

**FACULDADE NOVA ESPERANÇA DE MOSSORÓ**  
**NÚCLEO DE PESQUISA E EXTENSÃO ACADÊMICA – NUPEA**  
**CURSO DE GRADUAÇÃO EM BIOMEDICINA**

**ELTON FERNANDES DE MORAIS**

**AVALIAÇÃO DE MACHINE LEARNING PARA IDENTIFICAÇÃO E**  
**CONTAGEM DE LINFÓCITOS E NEUTRÓFILOS**

**MOSSORÓ/RN**  
**2020**

ELTON FERNANDES DE MORAIS

**AVALIAÇÃO DE MACHINE LEARNING PARA IDENTIFICAÇÃO E  
CONTAGEM DE LINFÓCITOS E NEUTRÓFILOS**

Trabalho de conclusão Curso I apresentado à Faculdade Nova Esperança de Mossoró (FACENE/RN) como exigência parcial para obtenção do título de Bacharelado em Biomedicina.

**Orientador:** Prof. Dr. André Menezes Vale.

MOSSORÓ/RN  
2020

Faculdade Nova Esperança de Mossoró/RN – FACENE/RN.  
Catalogação da Publicação na Fonte. FACENE/RN – Biblioteca Sant'Ana.

M827a Moraes, Elton Fernandes de.

Avaliação de Machine Learning para identificação e contagem de linfócitos e neutrófilos / Elton Fernandes de Moraes. – Mossoró, 2020.

64 f. : il.

Orientador: Prof. Dr. André Menezes Vale.

Monografia (Graduação em Biomedicina) – Faculdade Nova Esperança de Mossoró.

1. Linfócito. 2. Neutrófilo. 3. Contagem diferencial. 4. Haar Cascade. 5. Esfregaço Sanguíneo. I. Vale, André Menezes. II. Título.

CDU 616.15

ELTON FERNANDES DE MORAIS

**AVALIAÇÃO DE MACHINE LEARNING PARA IDENTIFICAÇÃO E  
CONTAGEM DE LINFÓCITOS E NEUTRÓFILOS**

Trabalho de Conclusão de Curso (TCC) apresentado pela aluna  
ELTON FERANDES DE MORAIS ao Curso de Graduação em  
Biomedicina pela Faculdade Nova Esperança de Mossoró como  
requisito parcial para a obtenção do título de Bacharel em  
BIOMEDICINA, tendo obtido o conceito de \_\_\_\_\_,  
conforme a apreciação da Banca Examinadora, constituída pelos  
professores:

Aprovado em \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_.

**BANCA EXAMINADORA:**



---

Profª. Dr. André Menezes do Vale  
(Orientador – FACENE/RN)



---

Profª. Dr. Wesley Adson Costa Coelho  
(Membro – FACENE/RN)



---

Profª. Me. Francisco Vicente de Andrade Neto  
(Membro – FACENE/RN)

## **AGRADECIMENTOS**

À uma pequena lista atemporal que estimo em meus pensamentos, quem lê sabe.

*Não é preciso ter olhos abertos para ver o sol, nem é preciso ter ouvidos afiados para ouvir o trovão. Para ser vitorioso você precisa ver o que não está visível.*

*Sun Tzu*

## RESUMO

Com o passar dos anos e o avanço da quarta revolução industrial, os processos manuais tendem a ficar obsoletos e ultrapassados. Com isto, surge a necessidade de criar novas tecnologias que possam melhorar os processos laboratoriais. O presente estudo tem como objetivo a avaliação do uso de um sistema de aprendizagem de máquina para a identificação e contagem de linfócitos e neutrófilos em esfregaço sanguíneo, a fim de abrir brechas para ferramentas que possam auxiliar o bioquímico a complementar exames laboratoriais. Trata-se de um estudo experimental, onde foi aplicado uma haar Cascade com aprendizagem supervisionada para diferenciação e contagem de linfócitos e neutrófilos em fotos tiradas em microscópios usando objetiva de 100x, abordando sua estrutura e desempenho. As ferramentas utilizadas foram a biblioteca de visão computacional OpenCV e linguagem de programação python.

**Palavras-chave:** Linfócito. Neutrófilo. Contagem diferencial. Haar Cascade. Esfregaço Sanguíneo.

## ABSTRACT

Over the years and the advancement of the fourth industrial revolution, manual processes tend to become obsolete and outdated. With this, the need arises to create new technologies that can improve laboratory processes. The present study aims to evaluate the use of a Haar Cascade for the identification and counting of lymphocytes and neutrophils in a blood smear, in order to open gaps for tools that can assist the biochemist to complement laboratory tests. This is an experimental study, where a Cascade haar with supervised learning was applied for differentiation and counting of lymphocytes and neutrophils in photos taken under microscopes using 100x objective, addressing its structure and performance. The tools used were the OpenCV computer vision library and the python programming language.

**Keywords:** Lymphocyte. Neutrophil. Differential counting. Haar Cascade. Blood smear.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

|                                                               |    |
|---------------------------------------------------------------|----|
| Imagem 01 – Eritropoese.....                                  | 16 |
| Imagem 02 – Linfopoese .....                                  | 17 |
| Imagem 03 – Mielopoiese .....                                 | 17 |
| Imagem 04 – Esfregaço Sanguíneo .....                         | 18 |
| Imagem 05 – Duas formas de contagem .....                     | 19 |
| Imagem 06 – Neurônio Natural .....                            | 20 |
| Imagem 07 – Modelo não linear de um neurônio artificial ..... | 21 |
| Imagem 08 – Gráfico função Limiar .....                       | 23 |
| Imagem 09 – Gráfico Função Limiar .....                       | 24 |
| Imagem 10 – Gráfico Função Sigmoide.....                      | 24 |
| Imagem 11 – Rede Neura de Camada Única.....                   | 25 |
| Imagem 12 – Rede Neural de Múltipla Camada .....              | 26 |
| Imagem 13 – Rede Neural Recorrente .....                      | 26 |
| Imagem 14 – Haar Features.....                                | 31 |
| Imagem 15 – Aplicação Haar Features .....                     | 31 |
| Imagem 16 – Detecção de característica .....                  | 32 |
| Imagem 17 – Negativas .....                                   | 34 |
| Imagem 18 – Criação imagens positivas .....                   | 34 |
| Imagem 19 – Processo das imagens positivas .....              | 34 |
| Imagem 20 – Criação do Vetor .....                            | 35 |
| Imagem 21 – criação do haar cascade .....                     | 35 |
| Imagem 22 – Código para detecção em imagem .....              | 39 |
| Imagem 23 – Código para detecção em tempo real .....          | 39 |
| Imagem 24 – Detecção de linfócitos 1 .....                    | 40 |
| Imagem 25 – Detecção de linfócitos 2 .....                    | 42 |
| Imagem 26 – Detecção de linfócitos 3 .....                    | 42 |
| Imagem 27 – Detecção de linfócitos 4 .....                    | 43 |
| Imagem 28 – Detecção de linfócitos 5 .....                    | 43 |
| Imagem 29 – Detecção de linfócitos 6 .....                    | 44 |
| Imagem 30 – Detecção de linfócitos 7 .....                    | 44 |
| Imagem 31 – Detecção de linfócitos 8 .....                    | 45 |
| Imagem 32 – Detecção de linfócitos 9 .....                    | 45 |
| Imagem 33 – Detecção de linfócitos 10 .....                   | 46 |

|                                              |    |
|----------------------------------------------|----|
| Imagem 34 – Detecção de linfócitos 11 .....  | 46 |
| Imagem 35 – Detecção de linfócitos 12 .....  | 47 |
| Imagem 36 – Detecção de linfócitos 13 .....  | 47 |
| Imagem 37 – Detecção de linfócitos 14 .....  | 48 |
| Imagem 38 – Detecção de linfócitos 15 .....  | 48 |
| Imagem 39 – Detecção de linfócitos 16 .....  | 49 |
| Imagem 40 – Detecção de linfócitos 17 .....  | 49 |
| Imagem 41 – Detecção de linfócitos 18 .....  | 50 |
| Imagem 42 – Detecção de linfócitos 19 .....  | 50 |
| Imagem 43 – Detecção de linfócitos 20 .....  | 51 |
| Imagem 44 – Detecção de linfócitos 21 .....  | 51 |
| Imagem 45 – Detecção de linfócitos 22 .....  | 52 |
| Imagem 46 – Detecção de linfócitos 23 .....  | 52 |
| Imagem 47 – Detecção de neutrófilos 1 .....  | 53 |
| Imagem 48 – Detecção de neutrófilos 2 .....  | 53 |
| Imagem 49 – Detecção de neutrófilos 3 .....  | 54 |
| Imagem 50 – Detecção de neutrófilos 4 .....  | 54 |
| Imagem 51 – Detecção de neutrófilos 5 .....  | 55 |
| Imagem 52 – Detecção de neutrófilos 6 .....  | 55 |
| Imagem 53 – Detecção de neutrófilos 7 .....  | 56 |
| Imagem 54 – Detecção de neutrófilos 8 .....  | 56 |
| Imagem 55 – Detecção de neutrófilos 9 .....  | 57 |
| Imagem 56 – Detecção de neutrófilos 10 ..... | 57 |
| Imagem 57 – Detecção de neutrófilos 11 ..... | 58 |
| Imagem 58 – Detecção de neutrófilos 12 ..... | 58 |
| Imagem 59 – Detecção de neutrófilos 13 ..... | 58 |
| Imagem 60 – Detecção de neutrófilos 14 ..... | 59 |
| Imagem 61 – Detecção de neutrófilos 15 ..... | 59 |
| Imagem 62 – Detecção de neutrófilos 16 ..... | 60 |
| Imagem 63 – Detecção de neutrófilos 17 ..... | 60 |
| Imagem 64 – Detecção de neutrófilos 18 ..... | 61 |
| Imagem 65 – Detecção de neutrófilos 19 ..... | 61 |
| Imagem 66 – Detecção de neutrófilos 20 ..... | 61 |

## Sumário

|                                                        |           |
|--------------------------------------------------------|-----------|
| <b>1.INTRODUÇÃO.....</b>                               | <b>11</b> |
| 1.1.PROBLEMATIZAÇÃO .....                              | 12        |
| 1.2.JUSTIFICATIVA .....                                | 13        |
| 1.3.HIPÓTESE.....                                      | 13        |
| 1.4 OBJETIVOS .....                                    | <b>14</b> |
| 1.4.1 Objetivo Geral.....                              | 14        |
| 1.4.2 Objetivos Específicos .....                      | 14        |
| <b>2.REVISÃO DE LITERATURA .....</b>                   | <b>15</b> |
| 2.1 TIPOS CELULARES .....                              | 15        |
| 2.2. REDES NEURAIS ARTIFICIAIS .....                   | 19        |
| <b>3.METODOLOGIA.....</b>                              | <b>30</b> |
| 3.1TIPO DA PESQUISA.....                               | 30        |
| 3.2. LOCAL DA PESQUISA .....                           | 30        |
| 3.3.INSTRUMENTO E PROCEDIMENTO DE COLETA DE DADOS..... | 30        |
| 3.4.ASPECTOS ÉTICOS E LEGAIS.....                      | 33        |
| 3.5.RISCOS E BENEFÍCIOS .....                          | 33        |
| 3.6.DESFECHO.....                                      | 33        |
| 3.6.1 Desfecho primário.....                           | 33        |
| 3.6.2 Desfecho secundário .....                        | 33        |
| <b>4.RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>                   | <b>33</b> |
| <b>5.CONCLUSÃO .....</b>                               | <b>39</b> |
| <b>REFERÊNCIAS.....</b>                                | <b>40</b> |

## 1. INTRODUÇÃO

Na rotina laboratorial um dos exames mais comuns é a contagem diferencial de leucócitos, que é realizado por meio de microscópios em uma lâmina de esfregaço sanguíneo. Tem como objetivo diferenciar o total de leucócitos. Seu procedimento é simples, com o auxílio de um microscópio realiza a leitura contando um total de 100 células, correndo a lâmina com objetivas de 40x e 100x diferenciando-as por seu tipo, ao final faz-se a proporção para o total de células no organismo. (BARCELOS; AQUINO, 2018)

O exame microscópico é utilizado para confirmar o resultado da automação ou observar alterações sutis não captadas por ela. Esta revisão microscópica é dependente da habilidade e da capacidade visual do observador, além da qualidade do esfregaço sanguíneo na lâmina. Uma desvantagem desse método é que a pequena quantidade da contagem de células, que normalmente é padronizado em 100, pode muitas vezes tornar subjetiva a contagem e com isso tornar o processo impreciso. Como também o cansaço e a necessidade de uma rápida contagem podem tornar o processo impreciso. (ZAGO et al, 2013)

Com o passar dos anos observa-se que as tecnologias usuais vêm fazendo parte dos processos laboratoriais e clínicos, com equipamentos que permitem a realização de muitos exames em um curto intervalo de tempo. Com isso, a busca por mais tecnologias e métodos tem se acirrado cada vez mais, fato este que possibilitou o surgimento de automação e softwares que realizam não só um maior número de exames, mas também com maior velocidade e melhor precisão possível. Dentre os processos para análise e contagem diferencial de leucócitos, existem as formas manuais e automatizadas para realizar este processo. As formas manuais são mais baratas, com esfregaço, para assim ser contada via microscópio, o processo de contagem é trabalhoso e demorado, requer concentração e atenção, pois pequenos desvios podem comprometer o diagnóstico. Já os processos automatizados são realizados de forma mais rápida, porém com custo mais elevado, possuem diferentes princípios de funcionamento, um deles a inteligência artificial.

As redes neurais artificiais são métodos de processamento de dados que se assemelham à um cérebro. Considerando que, o cérebro humano também é um sistema de processamento de informações, entretanto, altamente complexo com sistemas não lineares e paralelos, este pode reconhecer padrões através dos sentidos do corpo humano. Um desses processamentos é o sistema visual, no qual rotineiramente pode identificar padrões de similaridade, reconhecimento, e interagir com o ambiente no tempo estimado em 100 a 200 ms. Algo que um computador convencional poderia levar dias ou meses para realizar (HAYKIN 2007).

Em uma linguagem mais simples, uma rede neural é uma máquina, na qual foi projetada para funcionar semelhantemente à um cérebro, ou seja, interligando neurônios. As redes neurais são interligadas de forma maciça pelos “neurônios”, que são células de processamento computacionais. Estes processamentos, através de pesos numéricos, também chamados de pesos sinápticos, são utilizados pela rede neural para adquirir conhecimento, como também armazená-los (HAYKIN 2007).

Atualmente o as redes neurais são usadas em diversos setores como engenharia, geologia, biologia, química e até mesmo na medicina. Um exemplo de sua aplicação é a modelagem em um sistema para controle e dosagem da pós-cloração em estações de tratamento de água, onde é proposto a substituição dos sistemas de controle convencionais P&D para Redes Neurais Artificiais (DIAS et al., 2016).

Também é usada na medicina, com aplicações para prever o óbito de idosos em São Paulo (SANTOS et al., 2019) e para identificar padrões que possam auxiliar no diagnóstico de cardiopatia isquêmica (RODRIGUES et al., 2008). A utilização das redes neurais vai muito além de apenas números, como também pode identificar padrões em imagens de acordo com o seu banco de imagens disponível, podendo ser de animais, células ou qualquer tipo de imagem que o pesquisador objetiva identificar (PEREIRA; CENTENO, 2008).

Levando isso em consideração uma aplicação muito vantajosa das Redes Neurais é justamente a sua utilização na identificação de imagens, pois o processo para a realização do exame é demorado, requer tempo e concentração do bioquímico, algo que muitas vezes pode ser difícil de ter, principalmente em hospitais de urgência, além de quem em determinados casos, realizar o exame mais rápido ou em paralelo com outros podem resgatar segundos ou minutos importantes para começar a realizar o tratamento do quadro clínico do paciente.

### 1.1. PROBLEMATIZAÇÃO

Levando em consideração que a contagem diferencial de leucócitos é um processo manual e que requer concentração, muitos são os fatores que podem de alguma forma influenciar no resultado final. De início o bioquímico pode chegar a contar milhares de células, 100 por lâmina, ou seja, requer do bioquímico um esforço visual, que a depender do número de exames pode ser muito exaustivo e causar danos à sua própria saúde.

A quantidade de células na lâmina também pode influenciar em um erro de contagem, sendo este um sistema heterogêneo, em que elas podem se encontrar aglomeradas ou não, e associado a fatores como cansaço, necessidade de rapidez no exame ou problemas visuais, além

de outros erros sistemáticos. Que podem submeter o bioquímico a ter dificuldade de identificar a quantidade de células, como também por vezes esquecer de contar ou contá-la repetidamente. O procedimento de contagem de células é repetitivo e fordista, trazendo ao bioquímico cansaço físico.

Ademais equipamentos automáticos para contagem de células são caros e na maioria das vezes se encontram apenas em hospitais de grande porte, dificultando acesso ao exame nas cidades de pequeno porte.

## 1.2. JUSTIFICATIVA

Diante do exposto, torna-se necessária a utilização de novas tecnologias que possam auxiliar o bioquímico a realizar exames. Possibilitando não só uma melhoria na precisão, mas também maior velocidade na realização de exames, como também aumentar a qualidade de vida no trabalho.

Vale lembrar que um programa de computador é na maioria das vezes muito mais barato que um equipamento automatizado, e sua aplicação pode não só descongestionar os hospitais de urgência como promover a democratização do acesso à saúde à população.

## 1.3. HIPÓTESE

Diante do exposto foram levantadas as seguintes hipóteses:

Hipótese 1 – É possível utilizar uma *Haar Cascade* capaz de identificar e contar linfócitos e segmentados em esfregaço sanguíneo.

Hipótese 0 – Não é possível utilizar uma *Haar Cascade* capaz de identificar e contar linfócitos e segmentados em esfregaço sanguíneo.

## 1.4 OBJETIVOS

### 1.4.1 Objetivo Geral

Utilizar um software com modelo de *Haar Cascade* para analisar sua eficácia na identificação e contagem de linfócitos e segmentados em esfregaço sanguíneo visualizado por microscópio.

### 1.4.2 Objetivos Específicos

- Inserir a utilização das Redes Neurais na área da saúde.
- Melhorar os processos de contagem de células.
- Melhorar a qualidade de vida no trabalho laboratorial.
- Democratizar o acesso à saúde.

## **2. REVISÃO DE LITERATURA**

### **2.1 TIPOS CELULARES**

O tecido sanguíneo possui três diferentes linhagens celulares, são eles: os eritrócitos ou hemácias; leucócitos; e plaquetas ou trombócitos. Destas, apenas os leucócitos são células completas, possuindo citoplasma e núcleo. Já as plaquetas são fragmentos de megacariócitos e os eritrócitos perdem o núcleo antes de irem para circulação. Exames hematológicos, sejam eles realizados por equipamentos automatizados ou esfregaço do sangue periférico permitem ao analista hematológico avaliar quantitativa e qualitativamente essas linhagens. (ZAGO et al, 2013)

A produção de sangue é realizada na medula óssea, nesta, cada linhagem possui uma localização determinada que originará sua produção. A produção das células hematopoiéticas localiza-se nos cordões ou grumos entre os sinusoides medulares. Entretanto os eritroblastos localizam-se em um agrupamento diferente, nas paredes dos vasos, que são chamados de ilhas de eritroblastos, sendo formadas por círculos de eritroblastos envolvendo um macrófago. (BARCELOS; AQUINO, 2018)

As células tronco são pluripotentes e podem se diferenciar tanto em célula tronco linfóide como em célula tronco mieloide. Estas, respondem a substâncias reguladoras da matriz que são secretadas por macrófagos. A partir disto, as células progenitoras mais maduras são reguladas pelas citocinas específicas de sua linhagem, diferenciando-se em células precursoras comissionadas. (BARCELOS; AQUINO, 2018)

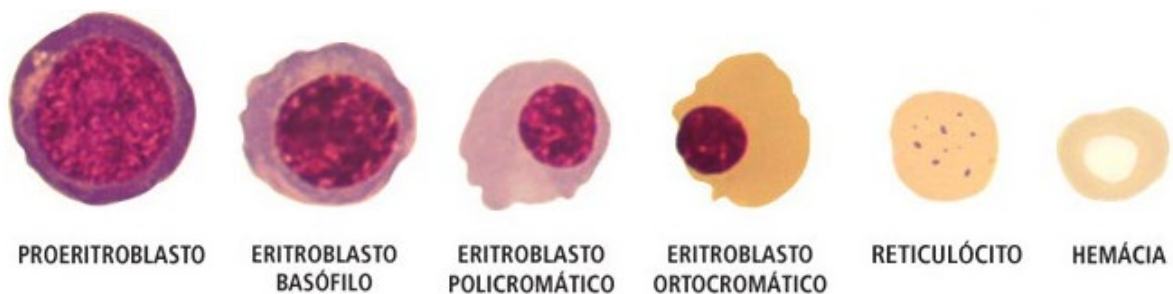
#### **2.1.1 Hemácias**

As hemácias originam-se na medula óssea em um fenômeno denominado eritropoese. Tal produção ocorre de forma a deixar constante a massa de hemácias no organismo. O principal fator de regulação da produção de hemácias é a eritropoetina. A hemácia torna-se anucleada após o eritroblasto perder seu núcleo, dando origem ao reticulócito que também possui grande quantidade de RNA, porém sem núcleo, tal fato ainda preserva a capacidade de síntese proteica pelo reticulócito. (ZAGO et al, 2013)

Após o processo de maturação o reticulócito perde o RNA restante finalizando o processo se tornando uma hemácia madura, que não sintetiza hemoglobina, sua vida média dura 120 dias, possui forma circular e bicôncava, de aproximadamente 8 µm. Sua função primordial

é o transporte de gases, tendo que transportar o oxigênio dos pulmões para os tecidos e do CO<sub>2</sub> dos tecidos para os pulmões. As hemácias constituem a maior população de células do sangue, seu número varia, em homens, de 4,5 a 6,5 milhões por  $\mu\text{L}$  e em mulher de 3,9 a 5,6 milhões por  $\mu\text{L}$ . Em seu processo de maturação a hemácia inicia-se na seguinte ordem, proeritroblasto, eritroblasto basófilo, eritroblasto policromático, eritroblasto ortocromático, reticulócito e hemácia como na Imagem 1 . (ZAGO et al, 2013)

Imagem 1 - Eritropoese



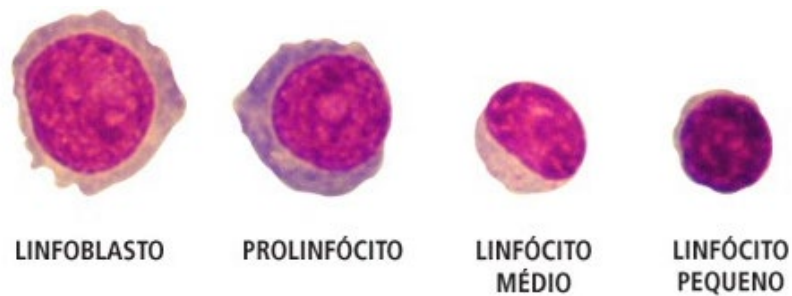
Fonte: Biomedicina Padrão (2010).

### 2.1.2 Linfócitos

Os linfócitos possuem uma grande variedade de células diferenciadas entre si, seja em origem, vida útil, função, estrutura da superfície da membrana e outros. Tais diferenciações não indica, necessariamente sua origem e sua linhagem é identificada por glicoproteínas na membrana dos linfócitos, marcadores.

No todo os linfócitos possuem características semelhantes, são células pequenas de 6 a 15  $\mu\text{m}$ , arredondadas, e sua relação núcleo citoplasma ocupa aproximadamente 90%, citoplasma basofílico, cromatina azul-roxo e sem nucléolo evidente. Algumas formas apresentam até 20  $\mu\text{m}$ , maior proporção de citoplasma com poucas granulações, chamado de linfócito granular. Pode ocorrer também alterações morfológicas devido a ativação do linfócito, o citoplasma tona-se mais abundante, basófilo, com a cromatina mais frouxa. A linhagem dos linfócitos é demonstrada na imagem 2. (ZAGO et al, 2013)

Imagem 2 – Linfopoese



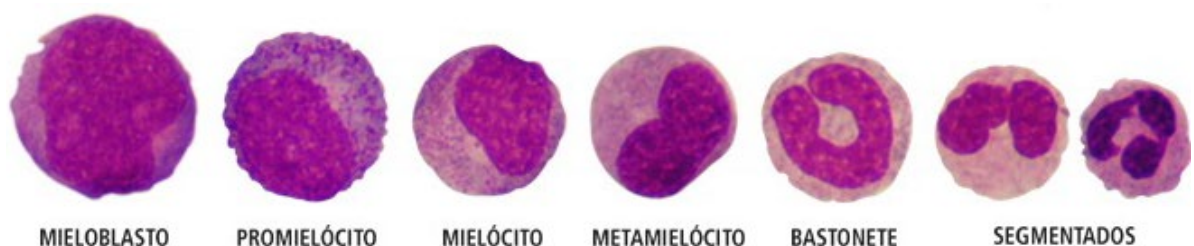
Fonte: Biomedicina Padrão (2010).

### 2.1.3 neutrófilos

Os neutrófilos receberam essa nomeação por causa de sua tonalidade neutra nas colorações de Romanowsky, possuem quatro tipos de grânulos: grânulos azurófilos, específicos, tgelatinase e vesículas secretoras. São originados na medula óssea, seu primeiro precursor é o mieloblasto. O mieloblasto representa aproximadamente 1 a 2% das células da medula, seguida do promielócito 2 a 4%, mielocitos 8 a 16%, metamielócito 10 a 25%, bastonete 10 a 15% e por fim neutrófilo segmentado 6 a 12%. Este possui núcleo multilobulado. (BARCELOS; AQUINO, 2018)

A principal função do neutrófilo é atuar na defesa fagocitando micro-organismos, que após receber a informação da inflamação migra para seu destino. Ele se apresenta variando de 2 a 4 lóbulos no núcleo, interligados por um pequeno filamento de cromatina, com muito citoplasma e levemente róseo. Podendo alterar essa quantidade em casos patológicos. Sua produção leva em média 14 dias, entretanto sua forma mais madura permanece aproximadamente 7,6 horas no organismo. Possuem também dois tipos de neutrófilos, os circulantes e os marginados. Quando presentes no sangue, migram para os diferentes tecidos infectados ou lesionados, em um processo denominado quimiotaxia. (ZAGO et al, 2013)

Imagem 3 – Mielopoiese



Fonte: Biomedicina Padrão (2010).

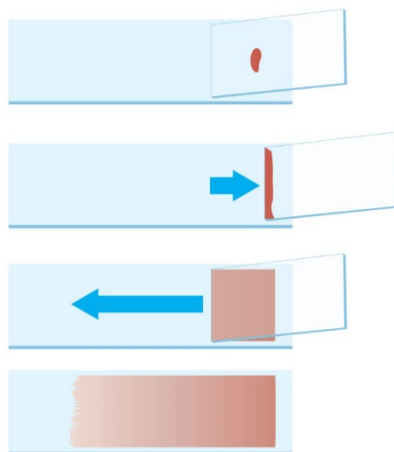
### 2.1.4 Contagem diferencial de leucócitos

A contagem diferencial requer além de conhecimento teórico sobre os tipos celulares, prática laboratorial. Inicialmente é feito o esfregaço sanguíneo, onde é feito o seguinte procedimento:

1. Identificação da lâmina respectiva ao paciente.
2. Depositar 1 gota de sangue sobre a lâmina.
3. Com o auxílio de uma segunda lâmina fazendo angulação de 45° encostar levemente na gota depositada.
4. A gota irá se depositar sobre a borda da segunda lâmina.
5. Esfregar rapidamente a lâmina sobre a outra.

Conforme a imagem 4:

Imagem 4 – Esfregaço Sanguíneo



Fonte: KASVI (2019)

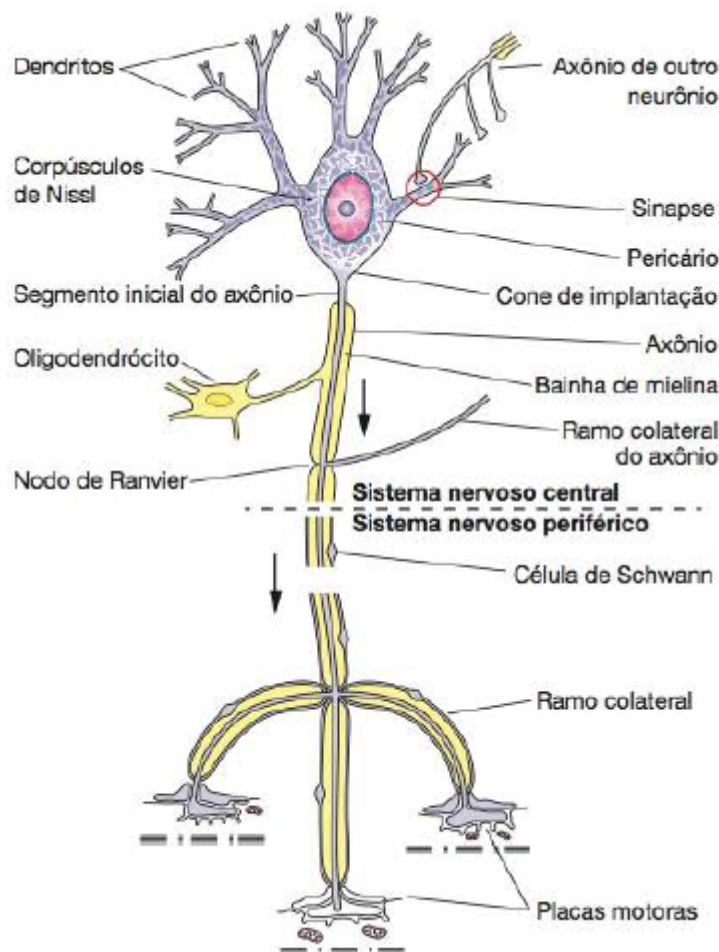
A observação da lâmina via microscópio deve ser realizada na área intermediária do esfregaço, corpo, evitando contagem na cauda e na cabeça da lâmina. São contabilizadas 100 células com a objetiva de 40x ou 100x analisando a leitura da lâmina de correndo-a de duas formas conforme ilustra a imagem 5:



### 2.2.2 Neurônios Naturais

Os neurônios são células responsáveis pela recepção, transmissão e processamento de estímulos nervoso. Apesar da morfologia complexa, os neurônios possuem em sua grande maioria três componentes sendo eles; dendritos: prolongamentos que tem como finalidade receber estímulos do meio, proveniente de células epiteliais ou de outros neurônios, pericário: centro trófico da célula, pode receber estímulos, axônio: prolongamento especializado na condução de impulsos nervosos para outras células (JUNQUEIRA, 2013).

Imagem 06 – Neurônio Natural



Fonte: JUNQUEIRA (2013).

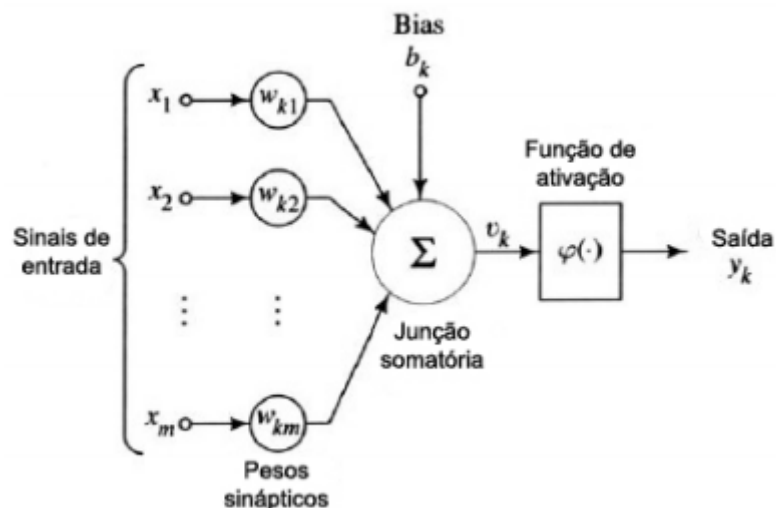
Os neurônios do cérebro humano atuam de cinco a seis ordens de grandeza mais lentos que portas lógicas, operadores eletrônicos, feitas de silício: enquanto o processamento de circuito feitos de silício operam no tempo de  $10^{-9}$ s (nanossegundos), neurônios do cérebro humano operam em  $10^{-3}$ s (milissegundos), entretanto sua taxa de operação é compensada pelo

fato de serem maciçamente ligados entre si, estima-se que um adulto possui 10 bilhões de neurônios realizando aproximadamente 60 trilhões de sinapses (HAYKIN, 2007).

### 2.2.3 Estrutura Do Neurônio Artificial

Um neurônio artificial tal qual o neurônio natural também é composto por 3 estruturas básicas, sendo elas os pesos sinápticos, um somador e uma função de ativação. Os pesos sinápticos, são elos de conexão entre os neurônios, no qual um valor de entrada  $x_j$  possui uma entrada, ou caminho sináptico  $j$  que está conectado ao neurônio  $k$ , é multiplicado por um peso sináptico  $w_{jk}$ , sendo este responsável pelo armazenamento de toda a informação. O somador realiza a soma dos sinais de entrada respectivos aos seus pesos formando um combinador linear. A função de ativação restringe os valores de saída a um intervalo finito. Por fim pode também ser aplicado o bias, que pode aumentar ou diminuir o valor de entrada da função e ativação, tem como finalidade realizar uma transformação afim ao valor de saída do combinador linear, funcionando como um neurônio adicional aplicado a função de ativação um potencial de ativação ( $v_k$ ) (HAYKIN, 2007). A figura 02 representa um modelo não linear de um neurônio.

Imagem 07 – Modelo não linear de um neurônio artificial



Fonte: HAYKIN (2007)

Por fim, em termos matemáticos, a rede neural pode ser definida nas seguintes equações segundo (HAYKIN, 2007):

$$u_k = \sum_{j=1}^m w_{kj} x_j \quad (02)$$

$$y_k = \varphi(u_k + b_k) \quad (03)$$

- $u_k$  É a saída do combinador linear.
- $w_{Kj}$  São os pesos sinápticos.
- $x_j$  São os sinais de entrada.
- $y_k$  Sinal de saída do neurônio.
- $b_k$  É o bias.
- $\varphi$  É a função de ativação.

Temos então, que a estrutura básica da rede neural funciona com a somatória da multiplicação de todos os valores de entrada por seus respectivos pesos, tendo como valor final a saída do combinador linear, podendo ser modificado pelo bias para uma transformação afim e por fim, seu valor é multiplicado por uma função de ativação que direciona o valor de saída para uma determinada faixa de valores numéricos, como por exemplo, agrupar todos os valores de saída em uma faixa de -1 e 1, ou 0 e 1.

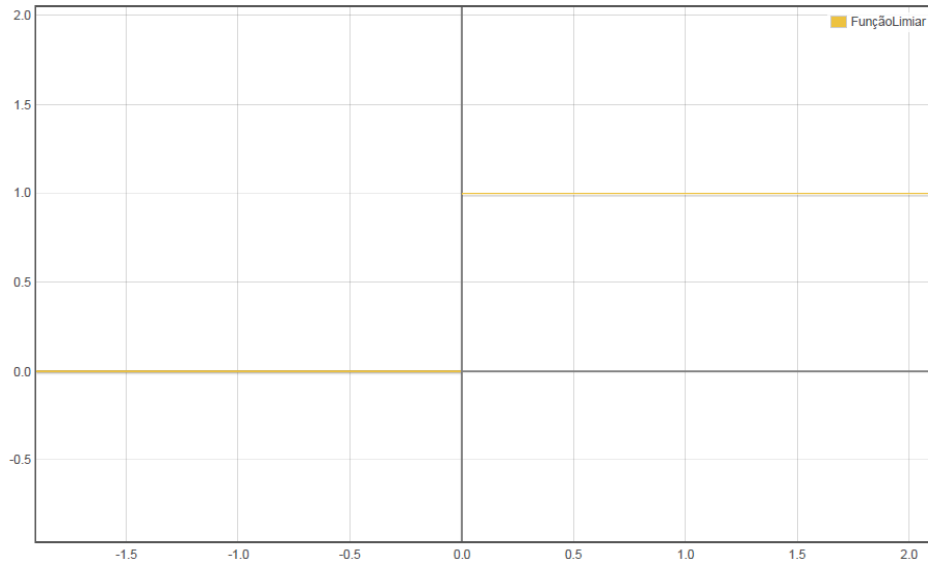
#### 2.2.4 Funções De Ativação

A função de ativação  $\varphi$  é quem define o valor de saída, e com isso, pode representar uma decisão a ser tomada, um valor estatístico buscado, ou referente a identificações. Segundo (HAYKIN, 2007) existem 3 funções básicas que podem ser usadas como funções de ativação. São elas a Função Limiar, função Linear Por Partes e a Função Sigmoidal.

A função limiar, ou função de heaviside, é um modelo onde a saída do neurônio assumirá o valor 0 ou 1, assumirá o valor 1 caso receba um valor não negativo, e o valor 0 caso o receba um valor negativo. Segundo (HAYKIN, 2007) é representada por:

$$f(x) = \varphi(v) = \begin{cases} 1, & \text{se } v_k \geq 0 \\ 0, & \text{se } v_k < 0 \end{cases} \quad (04)$$

Imagem 08 – Gráfico função degrau



Fonte: Elaboração própria (2020)

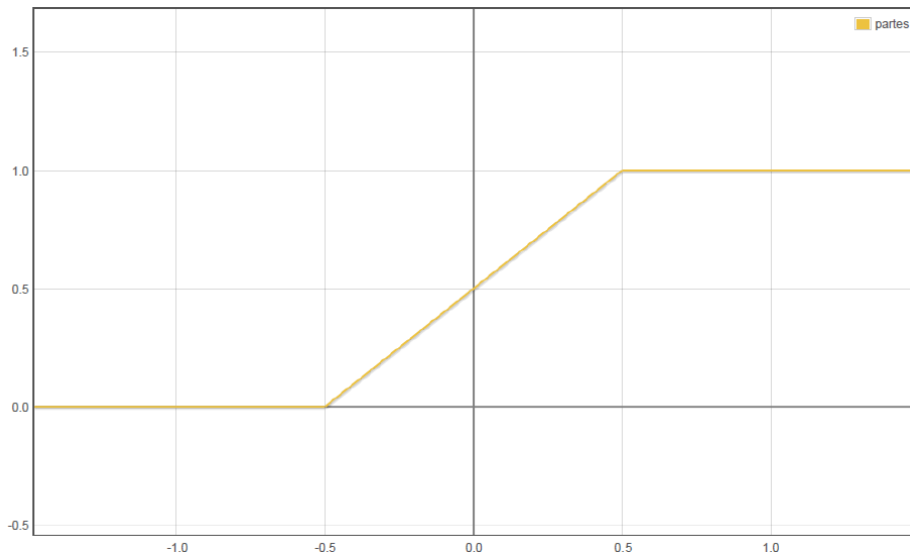
O valor  $v_k$  é o potencial de ativação, definido pela soma do valor do combinador linear com o bias, é representado segundo (HAYKIN, 2007) por:

$$v_k = u_k + b_k \quad (05)$$

Na função linear por partes, temos que esta assume valores também em intervalos definidos, onde em parte dela o valor da função linear é o próprio potencial de ativação, é descrita por (HAYKIN, 2007) como:

$$f(x) = \varphi(v) = \begin{cases} 1, & v \geq +\frac{1}{2} \\ v + \frac{1}{2}, & +\frac{1}{2} > v > -\frac{1}{2} \\ 0, & v \leq -\frac{1}{2} \end{cases} \quad (06)$$

Imagem 09 – Gráfico Função Limiar

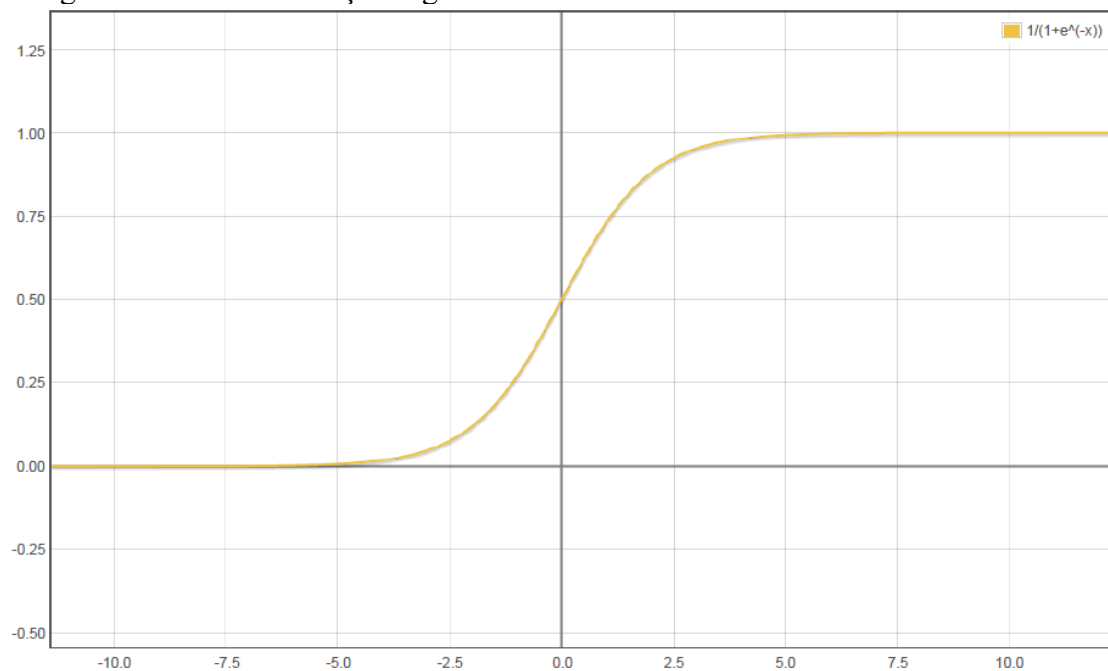


Fonte: Elaboração própria (2020)

A função sigmoide é a função de ativação mais usada e comum, é estritamente crescente e apresenta um bom balanceamento entre comportamento linear e não linear. Com ela é possível analisar o comportamento de valores negativos, é definido por (HAYKIN, 2007) como:

$$f(x) = \varphi(v) = \frac{1}{1 + e^{(-av)}} \quad (07)$$

Imagem 10 – Gráfico Função Sigmoide



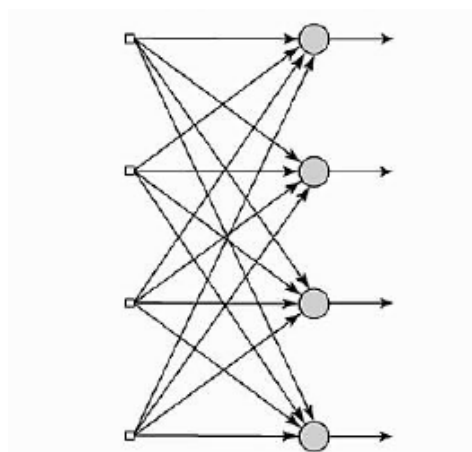
Fonte: Elaboração própria (2020)

### 2.2.5 Arquitetura E Estrutura Das Redes Neurais

A arquitetura das redes neurais pode seguir diversas estruturas, e variam de acordo com a necessidade e seu algoritmo de aprendizagem. A estrutura da rede neural é basicamente o número de camadas, a quantidade de neurônio, a função de ativação e o algoritmo de aprendizagem. As classes mais usadas são as de camada única, múltiplas camadas e as redes recorrentes (PEREIRA, 2014).

Os neurônios da RNA são organizados em camadas, na arquitetura de camada única, a RNA possui uma camada de neurônios com os valores de entrada de uma camada dos neurônios com os valores de saída. Ela também é acíclica, ou seja, os valores de saída não retroalimentam os de entrada. Esta é chamada de camada única pois na camada de entrada não é realizada nenhuma operação matemática (HAYKIN, 2007).

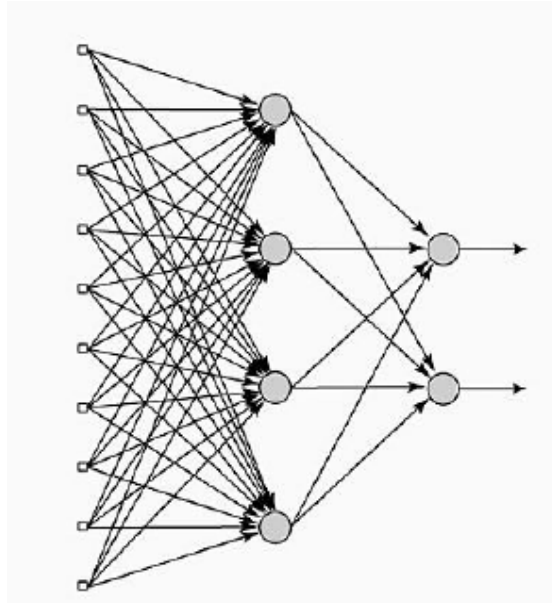
Imagem 11 – Rede Neural de Camada Única



Fonte: HAYKIN (2007).

Na RNA de múltipla camada, além da camada de saída, temos uma ou mais das chamadas camadas ocultas. Onde os nós computacionais ou neurônios, são chamados de neurônios ocultos. Com o aumento das camadas, é possível interferir de forma a extrair estatística de ordem elevada, e são usados quando os dados não são linearmente separados. Sua estrutura pode ser totalmente conectada, quando cada neurônio está conectado a todos os neurônios da camada seguinte. Ou parcialmente conectada, quando faltarem elos de comunicação entre os neurônios (PEREIRA, 2014).

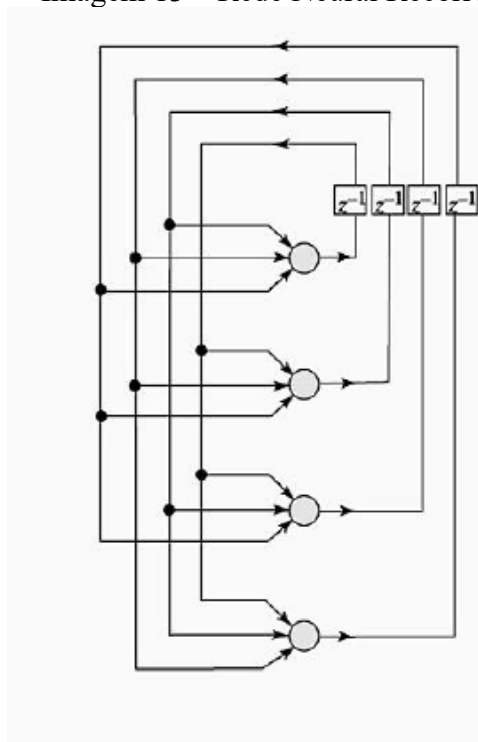
Imagem 12 – Rede Neural de Múltipla Camada



Fonte: HAYKIN (2007).

A rede neural recorrente, se caracteriza por ser realimentada com os valores de saída, ou seja, os valores de saída dos neurônios são utilizados para as entradas dos outros neurônios, sendo esta rede neural de apenas uma camada (PEREIRA, 2014).

Imagem 13 – Rede Neural Recorrente



Fonte: HAYKIN (2007).

### 2.2.6 Aprendizagem Por Correção De Erro

Existem vários métodos de aprendizagem de rede neural, entretanto o que será utilizado na construção deste trabalho é a aprendizagem por Correção de Erro, que como o próprio nome diz, visa corrigir o valor dos pesos de acordo com o erro entre o valor de saída obtido e o valor desejado. A aprendizagem de uma rede neural se baseia em encontrar os melhores pesos a serem utilizados em uma previsão. Tendo  $y_k(n)$  representado o sinal de saída do neurônio, este é comparado com a resposta desejada  $d_k(n)$ , a diferença do valor desejado pelo valor de saída produz um sinal de erro representado por  $e_k(n)$ . Logo segundo (HAYKIN, 2007) temos:

$$e_k(n) = d_k(n) - y_k(n) \quad (08)$$

O sinal de erro será utilizado em um mecanismo de controle que fará ajustes corretivos contínuos nos pesos do neurônio artificial. Esses ajustes visam aproximar cada vez mais o valor de saída  $y_k(n)$  do valor desejado  $d_k(n)$ . Assim sendo, segundo (HAYKIN, 2007), o ajuste dos pesos seguirá duas fórmulas:

$$\Delta w_{jk} = \eta e_k(n) x_j(n) \quad (09)$$

Nesta equação --- temos o  $\Delta w_{jk}$  é o ajuste aplicado ao peso sináptico, onde  $\eta$  é uma constante positiva que representa a taxa de aprendizado, é ela quem irá determinar o quanto o peso sináptico varia, e  $x_j(n)$  é o valor de entrada do neurônio, que pode ser o delta. Com isso temos que o valor atualizado do peso, ou seja, o peso novo, será a soma do valor do peso antigo com a variação do peso, teremos:

$$w_{kj}(n+1) = w_{jk}(n) + \Delta w_{jk}(n) \quad (10)$$

### 2.2.7 Backpropagation E Descida De Gradiente

Uma questão que surge com a atualização dos pesos é para onde esses pesos serão direcionados, qual a tendência que eles devem seguir para realizar o melhor conjunto de pesos e apresentem o menor erro possível. Para isso, existe um método de aprendizado Backpropagation ou Retropropagação, na qual se apresenta um valor aleatório de entrada e

realiza os cálculos vistos anteriormente até seu valor de saída. A partir do seu valor de saída, serão atualizados todos os valores dos pesos passando por todas as camadas até chegar na primeira, fazendo um caminho inverso, propagando o valor do erro para trás. Então aplica-se todos os cálculos com os pesos atualizados até a saída, repetindo também a retropropagação, fazendo esse processo até que o erro seja o menor possível. Uma de suas vantagens é de que caso a função de ativação for uma função derivável, a derivada pode ser usada diretamente (BARROSO, 2002).

A derivada é uma ferramenta importante pois com ela é possível calcular os máximos e mínimos de uma função, Guidorizze (2002) define máximos e mínimos como:

Definição 1. Sejam  $f$  uma função,  $A \subset D_f$  e  $p \in A$ . Dizemos que  $f(p)$  é o valor máximo de  $f$  em  $A$  ou que  $p$  um ponto máximo de  $f$  em  $A$  se  $f(x) \leq f(p)$  para todo  $x$  em  $A$ . Se  $f(x) \geq f(p)$  para todo  $x$  em  $A$ , dizemos então que  $f(p)$  é o valor mínimo de  $f$  em  $A$  ou que  $p$  é um ponto de mínimo de  $f$  em  $A$ .

Definição 2. Sejam  $f$  uma função e  $p \in D_f$ . Dizemos que  $f(p)$  é o valor máximo global de  $f$  ou que  $p$  é um ponto de máximo global de  $f$  se, para todo  $x$  em  $D_f$ ,  $f(x) \leq f(p)$ . Se, para todo  $x$  em  $D_f$ ,  $f(x) \geq f(p)$ , diremos então que  $f(p)$  é o valor mínimo global de  $f$  ou que  $p$  é um ponto de mínimo global de  $f$ .

Definição 3. Sejam  $f$  uma função e  $p \in D_f$ . Dizemos que  $f(p)$  é o valor máximo local de  $f$  se existir  $r > 0$  tal que  $f(x) \leq f(p)$  para todo  $x$  em  $]p - r, p + r[ \cap D_f$ . Por outro lado, dizemos que  $p$  é um ponto de mínimo local de  $f$  se existir  $r > 0$  tal que  $f(x) \geq f(p)$  para todo  $x$  em  $]p - r, p + r[ \cap D_f$ .

Segundo o teorema por (GUIDORIZZE, 2002) “ Teorema1. Seja  $f$  uma função derivável em  $p$ , onde  $p$  é um ponto interior a  $D_f$ . Uma condição necessária para que  $p$  seja um ponto de máximo ou de mínimo local é que  $f'(p) = 0$ ”. Logo, para que um ponto seja máximo ou mínimo, a derivada do ponto aplicada à função, deve ser um ponto crítico ou estacionário, na qual a primeira derivada é nula ou não definida. Assim sendo a derivada aplicada a função de ativação guiará o ajuste de pesos na RN através do cálculo do Delta segundo (BARROSO, 2002) em duas situações.

Delta unidade de saída:

$$\delta_{pj} = (d_{pj} - y_{pj}) * y_{pj}(1 - y_{pj}) \quad (11)$$

Onde  $(d_{pj} - y_{pj})$  é o erro da rede neural e  $y_{pj}(1 - y_{pj})$  é a derivada da função sigmoide.

Delta para camada oculta:

$$\delta_{pi} = y_{pj}(1 - y_{pj}) \sum k \delta_{pj} w_{jk} \quad (12)$$

O delta será utilizado para ajuste dos pesos na formula (10).

### 3. METODOLOGIA

#### 3.1 TIPO DA PESQUISA

A pesquisa apresentada possui caráter de cunho experimental, na qual visa a avaliação de desempenho das redes neurais artificiais na identificação linfócitos e neutrófilos em esfregaço sanguíneo.

#### 3.2 LOCAL DA PESQUISA

A pesquisa experimental será totalmente realizada em ambiente virtual, através do computador do próprio autor. Sendo a obtenção dos dados descritivos e bibliográficos realizados nas plataformas de dados *online*: SciELO – *Scientific Eletronic Library Online* e BDTD – Biblioteca Digital Brasileira de Teses e Dissertações, livros especializados na área de estudo, banco de dados virtuais. Os descritores utilizados como palavras-chave serão: python, redes neurais artificiais, linfócitos, hemácias, neutrófilos, contagem, tendo seus dados coletados de pesquisas na área da saúde, matemática e computação entre os períodos de janeiro de 2002 a abril de 2020.

As imagens utilizadas para treinamento das redes neurais serão obtidas por banco de dados aberto ao público.

#### 3.3 INSTRUMENTO E PROCEDIMENTO DE COLETA DE DADOS

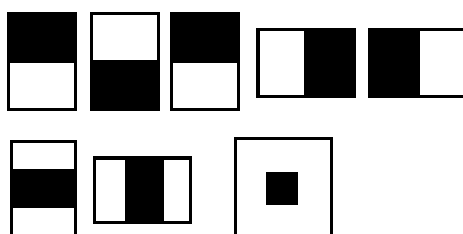
As redes neurais artificiais foram preparadas em ambiente virtual, com linguagem de programação Python, criada em 1991 por Guido Van Rossum, sendo de linguagem simples e possui modelo comunitário de desenvolvimento, sendo aberto e sem fins lucrativos.

Em ambiente Python, serão avaliados os a capacidade de identificação de um *haar Cascade*. Este trabalho não visa a criação de uma rede neural para contagem, nem explicação das linguagens ou funções de programação Python e sim a avaliação de desempenho de uma *haar Cascade* quando submetida a esta tarefa, entretanto, quando necessário, serão abordados.

O modelo de rede neural a ser escolhido inicialmente foi o modelo de redes neurais artificiais convolucionais para identificação de leucócitos no LCR líquido cefalorraquidiano. Entretanto devido à escassez de imagens e a impossibilidade de obtê-las não foi possível realizá-lo. Por isso o método utilizado foi mudado para um algoritmo *Adaboost* na qual possui um tipo de aprendizagem supervisionada para a criação de uma *Haar Cascade*.

O *Haar Cascade* é um algoritmo desenvolvido por Paul Viola e Michael Jones, disponível na biblioteca do OpenCV. Esta utiliza um tipo de aprendizagem de máquina no qual utiliza imagens positivas, que possuem o objeto a ser identificado, e imagens negativas que não possuem o objeto a ser identificado para realizarem o treinamento. O *Haar Cascade* utiliza o algoritmo *Adaboost* com seu próprio modelo matemático que não será abordado neste trabalho. O *Adaboost* funciona também para remover características desnecessárias como também unir classificadores fracos, com uma característica, em classificadores fortes, com várias características.

Imagem 14 – Haar Features

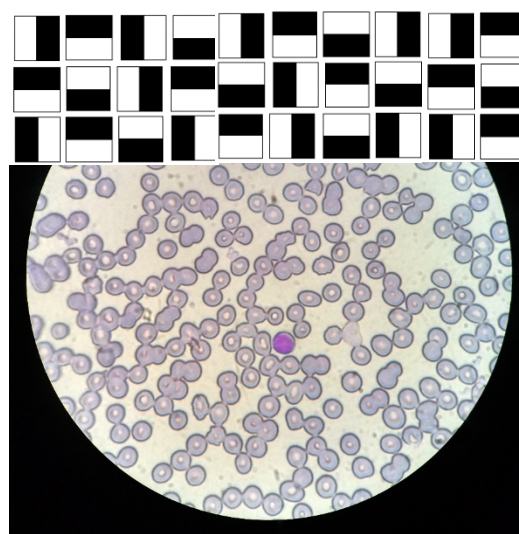


Fonte: Elaboração própria (2020)

Para extrair as características das imagens o *Haar Cascade* utiliza o *Haar Features* que funciona como uma espécie de filtro que percorre um conjunto de imagens.

Os *Haar Features* serão aplicados sobre a imagem com objeto de interesse, seguirão uma sequência da direita para a esquerda, de cima para baixo, com isso serão extraídas as características utilizando a soma dos pixels na área branca do filtro e subtrai deles a soma dos pixels da área preta. Esta aplicação de *Haar Features* corre pixel a pixel.

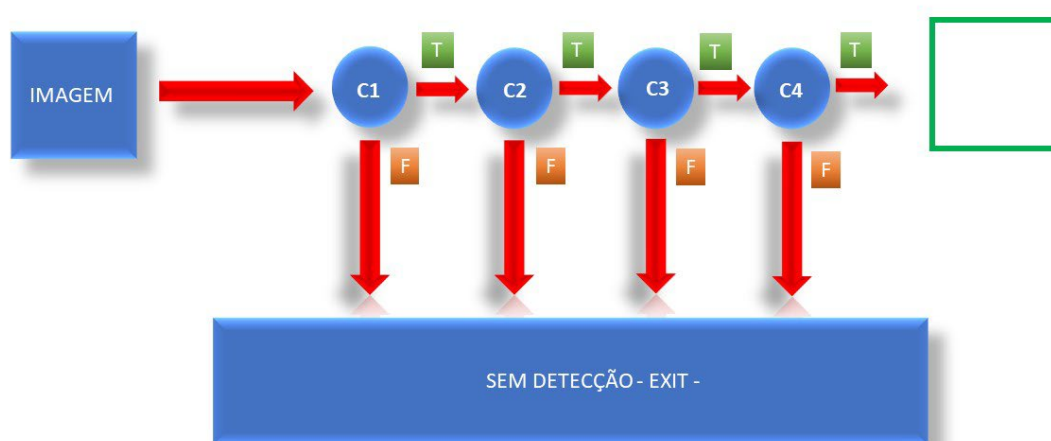
Imagem 15 – Aplicação Haar Features



Fonte: Elaboração própria (2020)

Com a extração de características é construída uma matriz de valores. A etapa de *Cascade* (cascata) ocorre para fazer uma varredura da imagem a fim de identificar um possível objeto alvo. Ao avaliar a característica 1, este percorre a imagem de cima para baixo, caso a característica apontada seja verdadeira, esta passa para a característica 2, que sendo verdadeiro passará para a característica 3, sendo todas as características verdadeiras juntas, então ocorre o “match” e o *bounding box* (quadrado ou círculo colorido) aparece sobre a parte da imagem com as características identificadas. Caso uma de todas as características não seja verdadeira, não ocorre a identificação.

Imagem 16 – Detecção de característica



Fonte: Elaboração própria (2020)

Algumas etapas podem ser seguidas para a criação de um *haarcascade*, inicialmente selecionamos o objeto a ser identificado e as imagens negativas, ou seja, que não possuem o objeto a ser identificado. Nota-se aqui que é importante selecionar imagens negativas do meio comum que o objeto se encontra normalmente, mas sem a presença deste. Então fazemos a geração das imagens positivas, nota-se aqui também o tipo de aprendizagem da rede neural, que é uma aprendizagem supervisionada, ou seja, são indicadas para a RN quais imagens são positivas e negativas.

Deve ser definido também o tamanho e a quantidade das imagens. O tamanho deve ser observado com cuidado, pois uma pequena diferença na quantidade de pixel afetará consideravelmente o tempo de treinamento da RN.

### 3.4 ASPECTOS ÉTICOS E LEGAIS

Os programas e bibliotecas utilizadas para construção deste trabalho são de acesso livre, como também sua linguagem de programação, python, e suas biblioteca de códigos como o Keras, OpenCV ou banco de dados. Como também segue o código de ética do CONSELHO FEDERAL DE BIOMEDICINA. Código de Ética da Profissão de Biomédico. Resolução nº. 198, de 21 de fevereiro de 2011.

### 3.5 RISCOS E BENEFICIOS

O trabalho não oferece nenhum risco à saúde física ou psicológica. Como benefício propicia uma reflexão sobre a importância da introdução de novas tecnologias como redes neurais no ramo da saúde.

### 3.6 DESFECHO

#### 4.6.1 Desfecho primário

A pesquisa propiciará uma comparação com análises sobre o desempenho da *Haar Cascade* na identificação e contagem de linfócitos e segmentados em esfregaço sanguíneo via microscópio.

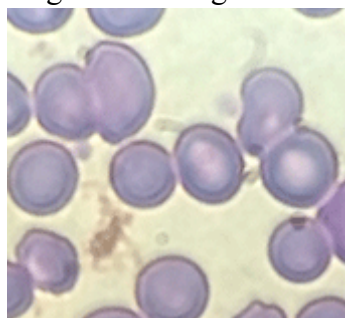
#### 1.6.2 Desfecho secundário

Fomentar o uso de tecnologias na área da saúde, auxiliar o bioquímico em tarefas laboratoriais.

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

As imagens negativas para treinamento possuem o tamanho de 171x171. No total foram usadas 2000 negativas, possuem direito autoral do próprio autor e não configuram nenhum estado patológico. Segue o modelo na imagem 17.

Imagem 17 – Negativas



Fonte: Elaboração própria (2020)

Para a criação das imagens positivas, foram utilizadas as imagens negativas. Como a quantidade de imagens do objeto são limitadas, estas foram editadas de modo a serem coladas nas imagens negativas para gerar as imagens positivas. A intenção em ter usado imagens de hemácias é para ocorrer uma melhor diferenciação do objeto alvo, no caso para diferencia os linfócitos e neutrófilos das hemácias, mas não a diferenciação dos objetos alvos entre si. Para isto foi utilizado o Cmder com o seguinte comando:

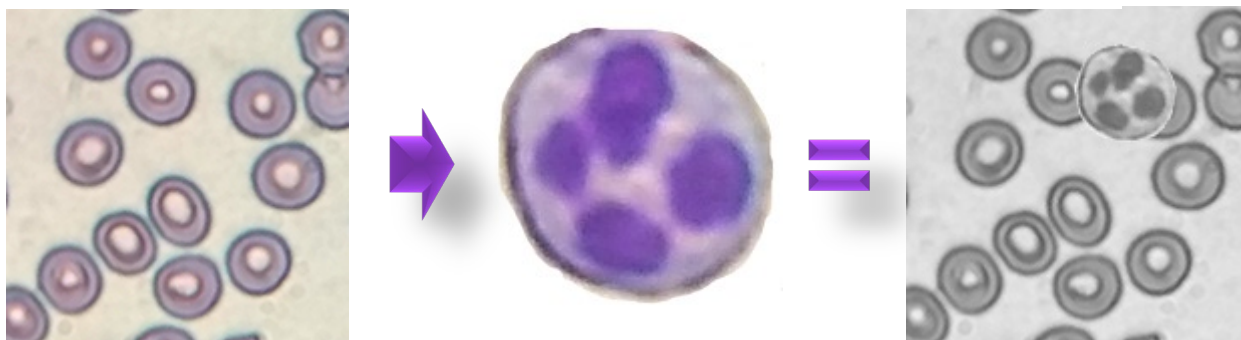
Imagem 18 – Criação imagens positivas

```
C:\Users\elton\Desktop\OpenCV\cmdr
λ opencv_createsamples -img linfocito1.png -bg negativas/bg.txt -
info positivas/positivas.lst -maxxangle 0.5 -maxyangle 0.5 -maxz
angle 0.5 -num 1800 -bgcolor 255
```

Fonte: Elaboração própria (2020)

Este comando irá colar a imagem do objeto nas imagens negativas para gerar as imagens positivas, que se configuraram da seguinte forma: imagem negativa + objeto a ser identificado = imagem positiva. O comando *-num 1800* gerará 1800 imagens positivas como segue a imagem 19:

Imagem 19 – Processo das imagens positivas



Fonte: Elaboração própria (2020)

Após a criação das imagens positivas foi criado o vetor dessas imagens positivas, o vetor é um arquivo que possui a informação sobre a posição da imagem objeto na imagem positiva. Sua criação foi feita com o seguinte comando:

Imagem 20 – Criação do Vetor

```
C:\Users\elton\Desktop\OpenCV\cmdr
λ opencv_createsamples -info positivas/positivas.lst -num 1800 -w 20
-h 20 -vec positivas.vec
```

Fonte: Elaboração própria (2020)

Após a criação do vetor foi criado o classificador também no programa Cmder, o Cmder é um emulador de console simples, semelhante ao cmd do Windows, vale lembrar que seu funcionamento está atrelado à instalação do OpenCV em seu computador. A criação do classificador foi feita para diferenciar os neutrófilos e linfócitos das hemácias e não os linfócitos e neutrófilos entre si. Na criação do classificador, foi executado o seguinte comando:

Imagem 21 – criação do haar cascade

```
C:\Users\elton\Desktop\OpenCV\cmdr
λ opencv_traincascade -data classificador -vec vetor_final.vec -bg bg.txt
-numPos 2000 -numNeg 2600 -numStages 15 -w 20 -h 20 -precalcBufSize 3072
-precalcIdcBufSize 3072
```

Fonte: Elaboração própria (2020)

O executável `opencv_traincascade` está disponível na biblioteca do OpenCV em seu site e é de livre acesso. Neste comando é selecionado o executável `opencv_traincascade`, o vetor das imagens positivas, e a dll `opencv_world400.dll`, logo após com o comando `bg.txt` que lista o nome das imagens negativas, `-numPos 2000` que é o número de imagens positivas. `-numNeg 2600` que é o número de imagens negativas, `-numStages 15`, que delimita o número de estágios de treinamento. O `-w 20` e `-h 20` é o tamanho das imagens do vetor.

No treinamento do *Haar Cascade* alguns parâmetros são avaliados como demonstrado nas tabelas 1 2 3. O primeiro deles é o *N* que corresponde ao número de características selecionadas. O segundo é o *hit hate* que é a taxa de acerto para aquela característica, ou seja, quanto mais perto de 1 melhor, e por ultimo o falso alarme que é o percentual das imagens negativas que foram falsamente classificadas como positivas, quanto menor o valor do falso alarme melhor o classificador. As tabelas com os valores de *N*, *HT* e *FA* estão em APÊNDICE.

Após o treinamento do classificador é gerado um arquivo .xml que mostra as linhas de programação que definem as características do objeto a ser identificado. No classificador para contagem e diferenciação de linfócitos foram geradas 1245 linhas e no classificador de neutrófilos foram geradas 4465.

Para executar o classificador foi utilizado o PyCharm, os códigos para detecção de imagens e em filmagens em tempo real foram:

Imagem 22 – Código para detecção em imagem

```
import cv2 # importar biblioteca da OpenCV

imglinfocito = cv2.imread('linfocitos teste/teste11.jpg') # carregar imagem

classificador = cv2.CascadeClassifier('Negativas/classificador/cascade.xml') #
novaimg = cv2.cvtColor(imglinfocito, cv2.COLOR_BGR2GRAY)

contagem = classificador.detectMultiScale(novaimg, scaleFactor=1.19, minNeighbors=15, # Detecções
                                         minSize=(20, 20))

print(len(contagem)) # conta o número de detecções

for (x, y, l, a) in contagem:
    cv2.rectangle(imglinfocito, (x, y), (x + l, y + a), (0, 255, 0), 2) # bounding box

cv2.imshow("detector de linfocitos", imglinfocito) # Visualizar a imagem
cv2.waitKey(0)
cv2.destroyAllWindows()
```

Fonte: Elaboração própria (2020)

Imagem 23 – Código para detecção em tempo real

```
import cv2 # importar biblioteca da OpenCV

temporeal = cv2.VideoCapture(0) # Dispositivo para capturar a imagem
classificador = cv2.CascadeClassifier('Negativas/classificador/cascade.xml') # Classificador Cascade

while True: # Ler os frames do vídeo
    conectado, frame = temporeal.read()

    novaimg = cv2.cvtColor(frame, cv2.COLOR_BGR2GRAY) # Conversão para imagem cinza

    contagem = classificador.detectMultiScale(novaimg, scaleFactor=1.19, minNeighbors=15) # Detecções
    for (x, y, l, a) in contagem:
        cv2.rectangle(frame, (x, y), (x + l, y + a), (0, 0, 255), 2) # bounding box

    cv2.imshow('Video', frame) # Mostra vídeo

    if cv2.waitKey(1) == ord('f'):
        break # Fechar apertando f no teclado

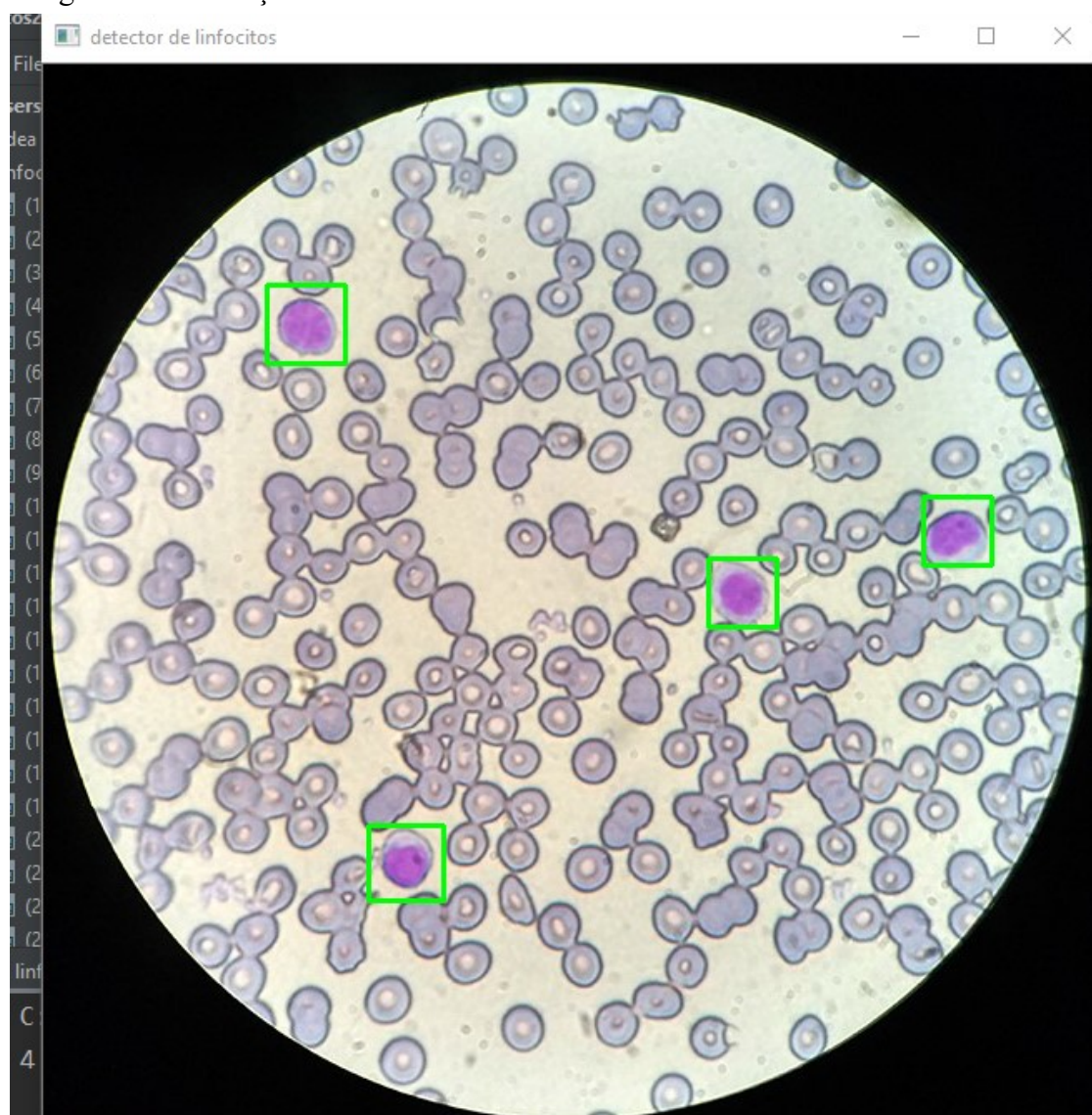
temporeal.release()
cv2.destroyAllWindows()
```

Fonte: Elaboração própria (2020)

Foram criados dois classificadores, uma para linfócitos e outro para neutrófilos. Foram testadas 23 imagens de linfócitos e 20 de neutrófilos. As imagens para teste foram obtidas a partir de um banco de dados do laboratório veterinário da UFERSA e assim referenciadas. Para o classificador de linfócitos foram alterados os parâmetros *scaleFactor*, *minNeighbors* e *minSize*. O *scaleFactor* foi de 1.25, o *minNeighbors* foi de 13 e *minSize* de 30 x 30. Esses valores se dão pelo fato de o classificador ter sido feito para análises em objetiva de 100x. Seguem as imagens que mostram o desempenho de ambos os classificadores.

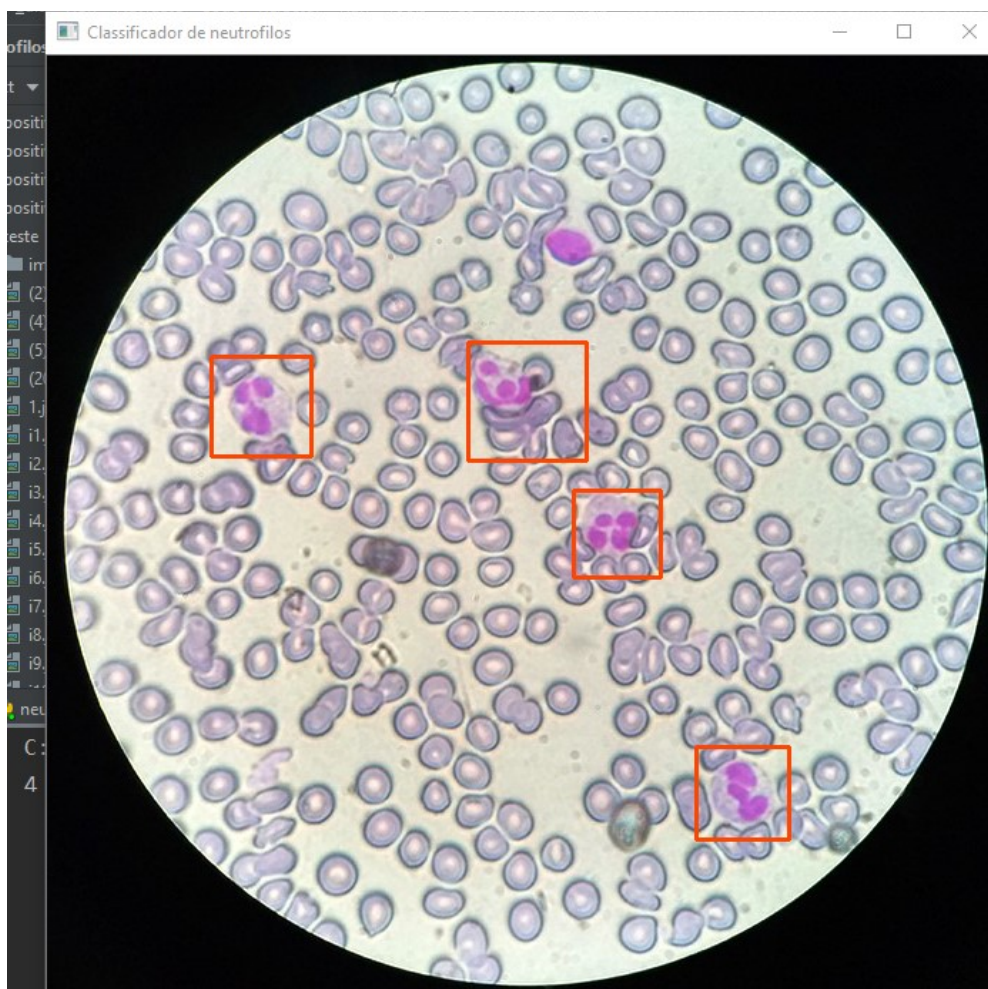
#### 4.1 DETECÇÃO LINFÓCITOS E NEUTRÓFILOS

Imagem 24 – Detecção de linfócitos 1



Fonte: Elaboração própria (2020)

Imagem 47 – Detecção de neutrófilos 1



Fonte: Elaboração própria (2020)

Os resultados se mostraram bastante satisfatórios, todas as imagens que foram submetidas para o teste foram detectadas com precisão. Na imagem 24 observamos a primeira identificação, num total de 4 linfócitos, a contagem pode ser vista no canto inferior esquerdo, num total de 4 identificações. Na imagem 26 vemos que houve apenas uma detecção, de um linfócito. Como foi mencionado antes, a avaliação do classificador se dá apenas na diferenciação do objeto alvo com as hemácias, pois estas eram o plano de fundo das imagens negativas e não a diferenciação destes entre si. Entretanto, vemos que na imagem, mesmo na presença de um neutrófilo, o classificador obteve sucesso e detectou apenas aquilo para qual foi criado. O mesmo se repete na imagem 28, onde apenas o linfócito foi detectado entre dois linfócitos. Isto mostra o sucesso do classificador, este não obteve falsos positivos ou negativos. Múltiplas detecções de linfócitos também ocorreram na imagem 32, onde na mesma imagem foram contados dois linfócitos.

O classificador para neutrófilos obteve um desempenho semelhante ao dos linfócitos. Na primeira detecção, na imagem 37, foram feitas 4 detecções, a contagem dos 4 neutrófilos se encontra na margem inferior esquerda da imagem. Em uma das detecções o bounding box não ficou bem centralizado, encontrando-se o neutrófilo mais a margem do quadrante laranja, isso pode ser explicado pela má disposição deste neutrófilo com as hemácias. Entretanto mostra sua eficácia não confundindo com um artefato escuro na imagem, como também com uma mancha de gumprecht. Na imagem 49 temos a detecção de dois neutrófilos, nota-se que as hemácias em alguns pontos estão aglomeradas e outra mancha de gumprecht, mas as duas detecções foram realizadas com sucesso. Na imagem 55 também foram feitas múltiplas detecções, contando o total de 2 neutrófilos. Na imagem 57 foram feitas 3 detecções, entretanto vemos que uma delas o bounding box está maior que o normal, como não foi colocado limitador de tamanho para o bounding box em ambos os classificadores, este detectou o neutrófilo, mas com uma área bem maior que a dos outros dois neutrófilos. Isto pode ser explicado pela má disposição das hemácias, como também a aglomeração destas, aglomeração esta que lembra levemente o efeito rouleaux. Na imagem 58 e 62 também houveram duas detecções cada.

## 5 CONCLUSÃO

A avaliação em tempo real não foi realizada, entretanto ao observar o desempenho com fotos podemos deduzir que está também será eficaz. A avaliação em tempo real não era objetivo deste trabalho. Por fim, podemos afirmar que o *Haar Cascade* cumpriu com precisão os objetivos deste trabalho obtendo 100% de precisão tanto na identificação como na contagem.

## REFERÊNCIAS

BARRETO, J. M. **Introdução às Redes Neurais Artificiais**. Florianópolis – SC: Laboratório de Conexionismo e Ciências Cognitivas UFSC. 2002.

DIAS, Cleber Gustavo; LIBRANTZ, André Felipe Henriques; SANTOS, Fábio Cosme Rodrigues dos. Modelagem e simulação de um sistema inteligente para controle de dosagem da pós-cloração em estações de tratamento de água. **Eng. Sanit. Ambient.**, Rio de Janeiro , v. 25, n. 2, p. 323-332, Mar. 2020. Available from <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1413-41522020000200323&lng=en&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1413-41522020000200323&lng=en&nrm=iso)>. access on 22 May 2020. Epub Mar 16, 2020.

SANTOS, Hellen Geremias dos et al . Machine learning para análises preditivas em saúde: exemplo de aplicação para prever óbito em idosos de São Paulo, Brasil. **Cad. Saúde Pública**, Rio de Janeiro , v. 35, n. 7, e00050818, 2019 . Available from <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0102-311X2019000904002&lng=en&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-311X2019000904002&lng=en&nrm=iso)>. access on 22 May 2020. Epub July 29, 2019

RODRIGUES, T. B.; MACRINI, J. L. R.; MONTEIRO, E. C.. Seleção de variáveis e classificação de padrões por redes neurais como auxílio ao diagnóstico de cardiopatia isquêmica. **Pesqui. Oper.**, Rio de Janeiro , v. 28, n. 2, p. 285-302, Aug. 2008 . Available from <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0101-74382008000200007&lng=en&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0101-74382008000200007&lng=en&nrm=iso)>. access on 22 May 2020.

PEREIRA, G. H. A.; CENTENO, J. A. S.. AVALIAÇÃO DO TAMANHO DE AMOSTRAS DE TREINAMENTO PARA REDES NEURAS ARTIFICIAIS NA CLASSIFICAÇÃO SUPERVISIONADA DE IMAGENS UTILIZANDO DADOS ESPECTRAIS E LASER SCANNER. **Bol. Ciênc. Geod.**, Curitiba , v. 23, n. 2, p. 268-283, June 2017 . Available from <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1982-21702017000200268&lng=en&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1982-21702017000200268&lng=en&nrm=iso)>. access on 22 May 2020.

DIMAS, L. F.; PUCCIONI-SOHLER, M. Exame do líquido cefalorraquidiano: influência da temperatura, tempo e preparo da amostra na estabilidade analítica. **J. Bras. Patol. Med. Lab.**, Rio de Janeiro , v. 44, n. 2, p. 97-106, Apr. 2008 . Available from <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1676-24442008000200006&lng=en&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1676-24442008000200006&lng=en&nrm=iso)>. access on 22 May 2020.

GUIDORIZZI, H. L. **Um curso de Cálculo Volume 1**. 5. Ed. Rio de Janeiro – RJ. LTC: 2002

HAYKIN, S. **Redes Neurais Princípios e Práticas**. 2. Ed. Porto Alegre, Bookman: 2007.

JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. **Histologia Básica Texto e Atlas**. 12. Ed. Guanabara: 2013.

PEREIRA F. M. **Redes Neurais Artificiais Para Predição No Mercado Acionário**: 2014. 44f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharel em Sistema de Informação) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2014.

BARCELOS, L. F.; AQUINO J. L. **Tratado de Análises Clínicas**. 1. Ed. Rio de Janeiro: Atheneu, 2018. 583 p.

ZAGO, M. A.; FALCÃO, R. P.; PASQUINI, R. **Tratado de Hematologia**. 1. Ed. São Paulo: Atheneu, 2013. 03 p.

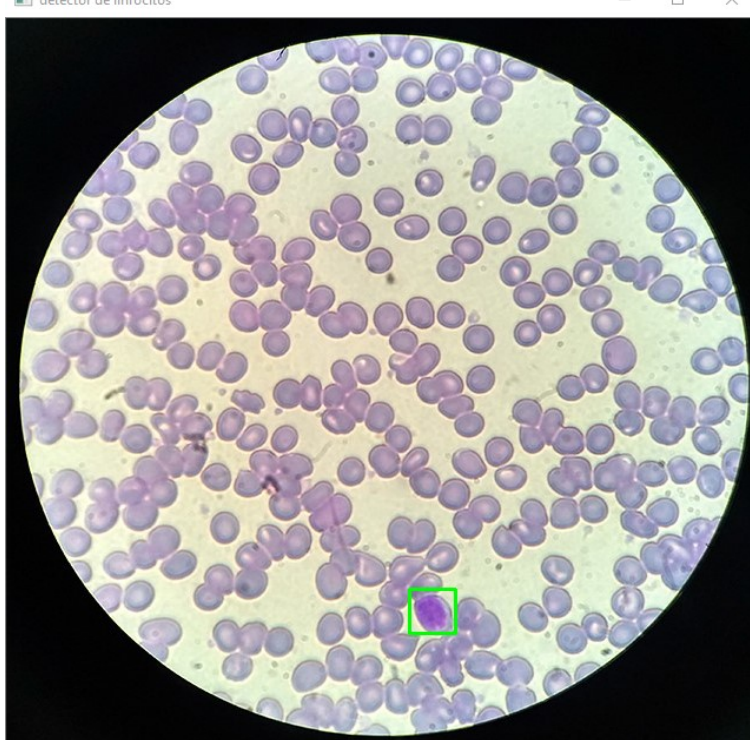
KASVI. **Hematologia: como é realizada a técnica de esfregaço de sangue?**. Disponível em: <https://kasvi.com.br/esfregaco-de-sangue-hematologia/>. Acesso em: 1 de dez. 2020.

BIOMEDICINA PADRÃO. **Hematopoese em imagens**. Disponível em: <https://www.biomedicinapadrao.com.br/2010/11/hematopoese-em-imagens.html?m=0/>. Acesso em: 1 de dez. 2020.

UFRGS. **CONTAGEM DIFERENCIAL DE LEUCÓCITOS**. Disponível em: <https://www.ufrgs.br/lacvet/diferencial.htm#:~:text=CONTAGEM%20DIFERENCIAL%20DE%20LEUC%C3%93CITOS&text=A%20contagem%20diferencial%20informa%20as,levado%20ao%20microsc%C3%B3pio%20para%20observa%C3%A7%C3%A3o..> Acesso em: 1 de dez. 2020.

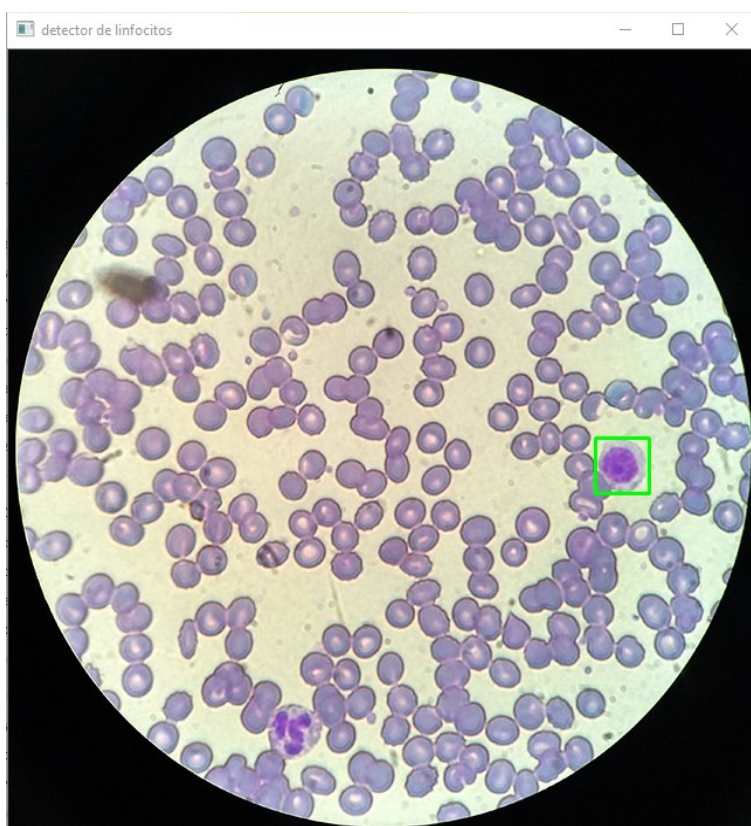
## APÊNDICE A – Linfócitos e Neutrófilos identificados

Imagem 25 – Detecção de linfócitos 2



Fonte: Elaboração própria (2020)

Imagem 26 – Detecção de linfócitos 3



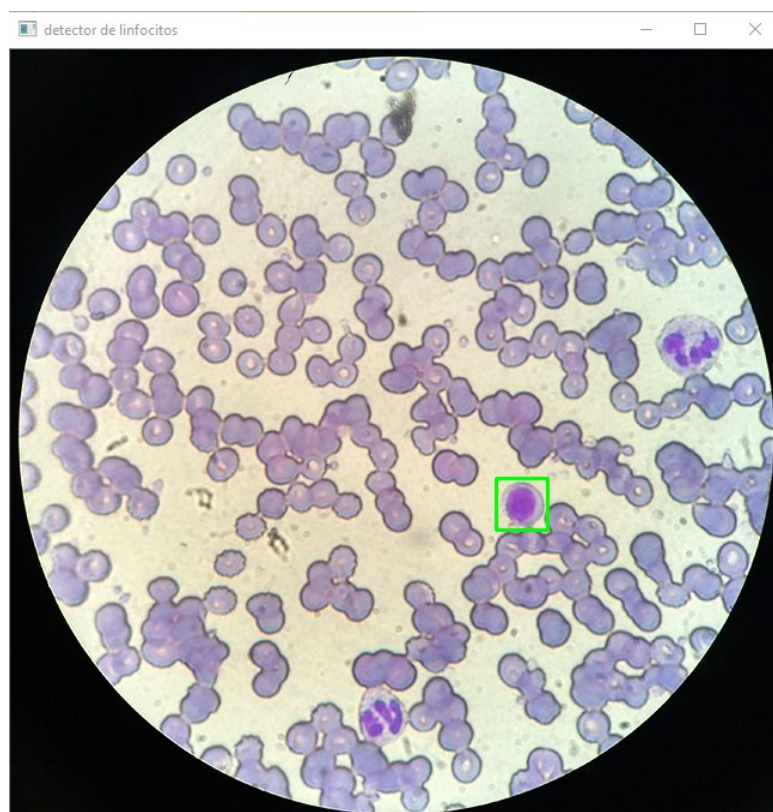
Fonte: Elaboração própria (2020)

Imagem 27 – Detecção de linfócitos 4



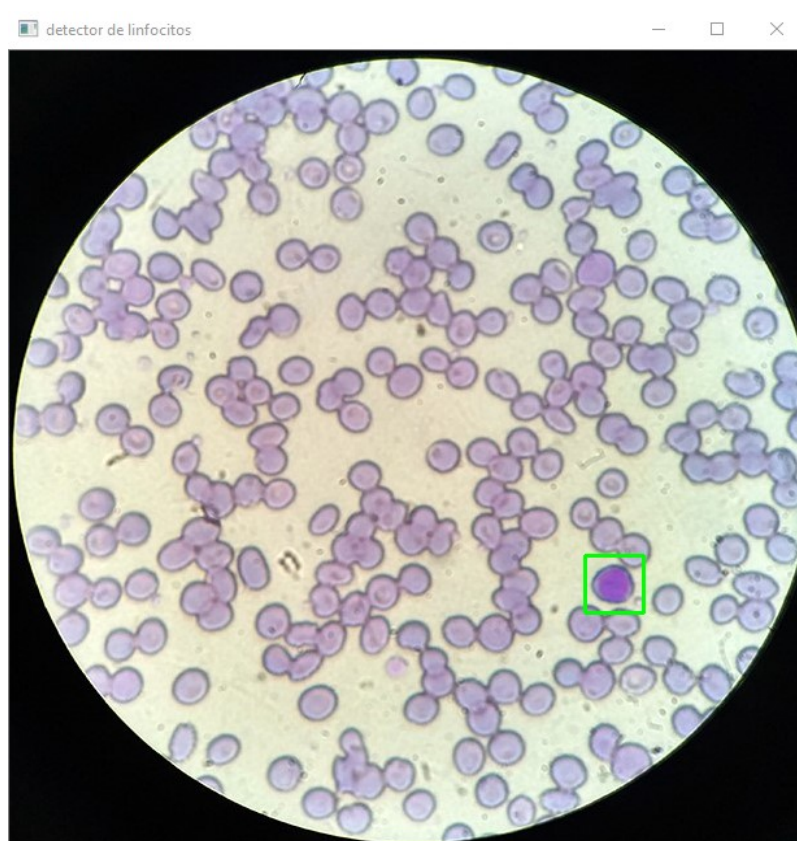
Fonte: Elaboração própria (2020)

Imagem 28 – Detecção de linfócitos 5



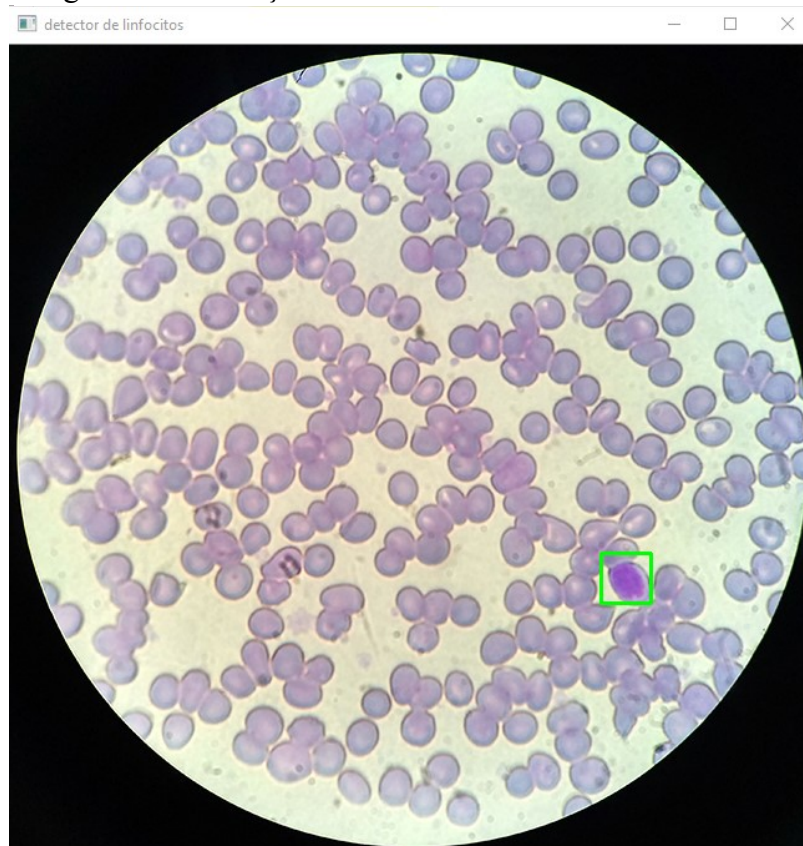
Fonte: Elaboração própria (2020)

Imagem 29 – Detecção de linfócitos 6



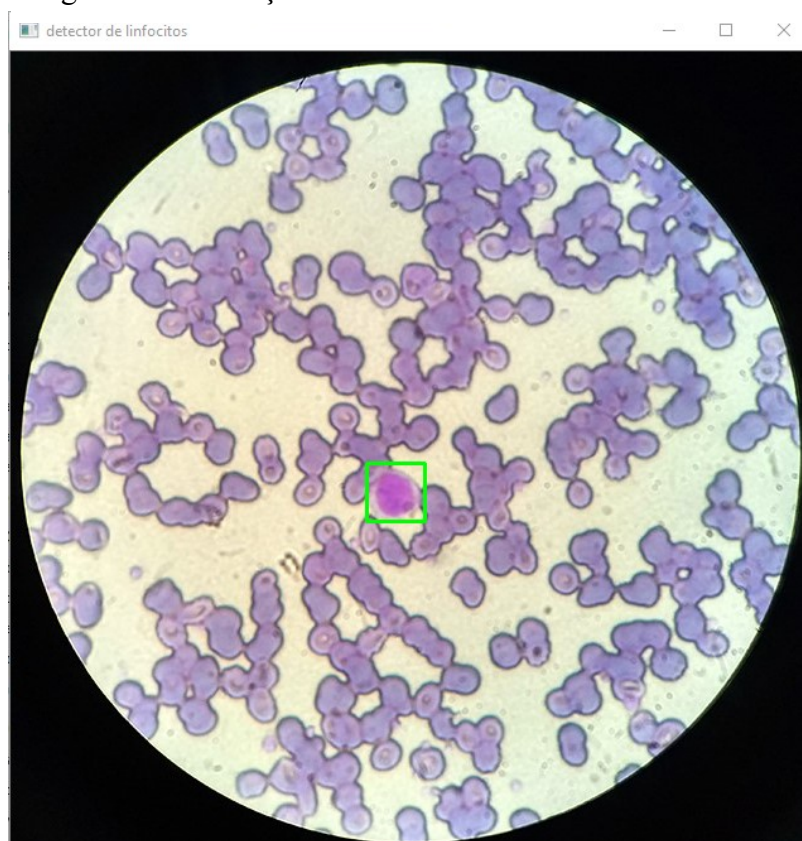
Fonte: Elaboração própria (2020)

Imagem 30 – Detecção de linfócitos 7



Fonte: Elaboração própria (2020)

Imagem 31 – Detecção de linfócitos 8



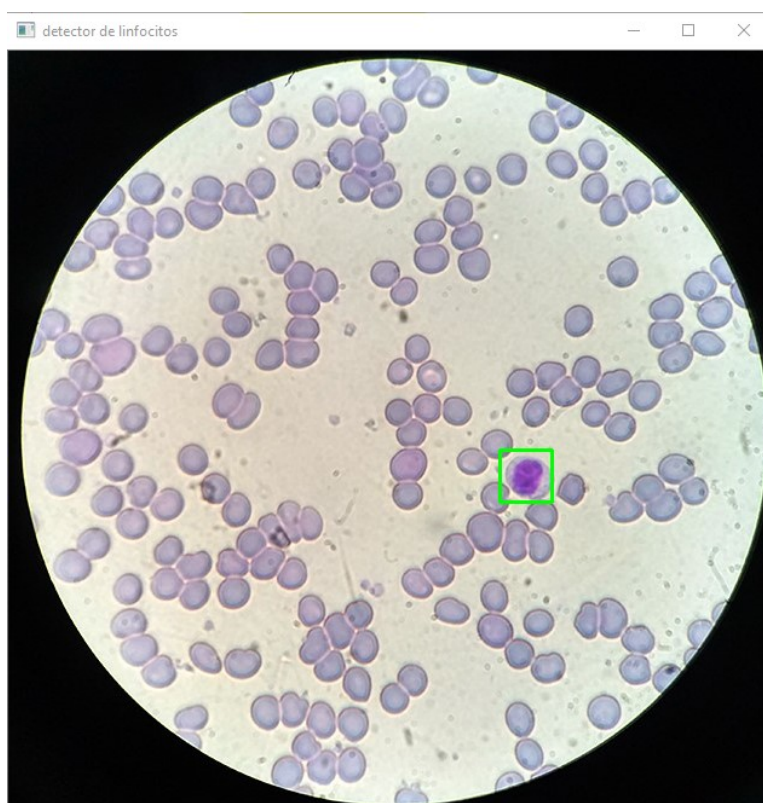
Fonte: Elaboração própria (2020)

Imagem 32 – Detecção de linfócitos 9



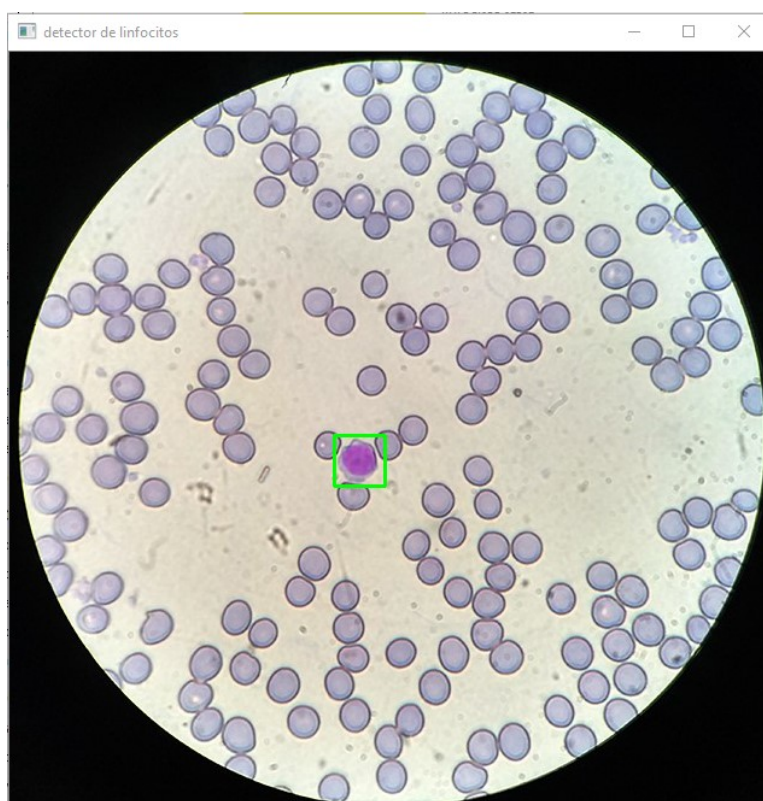
Fonte: Elaboração própria (2020)

Imagem 33 – Detecção de linfócitos 10



Fonte: Elaboração própria (2020)

Imagem 34 – Detecção de linfócitos 11



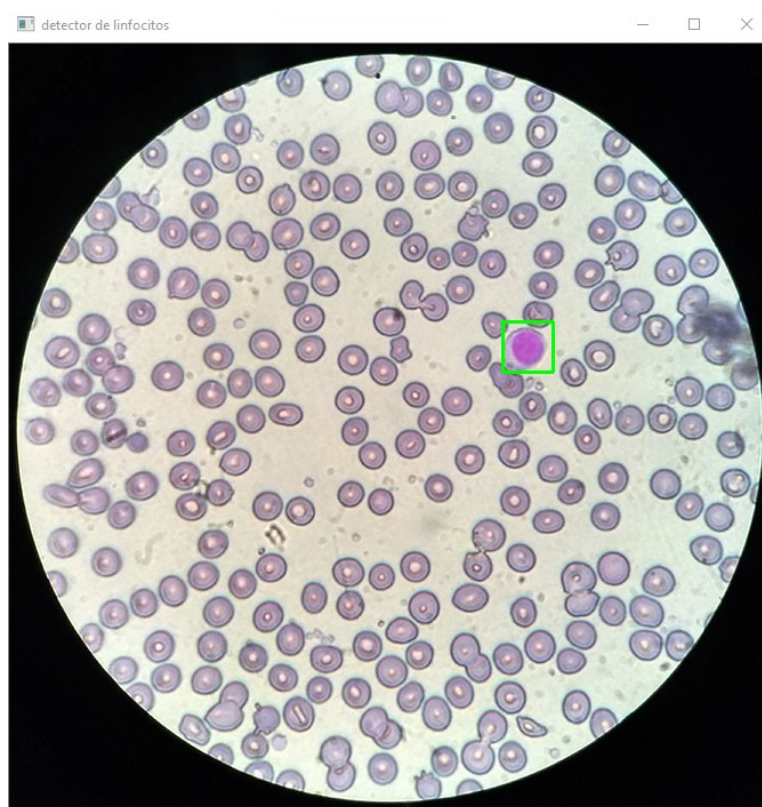
Fonte: Elaboração própria (2020)

Imagem 35 – Detecção de linfócitos 12



Fonte: Elaboração própria (2020)

Imagem 36 – Detecção de linfócitos 13



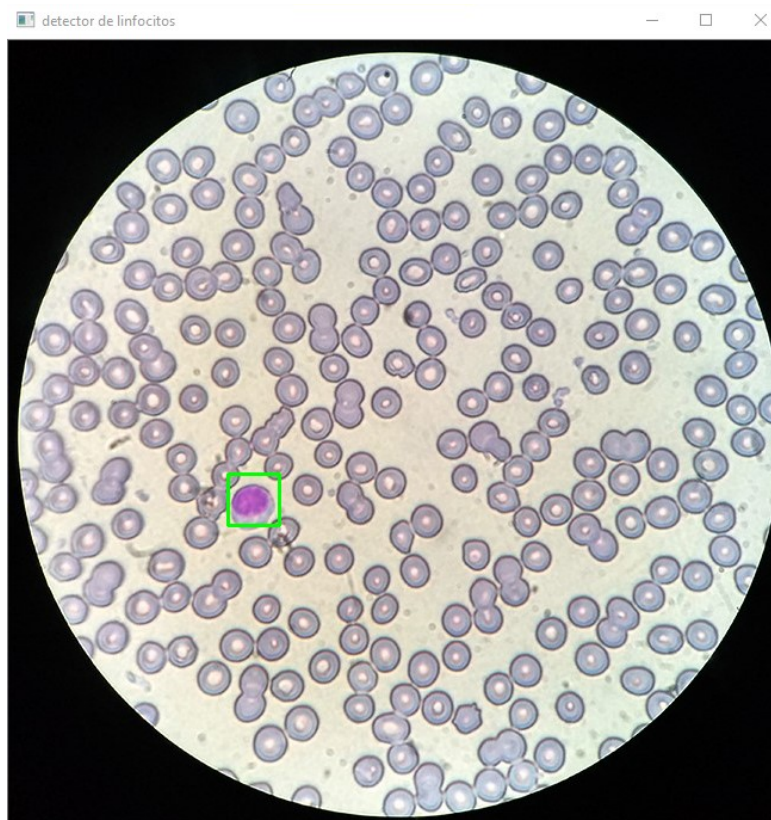
Fonte: Elaboração própria (2020)

Imagem 37 – Detecção de linfócitos 14



Fonte: Elaboração própria (2020)

Imagem 38 – Detecção de linfócitos 15



Fonte: Elaboração própria (2020)

Imagem 39 – Detecção de linfócitos 16



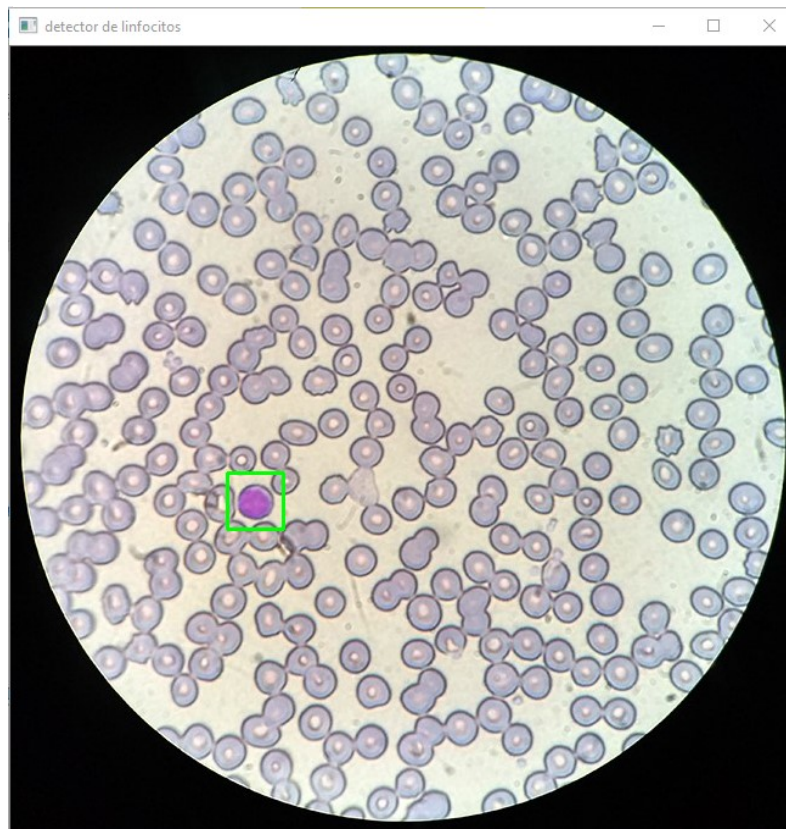
Fonte: Elaboração própria (2020)

Imagem 40 – Detecção de linfócitos 17



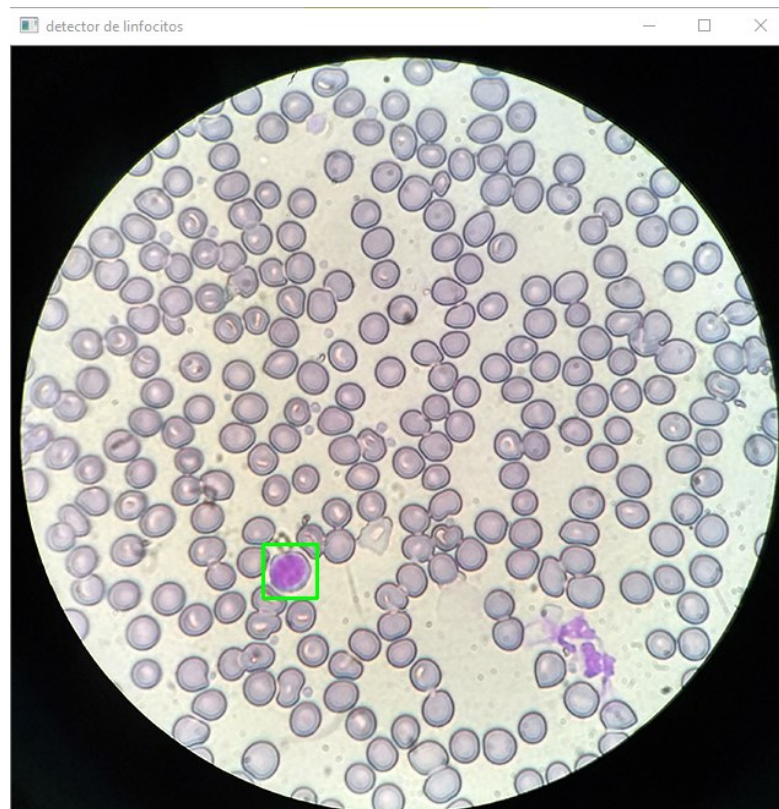
Fonte: Elaboração própria (2020)

Imagem 41 – Detecção de linfócitos 18



Fonte: Elaboração própria (2020)

Imagem 42 – Detecção de linfócitos 19



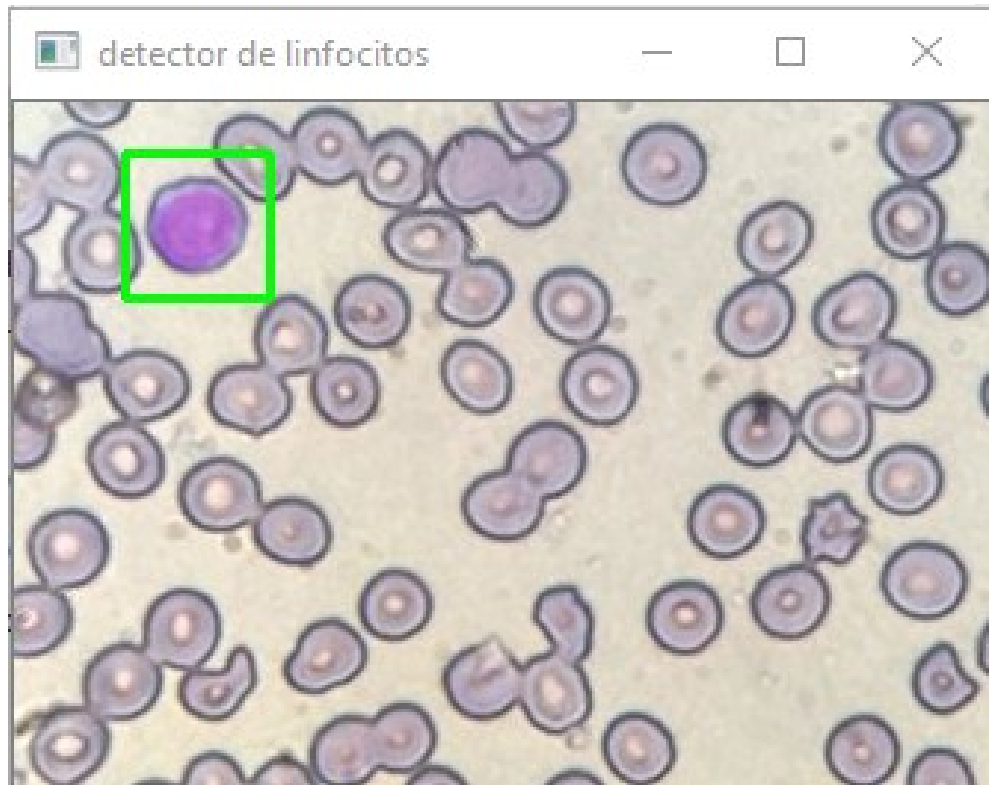
Fonte: Elaboração própria (2020)

Imagem 43 – Detecção de linfócitos 20



Fonte: Elaboração própria (2020)

Imagem 44 – Detecção de linfócitos 21



Fonte: Elaboração própria (2020)

Imagem 45 – Detecção de linfócitos 22



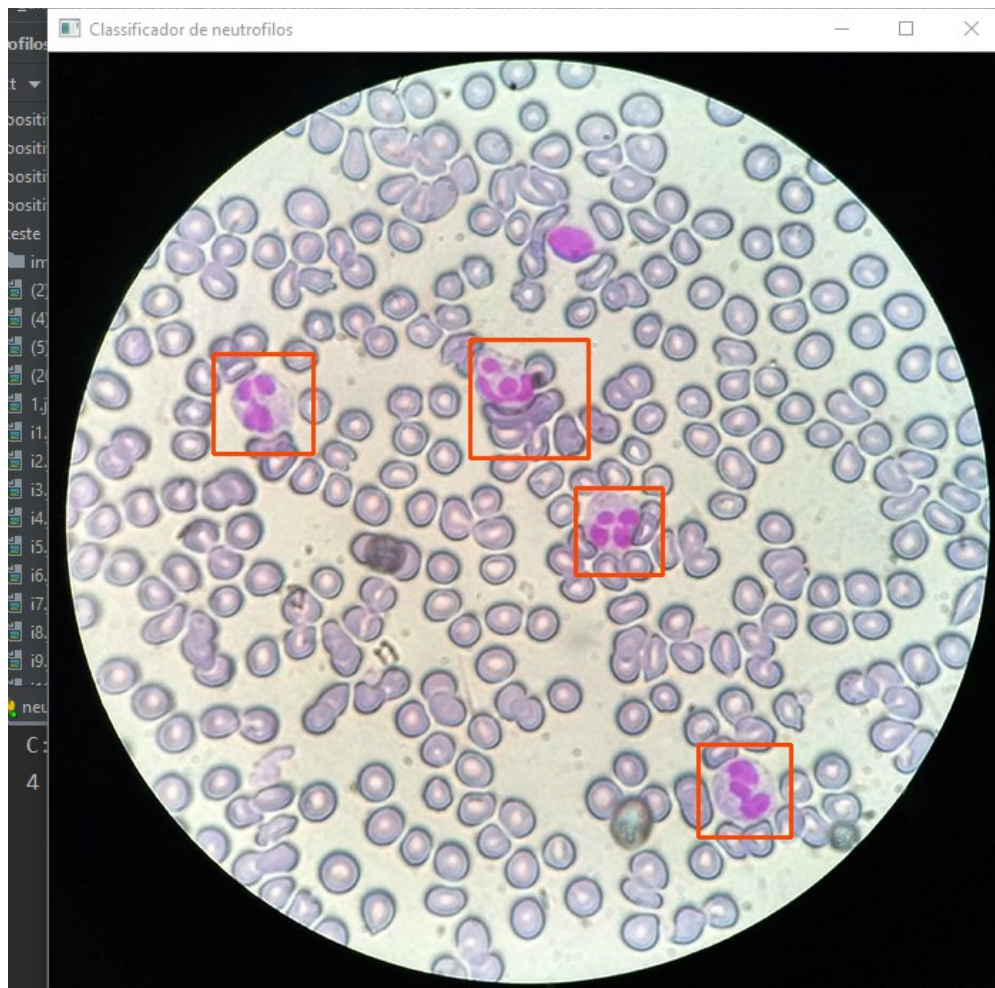
Fonte: Elaboração própria (2020)

Imagem 46 – Detecção de linfócitos 23



Fonte: Elaboração própria (2020)

Imagem 47 – Detecção de neutrófilos 1



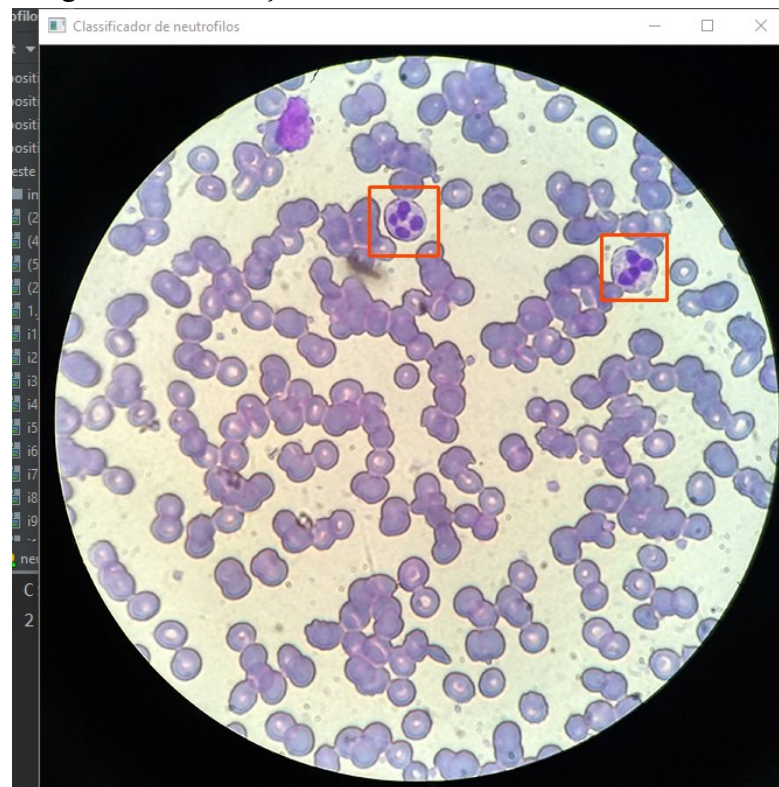
Fonte: Elaboração própria (2020)

Imagem 48 – Detecção de neutrófilos 2



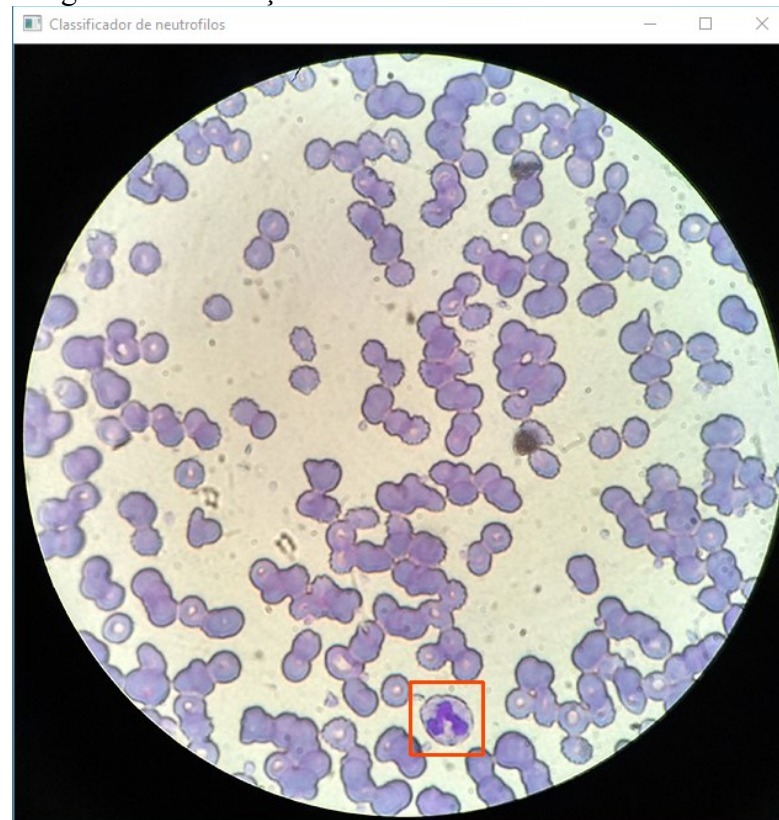
Fonte: Elaboração própria (2020)

Imagem 49 – Detecção de neutrófilos 3



Fonte: Elaboração própria (2020)

Imagem 50 – Detecção de neutrófilos 4



Fonte: Elaboração própria (2020)

Imagem 51 – Detecção de neutrófilos 5



Fonte: Elaboração própria (2020)

Imagem 52 – Detecção de neutrófilos 6



Fonte: Elaboração própria (2020)

Imagem 53 – Detecção de neutrófilos 7



Fonte: Elaboração própria (2020)

Imagem 54 – Detecção de neutrófilos 8



Fonte: Elaboração própria (2020)

Imagem 55 – Detecção de neutrófilos 9



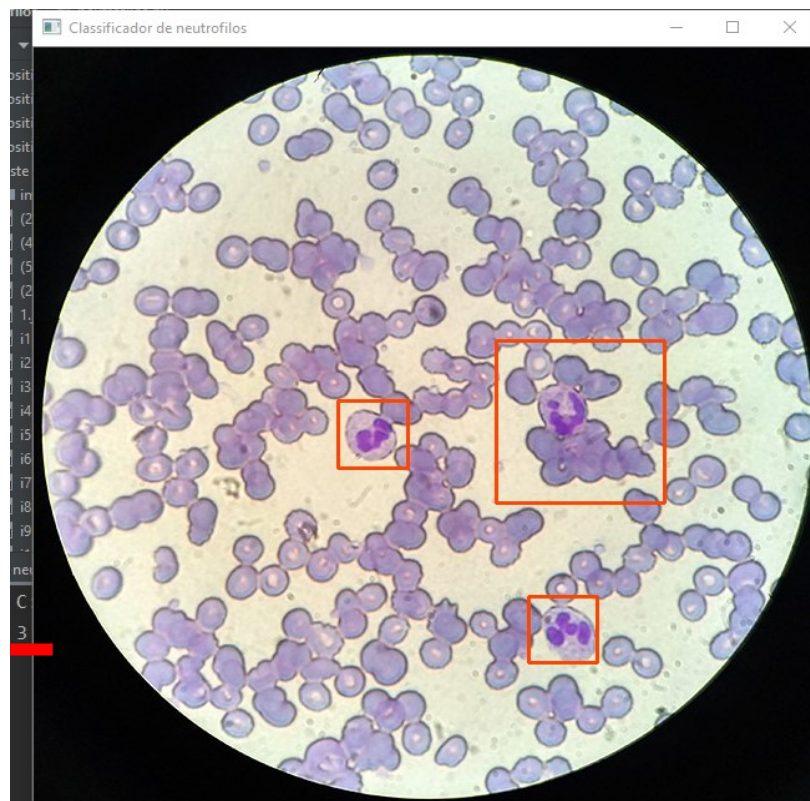
Fonte: Elaboração própria (2020)

Imagem 56 – Detecção de neutrófilos 10



Fonte: Elaboração própria (2020)

Imagem 57 – Detecção de neutrófilos 11



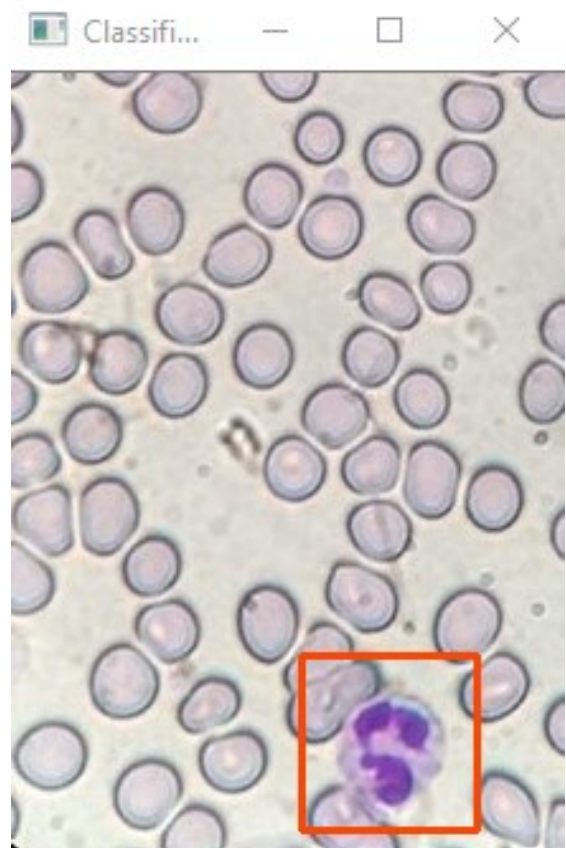
Fonte: Elaboração própria (2020)

Imagem 58 – Detecção de neutrófilos 12



Fonte: Elaboração própria (2020)

Imagem 59 – Detecção de neutrófilos 13



Fonte: Elaboração própria (2020)

Imagem 60 – Detecção de neutrófilos 14



Fonte: Elaboração própria (2020)

Imagem 61 – Detecção de neutrófilos 15



Fonte: Elaboração própria (2020)

Imagem 62 – Detecção de neutrófilos 16



Fonte: Elaboração própria (2020)

Imagem 63 – Detecção de neutrófilos 17



Fonte: Elaboração própria (2020)

Imagem 64 – Detecção de neutrófilos 18



Fonte: Elaboração própria (2020)

Imagem 65 – Detecção de neutrófilos 19



Fonte: Elaboração própria (2020)

Imagem 66 – Detecção de neutrófilos 20



Fonte: Elaboração própria (2020)

## APÊNDICE B – Tabelas com valores de N, HR E FA

Tabela 1 - Treinamento Estágio 13

| N  | HR     | FA       |
|----|--------|----------|
| 1  | 1      | 1        |
| 2  | 1      | 1        |
| 3  | 1      | 1        |
| 4  | 1      | 1        |
| 5  | 1      | 1        |
| 6  | 0.9985 | 0.981154 |
| 7  | 0.996  | 0.926538 |
| 8  | 0.996  | 0.923462 |
| 9  | 0.998  | 0.952308 |
| 10 | 0.9985 | 0.963077 |
| 11 | 0.9955 | 0.864615 |
| 12 | 0.9955 | 0.858077 |
| 13 | 0.9965 | 0.843462 |
| 14 | 0.996  | 0.899231 |
| 15 | 0.9955 | 0.776923 |
| 16 | 0.9955 | 0.833462 |
| 17 | 0.9955 | 0.791923 |
| 18 | 0.9955 | 0.824231 |
| 19 | 0.9955 | 0.805    |
| 20 | 0.9955 | 0.790769 |
| 21 | 0.9955 | 0.792308 |
| 22 | 0.9955 | 0.795769 |
| 23 | 0.9955 | 0.725    |
| 24 | 0.9955 | 0.749615 |
| 25 | 0.9955 | 0.740385 |
| 26 | 0.9955 | 0.720385 |
| 27 | 0.9955 | 0.724615 |
| 28 | 0.9955 | 0.735385 |
| 29 | 0.9955 | 0.665769 |
| 30 | 0.9955 | 0.692692 |
| 31 | 0.9955 | 0.621538 |
| 32 | 0.9955 | 0.653846 |
| 33 | 0.9955 | 0.616923 |
| 34 | 0.9955 | 0.608077 |
| 35 | 0.9955 | 0.575769 |
| 36 | 0.9955 | 0.527692 |
| 37 | 0.9955 | 0.505    |
| 38 | 0.9955 | 0.485385 |

Fonte: Elaboração própria (2020)

Tabela 2 - Treinamento estágio 14

| <b>N</b> | <b>HR</b> | <b>FA</b> |
|----------|-----------|-----------|
| 1        | 1         | 1         |
| 2        | 1         | 1         |
| 3        | 1         | 1         |
| 4        | 1         | 1         |
| 5        | 0.996     | 0.966923  |
| 6        | 0.997     | 0.958846  |
| 7        | 0.9965    | 0.909231  |
| 8        | 0.9955    | 0.904231  |
| 9        | 0.996     | 0.935385  |
| 10       | 0.9955    | 0.896923  |
| 11       | 0.9965    | 0.920769  |
| 12       | 0.9955    | 0.917692  |
| 13       | 0.9965    | 0.898846  |
| 14       | 0.9955    | 0.891923  |
| 15       | 0.9955    | 0.913077  |
| 16       | 0.9955    | 0.895769  |
| 17       | 0.9955    | 0.892692  |
| 18       | 0.9955    | 0.870769  |
| 19       | 0.996     | 0.861154  |
| 20       | 0.9955    | 0.818462  |
| 21       | 0.9955    | 0.831538  |
| 22       | 0.9955    | 0.807692  |
| 23       | 0.9955    | 0.784231  |
| 24       | 0.9955    | 0.785385  |
| 25       | 0.9955    | 0.776538  |
| 26       | 0.9955    | 0.726154  |
| 27       | 0.9955    | 0.750769  |
| 28       | 0.9955    | 0.755385  |
| 29       | 0.9955    | 0.689231  |
| 30       | 0.9955    | 0.724231  |
| 31       | 0.9955    | 0.753846  |
| 32       | 0.9955    | 0.703846  |
| 33       | 0.9955    | 0.680385  |
| 34       | 0.9955    | 0.665769  |
| 35       | 0.9955    | 0.642692  |
| 36       | 0.9955    | 0.608077  |
| 37       | 0.9955    | 0.659231  |
| 38       | 0.9955    | 0.571154  |
| 39       | 0.9955    | 0.563462  |
| 40       | 0.9955    | 0.615769  |
| 41       | 0.9955    | 0.554231  |
| 42       | 0.9955    | 0.58      |
| 43       | 0.9955    | 0.516923  |
| 44       | 0.9955    | 0.507692  |
| 45       | 0.9955    | 0.525385  |
| 46       | 0.9955    | 0.494615  |

Fonte: Elaboração própria (2020)

Tabela -3 Treinamento estágio 15

| <b>N</b> | <b>HR</b> | <b>FA</b> |
|----------|-----------|-----------|
| 1        | 1         | 1         |
| 2        | 1         | 1         |
| 3        | 1         | 1         |
| 4        | 0.9975    | 0.961538  |
| 5        | 0.9975    | 0.97      |
| 6        | 0.996     | 0.933462  |
| 7        | 0.9975    | 0.946538  |
| 8        | 0.997     | 0.918846  |
| 9        | 0.9955    | 0.908846  |
| 10       | 0.997     | 0.923077  |
| 11       | 0.9955    | 0.900769  |
| 12       | 0.9955    | 0.896538  |
| 13       | 0.9955    | 0.900769  |
| 14       | 0.9955    | 0.9       |
| 15       | 0.9955    | 0.900385  |
| 16       | 0.9955    | 0.880385  |
| 17       | 0.9955    | 0.838462  |
| 18       | 0.9955    | 0.858846  |
| 19       | 0.9955    | 0.825769  |
| 20       | 0.9955    | 0.801923  |
| 21       | 0.9955    | 0.784231  |
| 22       | 0.9955    | 0.725769  |
| 23       | 0.9955    | 0.730769  |
| 24       | 0.9955    | 0.698846  |
| 25       | 0.9955    | 0.733462  |
| 26       | 0.9955    | 0.746538  |
| 27       | 0.9955    | 0.695     |
| 28       | 0.9955    | 0.666154  |
| 29       | 0.9955    | 0.648462  |
| 30       | 0.9955    | 0.653077  |
| 31       | 0.9955    | 0.652308  |
| 32       | 0.9955    | 0.666154  |
| 33       | 0.9955    | 0.66      |
| 34       | 0.9955    | 0.649231  |
| 35       | 0.9955    | 0.641923  |
| 36       | 0.9955    | 0.625769  |
| 37       | 0.9955    | 0.617308  |
| 38       | 0.9955    | 0.589615  |
| 39       | 0.9955    | 0.559231  |
| 40       | 0.9955    | 0.491923  |

Fonte: Elaboração própria (2020)