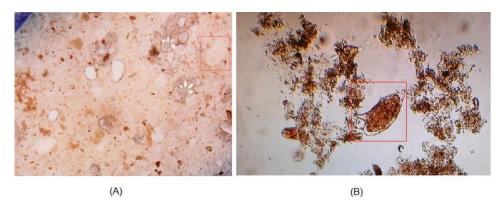


Figura 65 - Imagem do ovo de *S. mansoni*. (A) Com o primeiro equipamento e (B) com o novo equipamento.

Fonte: Autor.

Foi criado um novo conjunto de treinamento com a aquisição de novas imagens como descrito anteriormente. Foram utilizadas 30 novas lâminas e nessas lâminas foi possível montar o seguinte conjunto de treinamento: 106 imagens positivas para Esquistossomose; 103 imagens positivas para tricuríase; 182 imagens positivas para Ascaridíase; 202 imagens positivas para enterobíase e 200 imagens negativas. A pesar das imagens terem sido ajustadas para uma resolução maior, o tamanho médio de cada arquivo não ultrapassou 150 KB. Foram realizados 4 treinamentos distintos do sistema, sempre utilizando um conjunto positivo e o conjunto negativo. Para a execução da validação da detecção, foi utilizado apenas a console do serviço EC2 de detecção desativando o serviço EC2 do portal web. O tempo de treinamento de cada tipo de ovo de geo-helmintos foi menor que 30 segundos. Foram utilizadas 20 lâminas para a realização dos testes. Nessas lâminas foram encontrados apenas ovos de um único geo-helmintos, sendo 5 lâminas de cada parasitose.

O novo equipamento realiza a coleta de 745 imagens por lâmina em aproximadamente 15 minutos. Como o acesso à internet nas dependências do LABEND não estava disponível, foi montada a seguinte metodologia: O equipamento realizava a varredura da lâmina com a aquisição das 745 imagens e o técnico do LABEND selecionava apenas as imagens que continham os ovos dos parasitas e enviava as imagens selecionadas para o sistema Pickcells através de uma conexão 3G. A partir desse procedimento foi possível avaliar a taxa de acerto do sistema. A Tabela 1 a seguir, apresenta a matriz de confusão (SAMMUT & WEBB, 2010).

Tabela 1. Matriz de confusão.

Real/Predito	S. mansoni	A. Iumbricoides	T. trichiura	E. vermicularis	Nenhum
S. mansoni	28	0	0	0	1
A. Iumbricoides	0	41	0	0	3
T. trichiura	0	0	29	0	1
E. vermicularis	0	0	0	14	2
Nenhum	4	4	1	1	0

A partir dos resultados apresentados, é possível encontrar alguns dos valores de sensibilidade (verdadeiros positivos) e especificidade (verdadeiros negativos) do sistema. Como os conjuntos utilizados nos testes estão desbalanceados em relação ao número dos ovos dos parasitas, é apresentado o valor do teste F1 Score (F-measure) (POWERS, 2011) que leva em consideração a sensibilidade e especificidade. O teste é descrito na Equação (4.1). Na Tabela 2 são apresentados os valores das métricas do sistema.

$$F1 = \frac{2*sensibilidade*especificidade}{sensibilidade+especificidade}$$
(4.1)

Tabela 2. Tabela de métricas da solução.

Parasito/teste	Sensibilidade	Especificidade	F1 score	Acuracidade
S. mansoni	0.88	0.97	0.92	0.87
A. lumbricoides	0.91	0.91	0.91	0.88
T. trichiura	0.93	0.82	0.88	0.87
E. vermicularis	0.94	0.94	0.94	0.87

Pode-se verificar que com relação as taxas de sensibilidade o sistema foi mais assertivo na classificação do *E. vermicularis*. Já na taxa de especificidade o sistema foi mais assertivo em classificar corretamente os casos negativos para o *S. mansoni*. A relação entre a sensibilidade e especificidade no teste F1 score foi mais assertivo

para o *E. vermicularis*. A acurácia global do sistema foi em média 87% o que se mostra maior que a média dos técnicos de laboratórios que fica em torno de 70%.

Mesmo com um conjunto de treinamento muito reduzido as taxas de acerto obtidas com a solução se mostraram muito promissoras. Este fato é justificado pela melhora significativa da qualidade da imagem utilizada no conjunto de treinamento. Com a validação do método, as próximas ações estarão concentradas em ampliar o conjunto de treinamento com mais imagens.

6 CONCLUSÃO

Com os resultados colhidos na fase experimental, foi possível atestar a viabilidade da solução proposta neste trabalho elencando as seguintes considerações:

Equipamento de aquisição e armazenamento das imagens das lâminas – Foi atestada a hipótese de desenvolvimento de um equipamento com a capacidade de realizar a leitura automatizada das lâminas dos exames de fezes. Pode-se citar os benefícios primários:

- A aquisição e armazenamento das fotos dos campos das lâminas com a garantia de registro do estado físico da amostra no momento da leitura;
- Possibilidade de encontrar cenários favoráveis a um diagnóstico mais assertivo, como a identificação de ovos de geo-helmintos que se degradam rapidamente.
- 3. A viabilização da exposição das imagens microscópicas a um público, servindo como instrumento para o treinamento e divulgação de novas descobertas.
- 4. O favorecimento da implantação de uma nova metodologia de trabalho aos técnicos laboratoriais onde dentre os benefícios estão a preservação da visão e a ergonomia.
- 5. A criação de uma base de dados das imagens das lâminas, favorecendo o compartilhamento de informações de uma maneira mais centralizada e proporcionando uma fonte de dados para pesquisas futuras.
- A análise das imagens ao invés da manipulação das lâminas proporciona maior preservação do material original garantindo maior durabilidade e segurança operacional.

Entretanto, mesmo com a solução encontrando os ovos de geo-helmintos, há a necessidade de otimização do conjunto óptico e da implementação de um sistema de autofoco. Nos testes, algumas imagens foram perdidas por apresentarem problemas de perda de foco com a movimentação da lâmina. Em decorrência desse novo requisito, foram iniciadas as pesquisas para o desenvolvimento de novo conjunto óptico juntamente com uma rotina de autofoco durante a movimentação da lâmina. A partir dessa nova abordagem, um novo projeto para um novo equipamento foi iniciado. A Figura 66 apresenta a modelagem em 3D do novo equipamento.

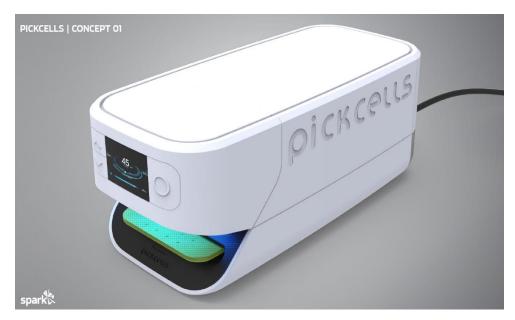


Figura 66 - Designe do novo equipamento. Fonte: Autor.

Sistema de detecção nas nuvens – Com a primeira versão do equipamento foi possível verificar o fluxo de toda a solução. A partir do recebimento das imagens, a solução nas nuvens foi capaz de cumprir todo o ciclo da análise e entregar os resultados com segurança e disponibilidade. Como benefícios da utilização do sistema, destacam-se:

- 1. A identificação automatizada dos ovos dos geo-helmintos treinados com o registro da imagem detectada, proporcionando um ponto de auditoria.
- A disponibilização das análises a partir do momento do recebimento das imagens.
- 3. A realização dos exames em unidades móveis em locais remotos.
- 4. A disponibilização de um painel de acompanhamento exibindo em um mapa as regiões com maior quantidade de casos positivo e atualizado em tempo real.
- Auditoria de todas as etapas do exame desde a captura das imagens até o resultado.
- 6. Divulgação de resultados on-line e em tempo de processamento entre várias unidades móveis à uma base centralizada.

Os primeiros resultados da solução confirmaram a viabilidade para a realização dos exames parasitológicos e já mostraram potencial para uso em outras doenças baseadas na identificação de organismos microscópicos.

Como futuras ações, destacam-se:

- Ampliação da base de treinamento do sistema, incluindo os demais geohelmintos e protozoários.
- 2. Melhorias na interface com o usuário e design do software.
- Investigar o uso de novos algoritmos inteligentes, em comparação ao algoritmo usado nesse trabalho.
- 4. Finalização e validação da segunda versão do equipamento.
- 5. Regulamentação do registro do produto junto a ANVISA.
- Homologação da solução a partir das normas estabelecidas pelo Ministério da Saúde para uso comercial da proposta.
- 7. Iniciar os testes com novos exames como urinálise e hemograma.
- 8. Realização de acordos de cooperação técnica e parcerias com centros de pesquisa e laboratórios para acesso ao material biológico.

REFERÊNCIAS

- ALVES, J. R., MACEDO, H. W., & RAMOS, A. N. (2003). Intestinal parasite infections in a semiarid area of Northeast Brazil: preliminary findings differ from expected prevalence rates. *Cadernos Saúde Pública*, v. 19, n. 2, p 667-670.
- AMAZON, A. (14 de Abril de 2019). Fonte: http://aws.amazon.com
 ANTUNES, A., & LIBARDONI, K. S. (2017). Prevalence of enteroparasitosis in children
 of day-care center in the municipality of Santo Ângelo, RS. *Revista Contexto* &
 saúde, v.17, n, 32, p 144-156.
- BACKES, A., & JUNIOR, S. J. (2016). *Introdução à Visão Computacional usando MATLAB.* Alta Books.
- BARBOSA, C., DUARTE, H., DROUGUET, E., MOURA, M., GOMES, E., BARBOSA, V., & ARAUJP, M. (2013). An Ecological MOdel for Quantitative Risk Assessment for Schistosomiasis: The Case of a Patchy Environment in the Coastal Tropical Area of Northeastern Brazil. *Risk Analysis*.
- BARBOSA, C., GOMES, E., NETO, O., OLIVEIRA, F., CAMPOS, J., & SANTOS, R. (2014). Risk analysis for occurrences of schistosomiasis in the coastal area of Porto de Galinhas, Pernambuco, Brazil. *BMC Infectious Diseases*, 101.
- BETHONY, J., BROOKER, S., & ALBONICO, M. (2006). Soil-transmitted helminth infections: ascariasis, trichuriasis, and hookworm. *Lancet*, v.367,p. 1521-1532.
- BIOBRASIL. (14 de Abril de 2019). Fonte: http://www.bio-brasil.com/produto/tf-test
- BRADSKI, G., & KAEBLER, A. (2008). Learning OpenCV Computer Vision with the OpenCV Library. O'Reilly.
- BRASIL, M. D. (14 de Abril de 2019). Fonte: http://portalsaude.saude.gov.br/index.php/o-ministerio/principal/leia-mais-o-ministerio/1079-secretaria-svs/vigilancia-de-a-a-z/agravo-geo-helmintiases/l1-agravo-geo-helmintiases/15192-geo-helmintiases
- BRASIL, O. D. (14 de Abril de 2019). Fonte: https://nacoesunidas.org/oms-1-bilhao-de-pessoas-tem-acesso-a-tratamento-para-pelo-menos-uma-doenca-tropical-negligenciada/
- CARBONETTO, P. (2002). Robust Object Detection Using Boosted Learning.
- CARVALHO, O., COELHO, P., & LENZI, H. (2008). Schistosoma mansoni e esquistossomose: uma visão multidisciplinar. Rio de Janeiro: SciElo Books.

- CELLAVISION. (14 de Abril de 2019). Fonte: https://www.cellavision.com/en/
- COLEMAN. (14 de Abril de 2019). Fonte: http://www.coleman.com.br/produto_selecionado/microscopio-binocular-coleman---n107.html
- DAMÁZIO, S. M., SOARES, A. R., & SOUZA, M. A. (2016). Parasitological profile of Santa Maria students, a rural area of the city of São Mateus/ES, Brazil. *Revista de APS*, v. 19, n.2, p,261 267.
- DATASUS. (14 de Abril de 2019). Fonte: http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/deftohtm.exe?sinan/pce/cnv/pcebr.def
- FARIA, C. P., ZANINI, G. M., & DIAS, G. S. (2017). Geospatial distribution of intestinal parasitic infections in Rio de Janeiro (Brazil) and its association with social determinants. *PLOS Neglected Tropical Diseases*, v.8, p. 1-21.
- FIRMO, A. C. (2017). *Inteligência Computacional no Diagnóstico da Esquistossomose Mansônica Uma abordagem aplicada.* Recife: Novas Edições Acadêmicas.
- FORSYTH, D., & PONCE, J. (2011). *Computer Vision: A Modern Approach.* London: Editora Pearson.
- GONZALEZ, R. C., & WOODS, R. E. (2009). *Processamento de Imagens Digitais*. São Paulo: Editora Pearson.
- HELTEC. (14 de Abril de 2019). Fonte: http://www.heltec.cn/project/wifi-lora-32/?lang=em
- HOTEZ, P. J. (2008). Helminth infections: the great neglected tropical diseases. . *The Journal of Clinical Investigation*, v. 118, n. 4, p. 1311-1321.
- HOTEZ, P. J. (2010). Pediatric Geohelminth Infections: Trichuriasis, Ascariasis, and Hookworm. *Seminars in Pediatric Infectious Diseases*, v. 11, n. 4, p. 236-244.
- KANO, P. H. (1992). Measures for Control of Schistosomiasis Adapted by the Fundação Nacional de Saúde. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz., pp. 315-318.
- KATZ, N., & CHAIA, G. (1968). Coprological diagnosis of Schistosomiasis I. Evaluation of Quantitative Technique. *Rev. Inst. Med. Trop.*

- KATZ, N., & PEIXOTO, S. V. (2000). Análise crítica da estimativa do número de portadores de esquistossomose mansoni no Brasil. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical.*
- KENNEDY, J., & EBERHART, C. (1995). Particle Swarm Optimization. *IEEE Int. Conf. on Neural Networks*, (pp. 1942 1948). Piscataway.
- LI, H., ZHOU, C., LI, Z., DENG, Z., RUAN, C., & ZHANG, Q. (2015). Risk factors for Enterobius vermicularis infection in children in Gaozhou, Guangdong, China. *Infectious Diseases of Poverty*, 4-28.
- LIENHART, R., & MAYDT, J. (2002). An Extended Set of Haar-like Features for Rapid Object Detection. *Technical report, Intel Labs*.
- MARINESCU, D. C. (2007). *Cloud Computing theory and pratice.* Moscow: Editora Elsevier.
- MELL, P., & GRANCE, T. (2011). The NIST definition of cloud computing. *NIST Special Publication*, 80 145.
- MONK, S. (2014). Raspberry Pi Cookbook. Editora O'Relly.
- MURPHY, D. B., & DAVIDSON, M. W. (2012). Fundamentals of light microscopy and eletronic image. John Wiley & Sons.
- NASCIMENTO, G. L., & OLIVEIRA, M. R. (2013). Severe forms of Schistosomiasis Mansoni: Epidemiologic and Economic Impact in Brazil, 2010. *Transaction of the Roual Society of Tropical Medicine and Hygiene*, v.1,pp. 1-8.
- NETO, L., BATISTA, O., CAVALCANTI, T. Y., MARTINS, F. A., SILVA, A. M., SOUZA, E., . . . BARBOSA, C. (2012). Análise espacial dos casos humanos de esquistossomose em uma comunidade horticultora da Zona da Mata de Pernambuco, Brasil. *Revista Brasileira de Epidemiologia (impresso)*, v. 15, p. 771-780.
- NEVES, D. P., MELO, A. L., LINARDI, M., & VITOR, R. W. (2005). *Parasitologia Humana*. Editora Atheneu.
- Organization, W. H. (14 de Abril de 2019). Fonte: http://www.who.int/mediacentre/facsheets/fs366/em
- PADMANABHAN, T. R. (2016). *Programming with python.* Springer.

- PAPAGEORGIOU, C. P., OREN, M., & POGGIO, T. (1998). A General Framework for Object Detection. *Conference international on Computer Vision*, p. 555.
- PERNAMBUCO, S. E. (14 de Abril de 2019). Fonte: http://portal.saude.pe.gov.br/programa/secretaria-executiva-de-vigilancia-emsaude/programa-sanar-doencas-negligenciadas
- POLULU. (14 de Abril de 2019). Fonte: https://www.pololu.com/file/0J450/a4988_DMOS_microstepping_driver_with_translator.pdf
- POWERS, D. M. (2011). Evaluation: From Precision, Recall and F-factor to ROC, informedness, markedness & Correlation. *Journal of machine Learning technologies*, 37-63.
- PULLAN, R. L. (2014). Global numbers of infection and disease burden of soil transmitted helminth infections in 2010. *Parasites & Vectors*, v. 7, n.37, p 1-19.
- RABELLO, A. (2008). Diagnóstico parasitológico, imunológico e molecular da Esquistossomose. Em O. CARVALHO, P. COELHO, & H. LENZI, Schitosoma mansoni e esquistossomose: uma visão multidisciplinar. Rio de Janeiro: SciELO Books.
- RAY, A. K., & ACHARYA, T. (2005). *Image Processing principles and applications*. John Wiley.
- REY, L. (2010). Bases da Parasitologia Médica. Editora Guanabara Koogan.

 ROCHE. (14 de Abril de 2019). Fonte:
 https://diagnostics.roche.com/global/en/products/systems/cobas_-6500-urine-analyzer-series.html
- RUSSELL, P., & NORVIG, P. (2018). *Inteligência Artificial*. Editora Elsevier. SAMMUT, C., & WEBB, G. I. (2010). *Encyclopedia of Machine Learning*. Springer. SILVA, j. v., FONTES, G., & SANTOS, C. D. (2016). Factors associated with gastrointestinal parasitic infections among young population in Northeast Brazil. *Canadian Journal of Infectious Diseases and Medical Microbiology*, v.2016, p. 1-6.
- SILVA, L. P., & GONÇALVES DA SILVA, R. M. (2010). Ocorrência de enteroparasitos em centros de educação infantil no Município de Patos de Minas, MG, Brasil. *Bioscience Journal*, v. 26, n. 1, p. 147-151.
- SMID, P. (2007). *CNC Programming Handbook.* Industrial Press.

 TAOS. (14 de Abril de 2019). Fonte: https://www.sparkfun.com/datasheets/Sensors/Imaging/TSL235R-LF.pdf

- TEXAS, I. (14 de Abril de 2019). Fonte: http://www.ti.com/lit/ds/symlink/sn754410.pdf
- VIOLA, P., & JONES, M. J. (2004). Robust Real-time face detection. *Int. J. Computer Vision*, pp. 137-154.
- WHO. (2006). Preventive chemotherapy in human helminthiasis: coordinated use of anthelminthic drugs in control interventions: a manual for health professionals and program managers.
- WHO. (2012). Schistosomiasis: population requiring preventive chemotherapy and number of people treated in 2010. *Weekly Epidemiological Record*, v.87,pp. 37-44.
- WOTIOM. (14 de Abril de 2019). Fonte: http://www.wotiom.com/pdf/datasheet/stepper-motor/datasheet-motor-WS17-0035-04-4.pdf

APÊNDICE A – Criação da Startup

Com o início das ações desse projeto, visando o desenvolvimento de um produto comercial e de utilidade pública, foi criada a startup Pickcells. A empresa surgiu em 2014 e é composta por 4 sócios. 3 dos sócios são da área de tecnologia da informação e um formado em administração de empresas. A participação em eventos e inciativas na área de saúde e bem-estar, proporcionaram a entrada em programas de aceleração e incubação no cenário local e nacional. Atualmente a startup está no processo de incubação do Porto Digital e participa dos programas de aceleração da Endeavor Brasil. Recebemos o primeiro investimento de grupo Sabin laboratorial e contamos com o apoio da Sociedade Brasileira de Patologias Clínicas. Estas ações renderam visibilidade nacional e figuramos no rank das 100 startups do 100 open startups e eleita como melhor startup de impacto social pelo Inovativa Brasil, sendo destaque entre as 100 startups que deve ser acompanhadas em 2018 pela Editora Globo. Além dessas conquistas: foi contemplada no PAPPE 2017 de Manufatura avançada; incubado no Parque Tecnológico de Pernambuco através do parceiro Solution Tecnologia; Aprovado no Programa Finep Startups; Aprovado no programa BNDS Garagem; Habilitada como fornecedor de soluções para Unicef Global.

A Pickcells ainda possui uma solução automatizada para a contagem dos ovos de *Aedes aegypti* em armadilhas do tipo ovitrampas. Essa solução está em operação pela Prefeitura da cidade do Recife. Uma outra iniciativa é a utilização de Inteligência computacional na predição de stress a partir de Facial Coding. Essa iniciativa é uma parceria com a Universidade de Zurich e a Unicef – Malawi, juntamente com uma proposta de monitoramento micro ambiental para as condições de saúde pública. A **Erro! Fonte de referência não encontrada.** mostra a timeline da empresa até o final de 2018.

PICKCELLS Timeline da empresa Prêmio nicio Evento Participante do Eleita como startup Participante do Sense-Lab ICE, Eleita como uma Incubada no Participante do das 100 startups de destaque em programa de teoria de PortoDigital na EscaleUp da do Brasil pela 100 impacto social pela aceleração do mudança na aceleradora Jump. Endeavor. prática. Facebook Start. 2017 Opens Startups. Artemisia LAbs. 2018 Eleita melhor Eleita melhor Convênio com Criação do Participação Publicação de Investimentos do Eleita entre as 100 Defesa do startup de Saúde, startup de o Laboratório segundo na 2ª artigo no CBIC grupo Sabin - DF startups para Doutorado HospitalMed Biotecnologia, impacto pela Central de protótipo por Rodrigo e de médicos acompanhar em como startup Paiva, gerando a 2018 pela EloGroup Química e Agro Biotecnologia Inovativa do device. investidores. PE. negócios pela Brasil. na área de participação no -Editora Globo. de André Inovativa Brasil. programa Nvídia saúde. Caetano. Inception. Contemplado no projeto de incubação no 2016 2015 2014 2013 2012 2010 Parqtel -PE. Defesa de Mestrado de Finalistas no prêmio Primeiro protótipo Participação na Contemplado Criação da Primeira reunião Otmização do 1ª HospitalMed no projeto de Startup Pickcells com os futuros do device para projeto e André Caetano com como startup Empreendedorismo apresentação no apresentação do Manufatura do com o primeiro sócios para leitura Parqtel - PE em Social da Prefeitura. time de sócios. automática das 13° Simpósio de trabalho no 12° na área de abertura de uma parceria com a lãminas de Internacional de Simpósio Internacional saúde. empresa. Politécnica microscopia. Esquistossomose. de Esquistossomose e UPE. recebimento do Prêmio Pirajá da Silva como melhor trabalho do evento.

Linha do tempo da criação da startup Pickcells. Fonte: Autor.

ANEXO A - Deposito da primeira patente no INPI





Pedido nacional de Invenção, Modelo de Utilidade, Certificado de Adição de Invenção e entrada na fase nacional do PCT

Número do Processo: BR 10 2018 070993 3

Dados do Depositante (71)

Depositante 1 de 1

Nome ou Razão Social: INDK.ME - DESENVOLVIMENTO WEB E MOBILE LTDA - ME

Tipo de Pessoa: Pessoa Jurídica CPF/CNPJ: 19541959000162

Nacionalidade: Brasileira

Qualificação Jurídica: Microempresa assim definida em lei

Endereço: AV FERNANDO SIMOES BARBOSA 266 ANDAR 4 CXPST 061

BOA VIAGEM

Cidade: Recife

Estado: PE

CEP: 51020050 País: Brasil

Telefone: 81 34655502

Fax:

Email: allysonjacosta@gmail.com

Dados do Pedido

Natureza Patente: 10 - Patente de Invenção (PI)

Título da Invenção ou Modelo de Dispositivo para varredura (leitura) automatizada de lâminas de

Utilidade (54): microscopia com registro fotográfico.

Resumo: A presente invenção refere-se a um dispositivo para o registro fotográfico de lâminas microscópicas de forma automatizada. A movimentação da lâmina é realizada por um conjunto mecânico, controlado por um sistema eletrônico, através de um software acionado por um aplicativo mobile. As imagens são adquiridas por um microscópio digital USB, de forma automática, armazenadas e disponibilizadas pelo software de controle através de um serviço nas

nuvens. Figura a publicar: 8

Dados do Inventor (72)

Inventor 1 de 2

Nome: ANDRÉ CAETANO ALVES FIRMO

CPF: 03615295463

Nacionalidade: Brasileira Qualificação Física: Doutorando

Endereço: Rua Francisco Porfírio, 139 - apt 104

Cidade: Recife Estado: PE

CEP: 50770-500

País: BRASIL

Telefone: (81) 988 075944

Fax:

Email: caetanofirmo@gmail.com

Inventor 2 de 2

Nome: RICARDO ATAÍDE DE LIMA

CPF: 05073336402

Nacionalidade: Brasileira

Qualificação Física: Professor do ensino superior

Endereço: Rua Bido Krause, 43 - apt 302

Cidade: Recife Estado: PE

CEP: 50721-400

País: BRASIL

Telefone: (81) 993 787707

Fax:

Email: ricardo.lima@poli.br

Documentos anexados

Tipo Anexo	Nome	
Reivindicação	reivindicacao.pdf	
Resumo	resumo.pdf	
Relatório Descritivo	relatorio.pdf	
Desenho	Figura1.pdf	
Desenho	Figura2.pdf	
Desenho	Figura3.pdf	
Desenho	Figura4.pdf	
Desenho	Figura5.pdf	
Desenho	Figura6.pdf	
Desenho	Figura7.pdf	
Desenho	Figura8.pdf	
Comprovante de pagamento de GRU 200	Comprovante_2018-10-10_140052.pdf	

Acesso ao Patrimônio Genético

Declaração Negativa de Acesso - Declaro que o objeto do presente pedido de patente de invenção não foi obtido em decorrência de acesso à amostra de componente do Patrimônio Genético Brasileiro, o acesso foi realizado antes de 30 de junho de 2000, ou não se aplica.

Declaração de veracidade

Declaro, sob as penas da lei, que todas as informações acima prestadas são completas e verdadeiras.

Dispositivo para varredura (leitura) automatizada de lâminas de microscopia com registro fotográfico.

- 1. Dispositivo de varredura de lâmina com o registro fotográfico, caracterizado por ter movimentação automatizada da lâmina de microscopia e realizar o registro fotográfico com gerenciamento remoto por software embarcado.
- 2. Processo de registro fotográfico para lâminas de microscopia, caracterizado pela utilização do dispositivo de varredura de lâminas com registro fotográfico, como apresentado no fluxograma (Figura 7).

Dispositivo para varredura (leitura) automatizada de lâminas de microscopia com registro fotográfico.

A presente invenção refere-se a um dispositivo para o registro fotográfico de lâminas microscópicas de forma automatizada. A movimentação da lâmina é realizada por um conjunto mecânico, controlado por um sistema eletrônico, através de um software acionado por um aplicativo mobile. As imagens são adquiridas por um microscópio digital USB, de forma automática, armazenadas e disponibilizadas pelo software de controle através de um serviço nas nuvens.

Dispositivo para varredura (leitura) automatizada de lâminas de microscopia com registro fotográfico.

A presente invenção proporciona a realização da varredura (leitura) de uma lâmina microscópica de forma autônoma. A invenção tem aplicação nas diversas áreas como: Biologia; Medicina; Análises clínicas; Mineralogia; Agropecuária; Veterinária; e áreas correlatas. A invenção é composta de 4 (quatro) módulos como apresentado na Figura 1.

O módulo 1 (mecânico) foi baseado em um sistema CNC — Computer Numeric Control. Foi utilizado o sistema de movimentação cartesiano de dois eixos, onde: A lâmina foi apoiada em um suporte com deslocamento em uma direção, determinada de eixo y; O módulo 3 (óptico) fixado em um suporte, com movimento e posição ortogonal ao eixo da lâmina, aqui determinado eixo x.

Para realizar o movimento dos eixos foram utilizados dois motores de passo com um sistema de transmissão por rosca com fuso e castanha. Os motores possuem tensão de trabalho de 5V e consomem 500mA, foram extraídos de drivers de CD/DVD, utilizados em computadores do tipo PC. Foi projetada uma peça, na ferramenta computacional de CAD Solid Word®, para abarcar os motores e criar os eixos x e y. A peça possui o formato de um "L" com dimensões de: 11,6 cm de largura, 11 cm de comprimento por 16,1 cm de altura. Para a definição dessas medidas foi usado como requisito a menor distância possível entre o módulo 3 (óptico) e a lâmina. A Figura 2 mostra a modelagem em 3 dimensões da peça de suporte. Para a acomodação da lâmina, também foi desenvolvido um suporte na ferramenta CAD que é fixado ao motor no eixo y. A peça é uma mesa de 8,2 cm de largura por 7 cm de comprimento. As medidas da mesa foram definidas para abarcar uma lâmina de microscopia padrão. A Figura 3 mostra a peça já impressa através de uma impressora 3D.

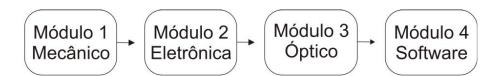
O módulo 2 (eletrônico) é composto por uma placa eletrônica composta de: um microprocessador com 2 núcleos de 1.2Ghz, memória RAM de 1GB, interfaces de input e output por portas digitais, conectividade por rede wifi e bluetooth e armazenamento local em SDcard; uma placa de controle lógico composta por: 2 circuitos integrados de ponte H para controle dos motores de passo e interface de input e output digital. A interligação entre as placas é feita através da interface de input digital e todo o circuito é alimentado por uma fonte de alimentação de 5V com fornecimento de 5A. Para realizar o acondicionamento das duas placas e da fonte de alimentação, uma caixa foi projetada também no Solid Words®. As dimensões externas são de 16,8 cm de largura, 15,5 cm de comprimento de 9,8 cm de altura. A Figura 4 mostra a modelagem da caixa.

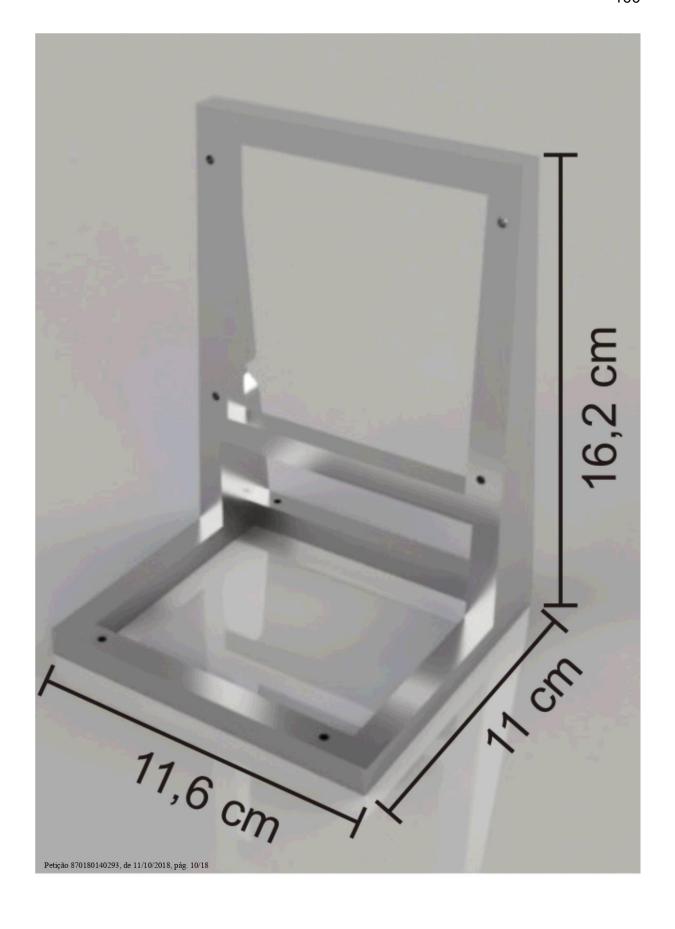
O módulo 3 (óptico) é composto por um microscópio digital USB. Ele possui câmera com um sensor CMOS, um sistema de iluminação, conectividade USB e resolução de 640x480 pixels. Para fixar o microscópio ao motor do eixo x, foi projetado um mecanismo na ferramenta de CAD. Este mecanismo permite realizar um ajuste fino do foco do microscópio de forma manual por meio de um parafuso micrométrico. A Figura 5 mostra a modelagem da peça de fixação do microscópio.

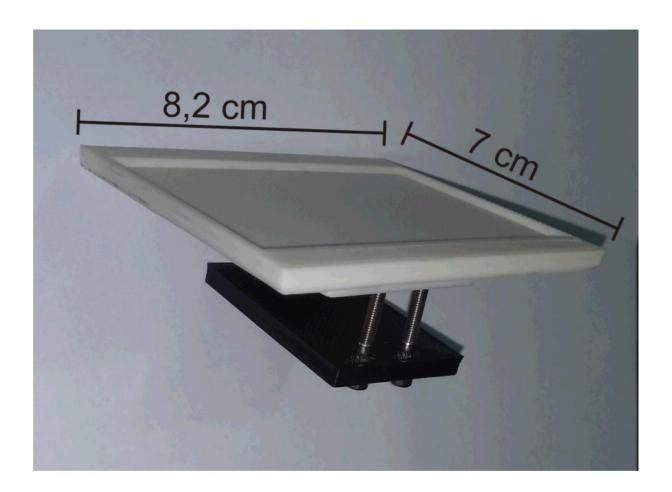
O módulo 4 (software) é composto por um software de comando que opera através do sistema operacional baseado no Linux, instalado no SDCard do Módulo 2. O software foi desenvolvido na linguagem de programação python e suas funcionalidades são apresentadas através do fluxograma na Figura 6.

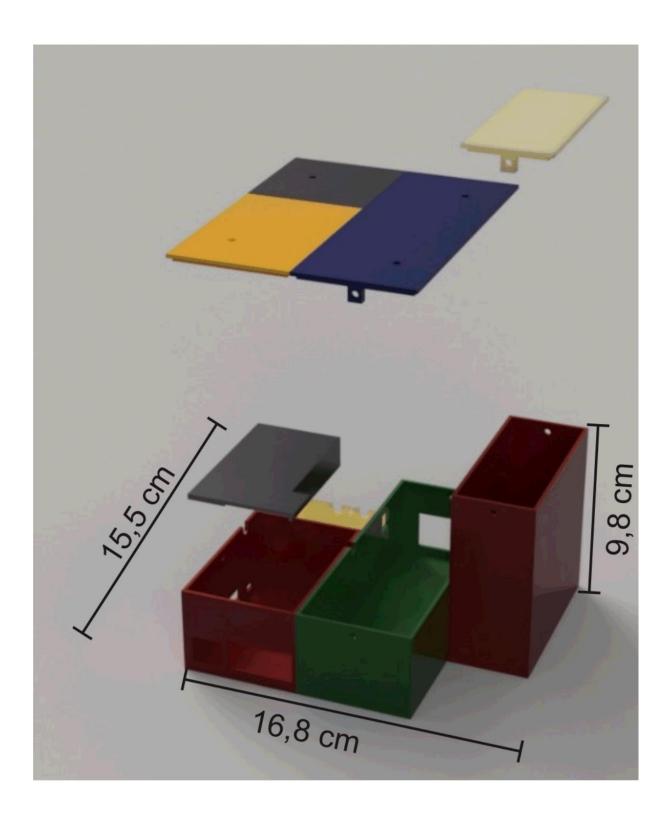
O software é acionado através um dispositivo móvel como: um smartphone ou um computador. O software provê um acesso WIFI através do protocolo HTTP. São fornecidas as informações da lâmina e iniciado o processo de leitura. O software aciona os motores, movimenta a lâmina e tira uma foto. O procedimento é repetido até que toda a área da lâmina seja fotodocumentada. As imagens são armazenadas no SDcard e podem ser enviadas a uma outra máquina utilizando a internet. A Figura 7 apresenta o processo de utilização de invento.

A Figura 8 apresenta todos os módulos montados e o invento pronto para uso.

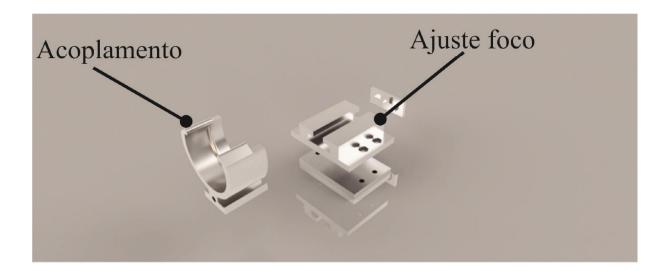


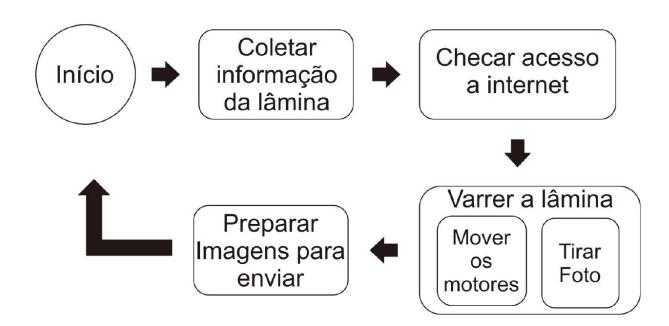


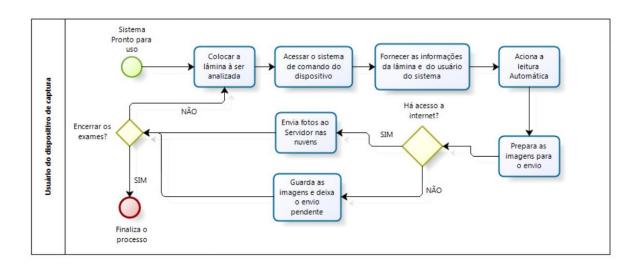




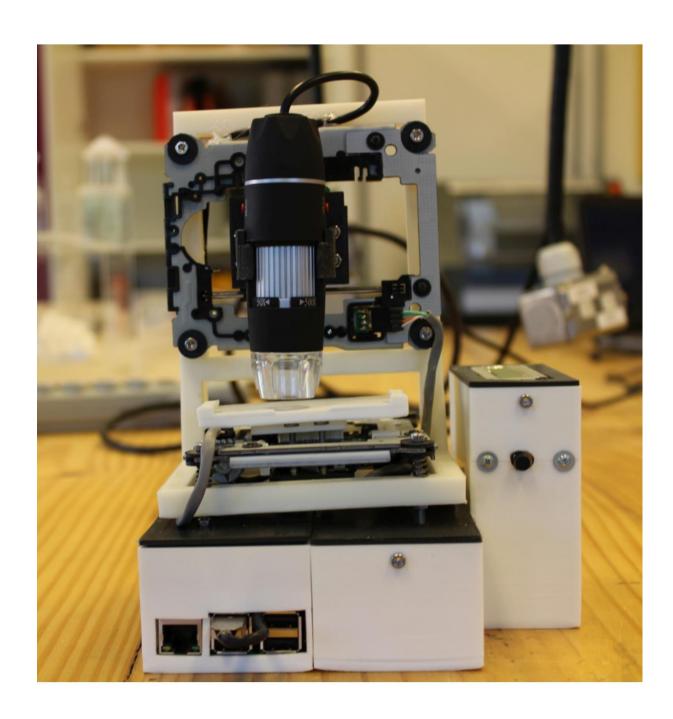
Petição 870180140293, de 11/10/2018, pág. 12/18











Comprovante de Pagamento de Boleto

Operação realizada com sucesso conforme as informações fornecidas pelo cliente.				
Banco Recebedor:	CAIXA ECONÔMICA FEDERAL			
Representação numérica do código de barras:	00190.00009 02940.916188 10643.375172 3 77020000007000			
Instituição Emissora - Nome do Banco:	BANCO DO BRASIL S/A			
Código do Banco:	001			
Beneficiário original / Cedente				
Nome Fantasia:	INSTITUTO NACIONAL DA PROPRIEDADE INDUSTRIAL . INP			
Nome/Razão Social:	INSTITUTO NACIONAL DA PROPRIEDADE INDUSTRIAL . INP			
CPF/CNPJ:	42.521.088/0001-37			
Beneficiário Final				
Nome/Razão Social:	INSTITUTO NACIONAL DA PROPRIEDADE INDUSTRIAL . INP			
CPF/CNPJ:	42.521.088/0001-37			
Pagador Sacado				
Nome/Razão Social:	INDK ME DESENVOLVIMENTO WEB E MOBILE LTDA ME			
CPF/CNPJ:	19.541.959/0001-62			
Pagador Final - Correntista				
Nome/Razão Social:	INDK.ME - DES WEB E MOBILE LTDA			
CPF/CNPJ:	19.541.959/0001-62			
Data da Manainsanta.	00/44/0040			

Data de Efetivação do Pagamento / Agendamento:	10/10/2018
Valor Nominal do Boleto:	70,00
Juros (R\$):	0,00
IOF (R\$):	0,00
Multa (R\$):	0,00
Desconto (R\$):	0,00
Abatimento (R\$):	0,00
Valor Calculado (R\$):	70,00
Valor Pago (R\$):	70,00
Identificação do Pagamento:	PATENTE 02 INPI
Data/hora da operação:	10/10/2018 14:00:47
Código da operação:	83617540
Chave de Segurança:	RSE014X268GZ7E1S

 $^{^{\}ast}$ Você poderá consultar futuramente essa e outras transações no item "Contas da Empresa - Transações".

ANEXO B - Deposito da segunda patente no INPI





Pedido nacional de Invenção, Modelo de Utilidade, Certificado de Adição de Invenção e entrada na fase nacional do PCT

Número do Processo: BR 20 2019 010103 8

Dados do Depositante (71)

Depositante 1 de 1

Nome ou Razão Social: INDK.ME - DESENVOLVIMENTO WEB E MOBILE LTDA - ME

Tipo de Pessoa: Pessoa Jurídica CPF/CNPJ: 19541959000162

Nacionalidade: Brasileira

Qualificação Jurídica: Microempresa assim definida em lei

Endereço: AV FERNANDO SIMOES BARBOSA 266 ANDAR 4 CXPST 061

BOA VIAGEM

Cidade: Recife

Estado: PE

CEP: 51020050 País: Brasil

Telefone: 81 34655502

Email: allysonjacosta@gmail.com

Dados do Pedido

Natureza Patente: 20 - Modelo de Utilidade (MU)

Título da Invenção ou Modelo de Dispositivo para varredura (leitura) automatizada de palhetas de

Utilidade (54): armadilhas ovitrampas com registro fotográfico **Resumo**: A presente invenção refere-se a um dispositivo para o registro

fotográfico automatizado de palhetas de armadilhas ovitrampas para mosquitos. A movimentação da palheta é realizada por um conjunto mecânico, controlado por um sistema eletrônico, através de um software acionado por um aplicativo mobile. As imagens são adquiridas por um microscópio digital USB, de forma automática, armazenadas e disponibilizadas pelo software de controle através de

um serviço nas nuvens.

Figura a publicar: 4

Dados do Inventor (72)

Inventor 1 de 2

Nome: ANDRÉ CAETANO ALVES FIRMO

CPF: 03615295463

Nacionalidade: Brasileira Qualificação Física: Doutorando

Endereço: Rua Francisco Porfírio, 139 - apt 104

Cidade: Recife Estado: PE

> CEP: 50770-500 País: BRASIL

Telefone: (81) 988 075944

Fax:

Email: caetanofirmo@gmail.com

Inventor 2 de 2

Nome: RICARDO ATAÍDE DE LIMA

CPF: 05073336402

Nacionalidade: Brasileira

Qualificação Física: Professor do ensino superior

Endereço: Rua Bido Krause, 43 - apt 302

Cidade: Recife Estado: PE

> CEP: 50721-400 País: BRASIL

Telefone: (81) 993 787707

Fax:

Email: ricardo.lima@poli.br

Documentos anexados

Tipo Anexo Nome

Comprovante de pagamento de GRU 200 Comprovante_2019-05-17_102813.pdf

Reivindicação reivindicacao.pdf

Relatório Descritivo relatorio-descritivo.pdf

Desenho Figura 1.pdf
Desenho Figura 2.pdf
Desenho Figura 3.pdf
Desenho Figura 4.pdf
Resumo resumo.pdf

Acesso ao Patrimônio Genético

Declaração Negativa de Acesso - Declaro que o objeto do presente pedido de patente de invenção não foi obtido em decorrência de acesso à amostra de componente do Patrimônio Genético Brasileiro, o acesso foi realizado antes de 30 de junho de 2000, ou não se aplica.

Declaração de veracidade

Declaro, sob as penas da lei, que todas as informações acima prestadas são completas e verdadeiras.

Comprovante de Pagamento de Boleto

Operação realizada com sucesso conforme as informações fornecidas pelo cliente.		
Banco Recebedor:	CAIXA ECONÔMICA FEDERAL	
Representação numérica do código de barras:	00190.00009 02940.916196 05057.724170 1 79200000007000	
Instituição Emissora - Nome do Banco:	BANCO DO BRASIL S/A	
Código do Banco:	001	
Beneficiário original / Cedente		
Nome Fantasia:	INSTITUTO NACIONAL DA PROPRIEDADE INDUST	
Nome/Razão Social:	INSTITUTO NACIONAL DA PROPRIEDADE INDUSTRIAL . INP	
CPF/CNPJ:	42.521.088/0001-37	
Beneficiário Final		
Nome/Razão Social:	INSTITUTO NACIONAL DA PROPRIEDADE INDUSTRIAL . INP	
CPF/CNPJ:	42.521.088/0001-37	
Pagador Sacado		
Nome/Razão Social:	INDK ME DESENVOLVIMENTO WEB E MOBILE LTDA ME	
CPF/CNPJ:	19.541.959/0001-62	
Pagador Final - Correntista		
Nome/Razão Social:	INDK.ME - DES WEB E MOBILE LTDA	
CPF/CNPJ:	19.541.959/0001-62	

Data do Vencimento:	14/06/2019
Data de Efetivação do Pagamento / Agendamento:	17/05/2019
Valor Nominal do Boleto:	70,00
Juros (R\$):	0,00
IOF (R\$):	0,00
Multa (R\$):	0,00
Desconto (R\$):	0,00
Abatimento (R\$):	0,00
Valor Calculado (R\$):	70,00
Valor Pago (R\$):	70,00
Identificação do Pagamento:	GRU PATENTE 02
Data/hora da operação:	17/05/2019 10:28:07
Código da operação:	037119498
Chave de Segurança:	XVX0A48WWGZHUHP4

^{*} Você poderá consultar futuramente essa e outras transações no item "Transações", opção "Consultas - Comprovantes".

Dispositivo para varredura (leitura) automatizada de palhetas de armadilhas ovitrampas com registro fotográfico.

Dispositivo de varredura (leitura) automatizada de palhetas de armadilhas ovitrampas com o registro fotográfico, caracterizado por ter movimentação automatizada da palheta de armadilha ovitrampa e realizar o registro fotográfico com gerenciamento remoto por software embarcado.

Dispositivo para varredura (leitura) automatizada palhetas de armadilhas ovitrampas com registro fotográfico.

A presente invenção proporciona a realização da varredura (leitura) de uma palheta de armadilha ovitrampa de forma autônoma. A invenção tem aplicação na área biológica e de entomologia.

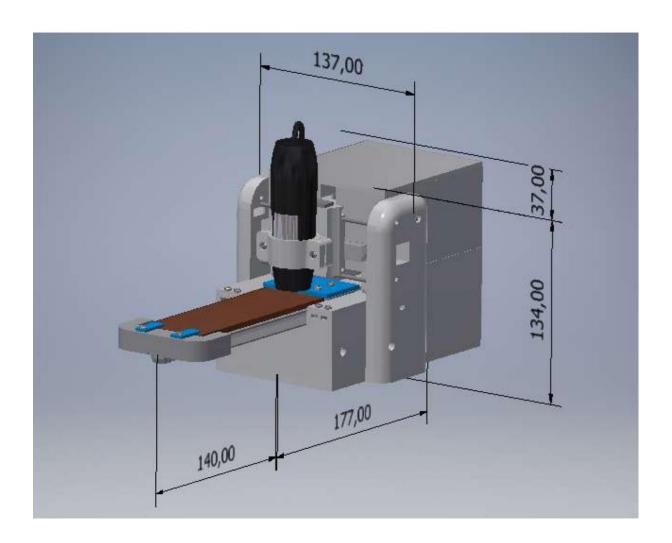
Possui um sistema mecânico do tipo CNC – Computer Numeric Control com movimentação cartesiana de dois eixos, onde: A palheta é apoiada em um suporte com deslocamento em uma direção, determinada de eixo y; um microscópio USB é fixado à um suporte, com movimento e posição ortogonal ao eixo da palheta, aqui determinado eixo x.

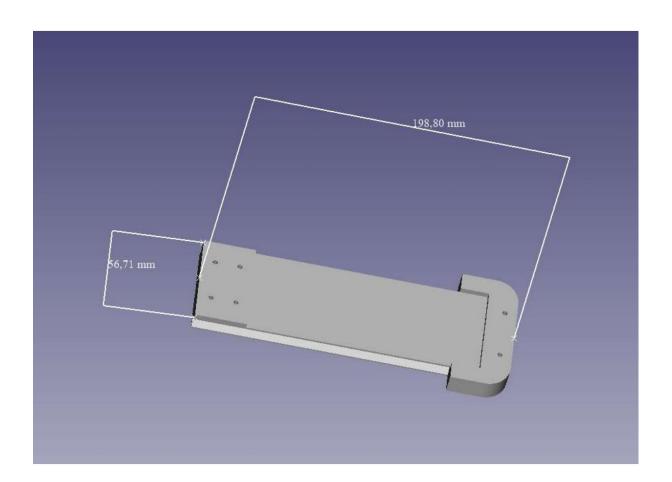
Para realizar o movimento dos eixos são utilizados dois motores de passo com um sistema de transmissão por cremalheira. Os motores possuem tensão de trabalho de 5V e consomem 500mA. Foi projetado um conjunto estrutural, na ferramenta computacional de CAD Solid Word®, para abarcar os motores e criar os eixos x e y. O equipamento possui dimensões de: 137 mm de largura, 177 mm de comprimento por 134 mm de altura. Para a definição dessas medidas foi usado como requisito a menor distância possível entre o microscópio USB e a palheta. A Figura 1 mostra a modelagem em 3 dimensões do equipamento. Para a acomodação da palheta foi desenvolvida uma mesa na ferramenta CAD que é fixada ao motor no eixo y. A mesa mede 56,71 mm de largura por 198,80 mm de comprimento. As medidas da mesa foram definidas para abarcar uma palheta de armadilha de ovitrampa. A Figura 2 mostra a modelagem 3D da mesa da palheta.

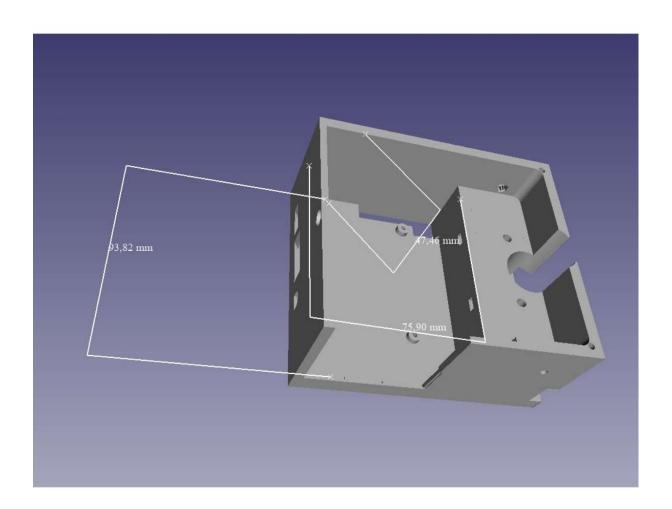
O controle dos motores é composto por uma placa eletrônica composta de: um microprocessador com 2 núcleos de 1.2Ghz, memória RAM de 1GB, interfaces de input e output por portas digitais, conectividade por rede wifi e bluetooth e armazenamento local em SDcard; uma placa de controle lógico composta por: 2 circuitos integrados drivers de controle dos motores de passo e interface de input e output digital. A interligação entre as placas é feita através da interface de input digital e todo o circuito é alimentado por uma fonte de alimentação de 5V com fornecimento de 5A. Para realizar o acondicionamento das duas placas e da fonte de alimentação, no equipamento foi projetado um espaço para abarcar essas placas. As dimensões internas são de 75,90 mm de largura, 93,82 mm de comprimento de 47,46 mm de altura. A Figura 3 mostra a modelagem 3D da caixa.

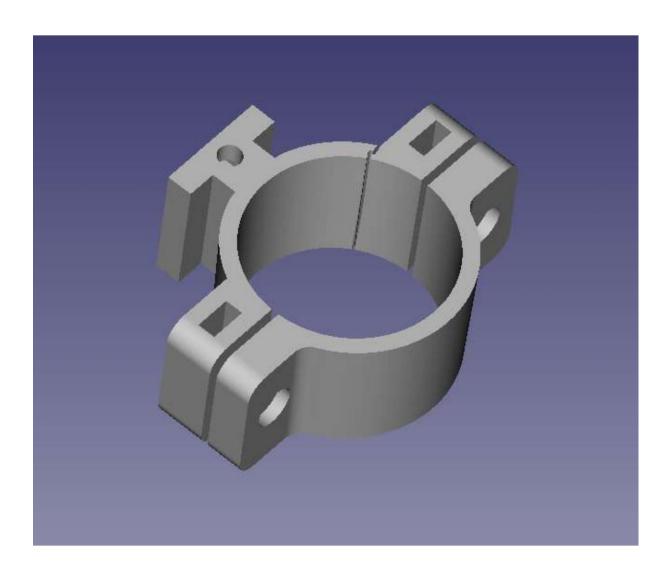
O microscópio digital USB possui câmera com um sensor CMOS, um sistema de iluminação, conectividade USB e resolução de 640x480 pixels. Para fixar o microscópio ao motor do eixo x, foi projetado um mecanismo na ferramenta de CAD. Este mecanismo permite realizar um ajuste fino do foco do microscópio de forma manual por meio de um parafuso micrométrico. A Figura 4 mostra a modelagem 3D da peça de fixação do microscópio.

O software de comando opera através do sistema operacional baseado no Linux, instalado no SDCard da placa eletrônica. O software foi desenvolvido na linguagem de programação python e é acionado através um dispositivo móvel como: um smartphone ou um computador. O software provê um acesso WIFI através do protocolo HTTP. São fornecidas as informações da palheta e iniciado o processo de leitura. O software aciona os motores, movimenta a palheta e tira uma foto. O procedimento é repetido até que toda a área da palheta seja fotodocumentada. As imagens são armazenadas no SDcard e podem ser enviadas a uma outra máquina utilizando a internet.









Dispositivo para varredura (leitura) automatizada de palhetas de armadilhas ovitrampas com registro fotográfico.

A presente invenção refere-se a um dispositivo para o registro fotográfico automatizado de palhetas de armadilhas ovitrampas para mosquitos. A movimentação da palheta é realizada por um conjunto mecânico, controlado por um sistema eletrônico, através de um software acionado por um aplicativo mobile. As imagens são adquiridas por um microscópio digital USB, de forma automática, armazenadas e disponibilizadas pelo software de controle através de um serviço nas nuvens.

ANEXO C - Trabalho apresentado no 53º MedTrop 2017



Pickcells – Solução em diagnóstico parasitológico por visão computacional em imagens de lâminas de microscopia óptica

André C. A. Firmo¹; Ricardo A. de Lima²; Rodrigo F. A. P. Oliveira²; Fabiana L. da Silva³; Victor G. O. Marques⁴; Benício C. A. Filho⁵; Edna R. Chaves⁵; Lucilene P. Silva⁵; Reginaldo N. Santos⁵;

¹Renorbio – Rede Nordeste de Biotecnologia, 50850-080 Recife, PE, Brasil. Email: caetanofirmo@gmail.com.br. Escola Politécnica, Universidade de Pernambuco ,50720-001 Recife,PE, Brasil. ³Instituto Aggeu Magalhães (Fiocruz-PE), 50670-420 Recife, PE, Brasil. ⁴Universidade Federal de Pernambuco,50670-901, Recife, PE, Brasil. ⁵Laboratório Central do Estado de Pernambuco,50050-200, Recife, PE, Brasil.

Fatores como globalização, aumento populacional diferenças socioeconômicas viabilizam a disseminação das doenças tropicais negligenciadas. Nesse sentido, o diagnóstico rápido e preciso é considerado uma ferramenta essencial para a implementação de estratégias de controle dessas endemias. Com o objetivo de auxiliar no diagnóstico laboratorial de infecções parasitárias foi desenvolvida uma solução integrada de hardware e software, denominada sistema Pickcells. Este sistema é composto de um equipamento que automatiza o microscópio óptico, permitindo a aquisição de imagens a partir de lâminas coproscópicas, e um software de análise que identifica as formas evolutivas dos parasitos, eliminadas nas fezes. O sistema o armazenamento das imagens de forma segura, georeferenciamento, cuio acesso é controlado por perfil de usuário, através da internet. O sistema utiliza um conjunto de técnicas de computação inteligente que identifica o objeto de interesse nas imagens adquiridas das lâminas. Para estudo preliminar do equipamento e treinamento do sistema de detecção foram analisadas lâminas de pacientes infectados com Schistosoma mansoni, das quais foram adquiridas 250 imagens de ovos do parasito. Os resultados preliminares mostraram que esse método apresentou acurácia de 85%. As observações iniciais permitem inferir que o sistema Pickcells apresenta diversas vantagens em relação à análise laboratorial atual, tais como: a leitura automática da lâmina pode evitar erros de manipulação e releitura; a análise das imagens pela tela do computador proporciona maior ergonomia e conforto visual, se comparada à visualização pela ocular do microscópio; as imagens podem ser utilizadas facilmente para realização de treinamentos e análise de casos particulares; a geolocalização das imagens pode ser utilizada como ferramenta para o desenvolvimento estudos epidemiológicos; a análise das imagens pode ser realizada por mais de um técnico, via internet.

Palavras-chave: esquistossomose, diagnóstico laboratorial, biotecnologia.

Apoio: Laboratório Central de Pernambuco, FACEPE.