

INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA DO CEARÁ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA, PÓS-GRADUAÇÃO E INOVAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA DA COMPUTAÇÃO

Geovani Lopes Martins

**Análise parasitológica de *Trypanosoma cruzi* em vídeos de
microscopia óptica do sangue com base na saliência de movimento**

Fortaleza – CE

24 de Fevereiro de 2021

Geovani Lopes Martins

**Análise parasitológica de *Trypanosoma cruzi* em vídeos
de microscopia óptica do sangue com base na saliência
de movimento**

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Ciência da Computação do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciência da Computação.

Área de Concentração: Sistemas de Computação

Linha de Pesquisa: Processamento de Imagens Biomédicas

Orientador: Prof. Dr. Geraldo Luis Bezerra Ramalho

Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará (IFCE)

Pró-Reitoria de Pesquisa, Pós-Graduação e Inovação (PRPI)

Programa de Pós-Graduação em Ciência da Computação (PPGCC)

Fortaleza – CE

24 de Fevereiro de 2021

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Instituto Federal do Ceará - IFCE
Sistema de Bibliotecas - SIBI
Ficha catalográfica elaborada pelo SIBI/IFCE, com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

M379a Martins, Geovani Lopes.

Análise parasitológica de *Trypanosoma cruzi* em vídeos de microscopia óptica do sangue com base na saliência de movimento / Geovani Lopes Martins. - 2021.
67 f. : il. color.

Dissertação (Mestrado) - Instituto Federal do Ceará, Mestrado em Ciência da Computação, Campus Fortaleza, 2021.

Orientação: Prof. Dr. Geraldo Luis Bezerra Ramalho.

1. Diagnóstico baseado em motilidade. 2. Detecção de *Trypanosoma cruzi*. 3. Detecção da saliência de movimento. 4. Movimento colateral. 5. Análise de vídeos biomédicos. I. Título.

CDD 004



INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA DO CEARÁ
Av. 13 de maio, 2081 - Bairro Benfica - CEP 60040-531 - Fortaleza - CE - www.ifce.edu.br

DECLARAÇÃO

GEOVANI LOPES MARTINS

Análise parasitológica de *Trypanosoma cruzi* em vídeos de microscopia óptica do sangue com base na
saliência de movimento

Dissertação submetida à Coordenação do Curso de Pós-graduação em Ciência da Computação do
Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará, como requisito parcial para a obtenção
do título de mestre em Ciência da Computação, área de concentração Sistemas de Computação.

Aprovada em **24/02/2021**.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Geraldo Luis Bezerra Ramalho (Orientador)

Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará - PPGCC/IFCE

Prof. Dr. Pedro Pedrosa Reboucas Filho

Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará - PPGCC/IFCE

Prof. Dr. Francisco Nélcio Costa Freitas

Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará - IFCE



Documento assinado eletronicamente por **Geraldo Luis Bezerra Ramalho, Professor do Ensino Básico, Técnico e Tecnológico**, em 25/02/2021, às 09:14, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Francisco Nelio Costa Freitas, Professor do Ensino Básico, Técnico e Tecnológico**, em 17/03/2021, às 20:23, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Pedro Pedrosa Reboucas Filho, Professor do Ensino Básico, Técnico e Tecnológico**, em 24/03/2021, às 12:24, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade do documento pode ser conferida no site https://sei.ifce.edu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0 informando o código verificador **2408063** e o código CRC **0032188C**.

À minha família e a todos que acreditaram e
contribuíram para o desenvolvimento desta pesquisa.

Agradecimentos

Agradeço primeiramente a Deus pela força, coragem e determinação que Ele me deu durante a realização do mestrado e principalmente desta dissertação.

À minha família pelo apoio e incentivo à minha formação acadêmica, em especial, aos meus pais, Juvenal e Francilene; meus tios, Chagas e Maria (*in memoriam*); minha prima, Ana Cristina, e minha namorada Michelle.

Ao Prof. Dr. Geraldo L. B. Ramalho pela paciência, oportunidade, orientação e confiança em mim para a realização deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Daniel S. Ferreira pela amizade, por auxiliar na minha formação e pela valiosa contribuição com sugestões e críticas para esta pesquisa.

À Profa. Dra. Fátima N. S. de Medeiros por todo o incentivo desde a graduação.

À Profa. Dra. Cláudia M. Carneiro do Laboratório de Imunopatologia da Universidade Federal de Ouro Preto (LIMP/UFOP) pela aquisição e disponibilização de parte dos vídeos utilizados nesta pesquisa, assim como, pelo suporte na análise deles.

Ao Laboratório de Biologia Parasitária da Universidade Nacional Autónoma do México (UNAM) e, em particular, ao especialista TLC. David Velasco Perales pela aquisição e disponibilização de vídeos para validação da proposta apresentada.

Aos colegas do Laboratório de Processamento de Imagens, Sinais e Computação Aplicada (LAPISCO) e do Laboratório de Automação e Redes Industriais (LARI) pela amizade e ajuda mútua.

A todos os professores, colegas e amigos do Programa de Pós-Graduação em Ciência da Computação (PPGCC) que contribuíram para que este trabalho pudesse ser concluído.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo financiamento desta pesquisa via bolsa de estudos.

“O essencial é invisível aos olhos.”
— *Antoine de Saint-Exupéry em Le Petit Prince.*

Resumo

O movimento realizado por alguns protozoários é um estímulo visual crucial em análises microscópicas, sobretudo quando os microrganismos apresentam características morfológicas quase imperceptíveis. É o caso do parasito *Trypanosoma cruzi*, onde o baixo contraste dele dificulta sua localização em amostras de sangue preparadas sem corante. No entanto, as interações desse parasito com a vizinhança, como colisões com células sanguíneas e choques durante a fuga de confinamentos em aglomerados celulares, geram movimentos colaterais que auxiliam na detecção. Assim, uma nova abordagem computacional com base na saliência de movimento é proposta neste trabalho, considerando o movimento colateral do *T. cruzi* suficientemente perceptível para superar contextos dinâmicos da análise parasitológica direta. Para isso, o movimento é estimado em vídeos de microscopia óptica utilizando fluxo óptico denso e vestígios indicadores de movimento colateral dos parasitos são investigados em mapas de saliência. Os experimentos realizados contribuíram para validar uma versão mais generalista da abordagem proposta, alcançando valores superiores a 0.8 para a métrica F_1 na maior parte dos vídeos de validação. Os resultados asseguram a aplicação desse método biologicamente motivado, além de reconhecer o movimento colateral do *T. cruzi* como promissor em ferramentas computacionais de auxílio a pesquisa e diagnóstico médico da Doença de Chagas.

Palavras-chave: Diagnóstico baseado em motilidade. Detecção de *Trypanosoma cruzi*. Detecção da saliência de movimento. Movimento colateral. Análise de vídeos biomédicos.

Abstract

The motion performed by some protozoa is a crucial visual stimulus in microscopy analysis, especially when microorganisms have almost imperceptible morphological characteristics. It is the case of the *Trypanosoma cruzi* parasite, where its low contrast makes it difficult to locate in blood samples prepared without dye. However, the interactions of this parasite with the neighborhood, such as collisions with blood cells and shocks during the escape of confinements in cell clumps, generate collateral motions that assist in the detection. Thus, a new computational approach based on motion saliency is proposed in this work, considering the collateral motion of *T. cruzi* sufficiently noticeable to overcome dynamic contexts of direct parasitological analysis. For this, the motion is estimated in optical microscopy videos using dense optical flow, and vestiges of collateral motion of parasites are investigated on saliency maps. The experiments carried out contributed to validate a more general version of the proposed approach, reaching values greater than 0.8 for the F_1 metric in most validation videos. The results ensure the application of this biological-inspired method, in addition to recognizing the collateral motion of *T. cruzi* as promising in computational tools to aid research and medical diagnosis of Chagas disease.

Keywords: Motility-based diagnostic. *Trypanosoma cruzi* detection. Motion saliency detection. Collateral motion. Biomedical video analysis.

Lista de ilustrações

Figura 1 – Esfregaço sanguíneo de animal infectado corado com Giemsa. As setas indicam a forma tripomastigota do <i>T. cruzi</i> entre células do sangue (FIOCRUZ, 2017).	15
Figura 2 – Ciclo de transmissão do <i>T. cruzi</i> . Adaptado de CDC (2019).	16
Figura 3 – Dinamismo em vídeos de microscopia óptica de sangue infectado com parasitos <i>T. cruzi</i> . Os elementos observados na cena (<i>T. cruzi</i> e células sanguíneas) realizam movimentos (flutuante, PTZ ou colateral) que variam em intensidade (baixa, moderada ou alta) e direção (0–360°).	20
Figura 4 – Modelo de atenção visual para vídeo. Adaptado de Itti (2004).	24
Figura 5 – Motilidade oscilante da <i>Trichobilharzia cercaria</i> registrada a uma taxa de reprodução de 15,63 quadros por segundo e ampliação de 100x. Adaptado de Linder, Varjo e Thors (2016). (a) Quadro de vídeo com seta indicando a localização do microrganismo e (b) diagrama de agulhas correspondente.	29
Figura 6 – Visão geral do procedimento experimental. Os fluxos de otimização (acima da seta pontilhada) e validação (abaixo da seta pontilhada) são formados por módulos (A-D) que interagem entre si. Os arcos sinalizam as interações entre pares. A numeração acima dos arcos indica a ordem no respectivo fluxo e as cores informam o módulo que endereçou o recurso.	30
Figura 7 – Etapas do módulo organização de dados (A).	31
Figura 8 – Aquisição de vídeos de microscopia óptica de material biológico infectado.	32
Figura 9 – Base de vídeos utilizada nos experimentos. As setas indicam a localização dos parasitos <i>T. cruzi</i> . Os quadros de vídeo foram obtidos de (a) LIMP, (b) UNAM e (c) Martin et al. (2014).	32
Figura 10 – Trajetórias estimadas dos parasitos identificados na base de vídeos. GT de marcações dos vídeos de (a) otimização e (b) validação. As cores sinalizam o vídeo no qual o parasito foi observado, variando de tonalidades mais claras (início da trajetória) às mais escuras (fim da trajetória) da cor. O maior marcador indica o fim da trajetória. Note que os parasitos dos vídeos P5 e P6 finalizam suas trajetórias no mesmo ponto em (a). O número de parasitos em cada vídeo é indicado por um asterisco (*).	34
Figura 11 – Etapas do módulo detecção de parasitos (B).	35
Figura 12 – Etapas do módulo formas de avaliação (C).	39
Figura 13 – Etapas do módulo otimização de parâmetros (D).	43

Figura 14 – Análise comportamental dos ciclos evolutivos ao longo das gerações. Os ciclos evolutivos são agrupados por cores específicas para cada vídeo. A série de um determinado ciclo evolutivo é sinalizada por marcadores distintos. Cada ponto na série equivale ao valor de F_1 médio ($F_{1médio}$) da população. As curvas correspondem à média global dos ciclos ao longo das gerações.	45
Figura 15 – Parâmetros obtidos com a otimização por algoritmo genético. A variabilidade dos genes T , R e N é apresentada de forma separada. As ocorrências são agrupadas por cores específicas para cada vídeo. Os pontos de tonalidade mais escura indicam a moda das ocorrências nos cromossomos ótimos. As regiões densas da distribuição são enfatizadas através de curvas em torno dos pontos (via largura).	47
Figura 16 – Parâmetros obtidos com a otimização por algoritmo genético. A variabilidade dos genes T , R e N é apresentada de forma separada, considerando uma margem de erro de 5% nos resultados de $F_{1máximo}$. As ocorrências são agrupadas por cores específicas para cada vídeo. Os pontos de tonalidade mais escura indicam a moda das ocorrências nos cromossomos ótimos. As regiões densas da distribuição são enfatizadas através de curvas em torno dos pontos (via largura).	48
Figura 17 – Arranjos de parâmetros candidatos a generalização da detecção. As modas encontram-se ordenadas, indicando a mediana da distribuição na cor amarela.	49
Figura 18 – Análise quantitativa da detecção com base na métrica F_1 . Cada eixo radial equivale a um experimento, onde os arranjos de parâmetros na extremidade superior indicam a configuração do método. Os experimentos com os vídeos de validação são representados por linhas de cores específicas. As linhas cruzam os eixos conforme o valor de F_1 obtido. A linha em tom mais escuro corresponde ao valor médio da métrica, organizando os eixos de forma crescente.	50
Figura 19 – Análise quantitativa da detecção com base nas métricas (a) precisão e (b) revocação. Cada eixo radial equivale a um experimento, onde os arranjos de parâmetros na extremidade indicam a configuração do método. Os experimentos com os vídeos de validação são representados por linhas de cores específicas. As linhas cruzam os eixos conforme o valor obtido na métrica em análise. A linha em tom mais escuro corresponde ao valor médio da métrica, organizando os eixos de forma crescente.	51

- Figura 20 – Análise qualitativa da detecção com base na saliência de movimento colateral. (a) Último quadro (#Q25) da primeira sequência (#S01) de cada vídeo de validação. A localização dos parasitos *T. cruzi* é indicada por círculos. (b) Mapas de saliência *bottom-up* dos respectivos quadros de vídeo. As regiões variam entre baixa e alta saliência. (c) Mapas de vestígios da sequência de vídeo #S01. Os vestígios de movimento saliente são representados por pontos. (d) Mapas de detecção da sequência de vídeo #S01. Os parasitos estimados pelo método são indicados por marcadores diferentes. 54
- Figura 21 – Desempenho em vídeo sem parasitos (vídeo V4). (a) Total de vestígios identificados em cada sequência de vídeo. As marcações indicam a presença de falsos positivos. (b) Mapa de detecção da sequência #S06. (c) Mapas de saliência *bottom-up* dos últimos quadros de vídeo da sequência #S06. 55
- Figura 22 – Desempenho do método utilizando diferentes técnicas para detecção de movimento. (a) Parâmetro T estimado para aplicação do algoritmo. Note que R e N se mantém constante formando o arranjo final. Os marcadores representam os algoritmos nos gráficos seguintes. (b) Relação entre F_1 e tempo de execução nos vídeos de validação. Os círculos indicam os resultados para o algoritmo de Farnebäck. (c) Performance no vídeo V4. As linhas indicam a evolução da quantidade de vestígios obtidos ao longo das sequências de vídeo. As numerações em torno dos pontos informam a quantidade de parasitos estimados incorretamente. Ex. O método configurado com o algoritmo DIS identificou 61 vestígios na sequência #S01 e estimou incorretamente um parasito. 57

Lista de tabelas

Tabela 1	–	Detalhes da base de vídeos de microscopia óptica.	33
Tabela 2	–	Resultados da otimização de parâmetros usando algoritmos genéticos. .	46
Tabela 3	–	Resultados da detecção de parasitos <i>T. cruzi</i> com base na saliência de movimento colateral.	52

Sumário

1	INTRODUÇÃO	15
1.1	Motivação	19
1.2	Descrição do problema	19
1.3	Objetivos	21
1.4	Contribuições	21
1.5	Produção científica	22
1.6	Organização do trabalho	22
2	SALIÊNCIA VISUAL	23
2.1	Atenção visual	23
2.2	Detecção de saliência	25
2.3	Saliência via análise do movimento	26
2.3.1	Fluxo óptico	27
3	METODOLOGIA	30
3.1	Procedimento experimental	30
3.2	Organização dos dados (A)	31
3.3	Detecção de parasitos (B)	35
3.3.1	Detecção da saliência de movimento	36
3.3.2	Detecção de vestígios	36
3.3.3	Refinamento	37
3.4	Formas de avaliação (C)	38
3.5	Otimização de parâmetros (D)	40
4	RESULTADOS EXPERIMENTAIS	44
4.1	Otimização	44
4.2	Validação	49
4.2.1	Análise quantitativa	49
4.2.2	Análise qualitativa	53
4.2.3	Detecção de movimento	56
5	CONCLUSÃO	58
5.1	Trabalhos Futuros	59
	REFERÊNCIAS	60

1 Introdução

Observações por microscopia óptica permitem identificar o microrganismo que é de especial interesse para este trabalho: o protozoário flagelado *Trypanosoma cruzi* (*T. cruzi*). As primeiras descrições do *T. cruzi*, pelo cientista brasileiro Carlos Chagas, foram realizadas a partir de inspeções desse parasito usando o corante Giemsa, como apresentado na Figura 1. Essa técnica de coloração é ainda hoje empregada em análises laboratoriais e possibilita localizar esses parasitos em amostras de sangue, permitindo assim o diagnóstico médico de uma importante doença parasitária conhecida como Doença de Chagas (DC), cujo nome foi dado em homenagem ao seu descobridor (FIOCRUZ, 2017).

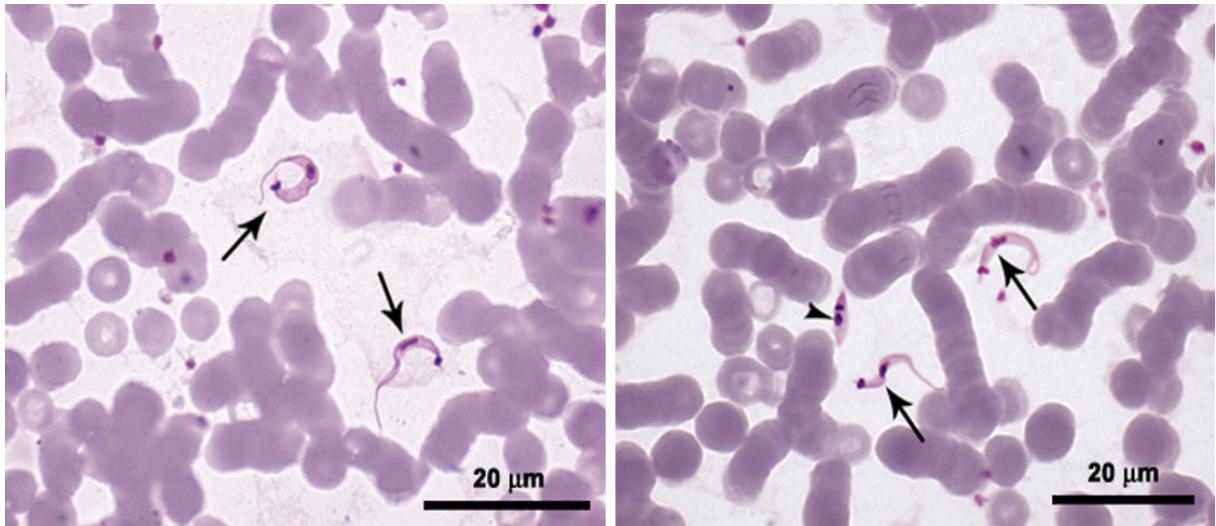


Figura 1 – Esfregaço sanguíneo de animal infectado corado com Giemsa. As setas indicam a forma tripomastigota do *T. cruzi* entre células do sangue (FIOCRUZ, 2017).

De acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS), a DC pertence ao grupo de doenças tropicais consideradas negligenciadas, apresentando indicadores inaceitáveis e investimentos reduzidos em pesquisas, produção de medicamentos e em seu controle. Estima-se que cerca de 6 a 7 milhões de pessoas no mundo, principalmente na América Latina, estejam infectadas por *T. cruzi* (WHO, 2020). Além disso, surgem 28 mil novos casos a cada ano, uma vez que 65 milhões de pessoas correm risco permanente de contrair essa enfermidade em um dos 21 países das Américas, onde a DC é considerada endêmica. Nessa mesma região, aproximadamente 12 mil pessoas morrem anualmente vítimas da doença (PAHO, 2019). No Brasil, a mortalidade por DC é considerada bastante elevada, representando uma das quatro maiores causas de morte por doenças infecciosas e parasitárias no país. Calcula-se que de 1,0 a 2,4% da população, o equivalente a 1,9 e 4,6 milhões de pessoas, está infectada com *T. cruzi* (MS, 2019).

O mais importante mecanismo de transmissão da DC é o vetorial, onde o principal

vetor de propagação da doença é o inseto triatomíneo conhecido como barbeiro. A Figura 2 apresenta de modo simplificado o ciclo de transmissão do *T. cruzi*. Nas últimas décadas, esforços empregados pelos programas de controle vetorial contribuíram substancialmente para a diminuição da transmissão sobretudo em áreas rurais (BERN et al., 2011). No entanto, a descrição de surtos endêmicos recentes da DC transmitida oralmente abriu uma nova área de estudo e análise (DIAS et al., 2016), especialmente por conta da ingestão de alimentos contaminados com fezes de barbeiros infectados, como suco de frutas (goiaba, açaí e caldo de cana/garapa). Outras formas de transmissão possíveis são: contaminação de mãe para filho ou forma congênita, transfusões de sangue, transplante de órgãos e acidentes de laboratório.

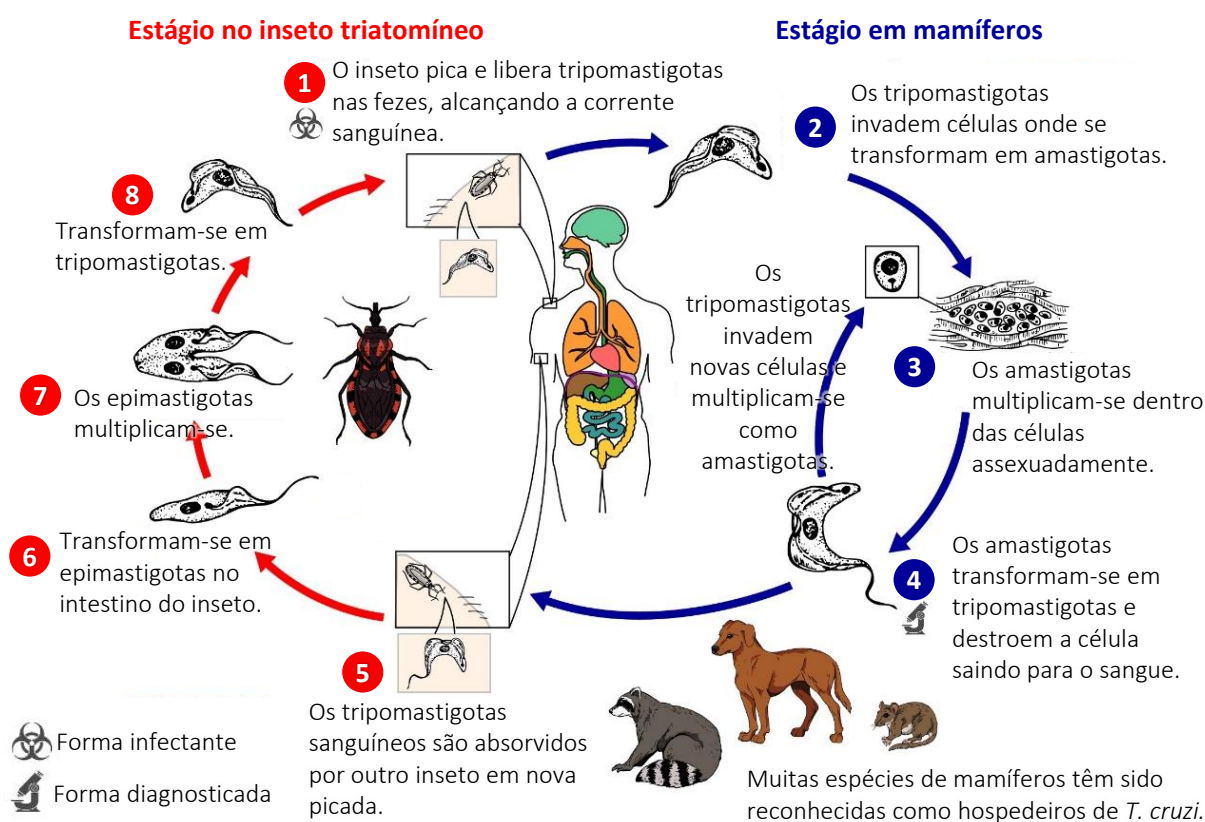


Figura 2 – Ciclo de transmissão do *T. cruzi*. Adaptado de CDC (2019).

A DC apresenta duas fases clínicas: aguda e crônica (COURA; DIAS, 2009). Após a infecção, a maioria dos indivíduos apresentam fase aguda assintomática. Na fase crônica da doença, aproximadamente 40% dos pacientes desenvolvem formas sintomáticas, manifestando principalmente complicações cardíacas e/ou digestivas que surgem depois de muitos anos (FIOCRUZ, 2017). O diagnóstico na fase aguda pode ser realizado por meio de provas parasitológicas diretas, onde os tripomastigotas sanguíneos são identificados diretamente em exames de sangue do paciente (DNDi, 2019). Os métodos parasitológicos diretos são recomendados na fase aguda devido a sua execução simples e econômica. Além disso, é durante essa fase que os pacientes chagásicos apresentam elevada carga parasitária, facilitando assim a identificação visual dos parasitos por profissionais habilitados (BRASIL,

2019). O diagnóstico na fase crônica é feito através de sorologia convencional, pois a parasitemia circulante é quase nula, a não ser que seja um paciente imunossuprimido com reagudização da doença.

Menos de 10% das pessoas com DC nas Américas são diagnosticadas e cerca de 1% das que têm a doença recebe o devido tratamento antiparasitário (DNDi, 2019). Uma pessoa infectada que seja diagnosticada ainda na fase aguda e receba o tratamento adequado tem aproximadamente 100% de chance de cura (MSF, 2018), o que demonstra a importância estratégica do diagnóstico e tratamento ainda nessa fase. Para a Coalizão Global de Chagas, é importante aumentar os esforços e recursos na detecção precoce. Além disso, deve-se admitir que as ferramentas atuais de diagnóstico e tratamento ainda apresentam limitações e necessitam ser melhor adaptadas às condições da população afetada (CGC, 2021). Pacientes na fase aguda muitas vezes não são diagnosticados adequadamente, dentre as razões pode-se destacar a ausência de sintomas do portador da doença, o desconhecimento dos profissionais de saúde sobre DC, mesmo em áreas endêmicas, ou a falta de acessibilidade ao diagnóstico e tratamento, sendo esse um contexto bastante comum para doenças negligenciadas (DNDi, 2019). É importante ressaltar que a detecção de *T. cruzi* no sangue depende da acuidade visual de profissionais habilitados, o que é suscetível também a erros ocasionados pela fadiga do olho humano ou inexperiência.

Localizar o *T. cruzi* com base na cor, textura ou morfologia é uma tarefa desafiadora em análises parasitológicas (JUNQUEIRA et al., 2011). Esses microrganismos apresentam baixo contraste no campo visual do microscopista, visto que suas estruturas internas são incolores e transparentes. O uso de técnicas de coloração na preparação das amostras de sangue permite evidenciar detalhes morfológicos deles, facilitando assim sua identificação na análise laboratorial. No entanto, esse procedimento acarreta na morte dos parasitos, dispensando sua motilidade característica, que também pode ser um fator chave para a detecção (ALANIS et al., 2004).

De uma forma geral, o movimento do *T. cruzi* é caracterizado pelo batimento de seu flagelo. Alguns trabalhos foram publicados no sentido de investigar e reconhecer padrões no movimento desses parasitos (BALLESTEROS-RODEA et al., 2012; SOSA-HERNÁNDEZ et al., 2015; ALVES et al., 2016). Um aspecto interessante é que sua motilidade afeta os elementos figurados do sangue (glóbulos vermelhos, glóbulos brancos e as plaquetas) circundantes que, participando desse movimento, são sinalizadores de sua presença. Situações de confinamento, lotação ou fluxo intenso influenciam na mobilidade desses parasitos móveis (HOCHSTETTER; PFOHL, 2016).

Apesar do movimento ser uma característica intrínseca do ciclo de vida parasitário, Zhang et al. (2018) afirmam que o diagnóstico com base no movimento de parasitos como o *T. cruzi* ainda é pouco explorado. Nesse caso, a criação de modelos computacionais pode contribuir nessa direção, automatizando a identificação de parasitos no sangue através do

seu movimento característico. Logo, essa aptidão natural dos parasitos tem potencial de aplicação no desenvolvimento de novas ferramentas computacionais, contribuindo para uma análise parasitológica mais assertiva.

No campo de estudo de processamento de imagens e visão computacional, alguns trabalhos foram publicados para auxílio à pesquisa e ao diagnóstico médico da DC. A maioria são abordagens para detecção e/ou contagem de *T. cruzi* em amostras de sangue infectado, onde se investigam características espaciais da imagem como cor, textura e forma (SOBERANIS-MUKUL et al., 2013; UC-CETINA; BRITO-LOEZA; RUIZ-PIÑA, 2013; MAZA-SASTRE et al., 2014; UC-CETINA; BRITO-LOEZA; RUIZ-PIÑA, 2015; OJEDA-PAT; MARTIN-GONZALEZ; SOBERANIS-MUKUL, 2020; VEGA-ALVARADO et al., 2020). Nessa mesma categoria, há trabalhos que procura por *T. cruzi* diretamente em células hospedeiras (NOHARA et al., 2010; MOON et al., 2014; RELI et al., 2017).

A segunda categoria de trabalhos considera aspectos temporais em imagens sequenciais ou quadros de vídeo. Em geral, esse tipo de abordagem explora o movimento do *T. cruzi* visando a detecção e/ou contagem. Sem fazer uso de microscópios ópticos convencionais de campo claro, esses trabalhos normalmente implementam recursos compatíveis em *hardware* ou utilizam microscópios especializados para a geração de imagens e detecção. Além disso, algumas técnicas dependem de procedimentos particulares de coleta e preparação das amostras, removendo artefatos ou realçando características do *T. cruzi*.

Alanis et al. (2004) aplicaram o mecanismo de diferenciação temporal para uma sequência de quadros, a fim de calcular o movimento na cena e, assim, detectar o parasito *T. cruzi*. Romero, Monaldi e Alanís (2012) usaram a técnica de microscopia holográfica digital para detecção de *T. cruzi*. Esse método identifica automaticamente o movimento dos parasitos com base na presença de picos em um mapa de fase sem ambiguidade. Em seguida, os autores usam binarização e operações morfológicas para a contagem. Zhang et al. (2018) apresentaram uma plataforma de imagem computacional livre de rótulos baseada em motilidade para detectar parasitos em fluidos corporais usando análise holográfica de manchas e *deep learning*, aprendizagem profunda em português. Takagi et al. (2019) aplicaram uma técnica de autocorrelação local cúbica de ordem superior para extrair características relacionadas à forma e ao movimento de parasitos *T. cruzi* com o propósito de estimar a parasitemia em amostras desconhecidas.

Nesse cenário, este trabalho de pesquisa apresenta uma nova abordagem computacional, visando à análise parasitológica de *T. cruzi* em vídeos de microscopia óptica do sangue. Desse modo, este capítulo está organizado da seguinte forma: a seção 1.1 apresenta os aspectos que motivaram este trabalho; a seção 1.2 descreve a problemática envolvida para este tipo de abordagem; a seção 1.3 indica quais são os objetivos esperados ao final da pesquisa; a seção 1.4 mostra as contribuições; a seção 1.5 informa a produção científica e a seção 1.6 detalha a organização desta dissertação.

1.1 Motivação

A principal motivação para este trabalho encontra-se na necessidade de mais esforços em pesquisa e meios de diagnóstico médico para a DC, tendo como finalidade o desenvolvimento de uma nova aplicação em visão computacional para detecção do *T. cruzi* em vídeos de microscopia óptica do sangue. Ao contrário da maioria dos trabalhos na literatura, essa abordagem prioriza o movimento como fator chave para a detecção.

Estudos sobre o comportamento ocular e a atenção visual permitem lançar luz na proposição de um novo método. Ao observar uma lâmina, o movimento característico do *T. cruzi* tende naturalmente a atrair a atenção visual de profissionais habilitados. Desse modo, a análise computacional da saliência de movimento no campo visual da lâmina pode reproduzir a percepção do microscopista, indicando os parasitos existentes na amostra.

Desse modo, inspirado em mecanismos da atenção visual, este trabalho atenta para o contexto negligenciado da DC, levando em consideração o uso de microscópios ópticos convencionais de campo claro para geração de imagens e a ausência de *hardwares* especializados para auxiliar a detecção. Além disso, a proposta não condiciona a preparação das amostras a procedimentos particulares de coleta, remoção de artefatos ou técnicas de coloração para realçar características morfológicas do *T. cruzi*.

1.2 Descrição do problema

Uma variedade de movimentos pode ser observada em vídeos de microscopia óptica de amostras de sangue. Traçando um paralelo com a atenção visual, estímulos visuais em demasia podem comprometer o foco e a atenção humana para os alvos que mais importam na cena. Logo, detectar parasitos móveis em cenários de intenso dinamismo não é uma tarefa fácil para abordagens computacionais. A Figura 3 ilustra um cenário típico encontrado neste estudo, com a presença de parasitos *T. cruzi* realizando seu movimento em meio a células sanguíneas nem sempre estáticas.

As interações do *T. cruzi* com elementos circundantes geram vestígios indicadores de sua presença. Desse modo, os vestígios percebidos são estímulos colaterais da locomoção desses parasitos móveis e podem ocorrer devido as interações hidrodinâmicas com fluidos corporais, esbarros em artefatos ou por causa das colisões ocasionadas durante a fuga de confinamentos em aglomerados celulares. Consequentemente, essas ações interferem no movimento desses microrganismos e influenciam os elementos vizinhos, inertes ou não, provocando manobras abruptas. É importante ressaltar que a presença do *T. cruzi* é percebida pela visão humana como um movimento colateral dos elementos vizinhos, sendo por isso denominado de movimento colateral. A Figura 3 mostra o movimento colateral a partir de situações de contato do *T. cruzi* com células vizinhas.

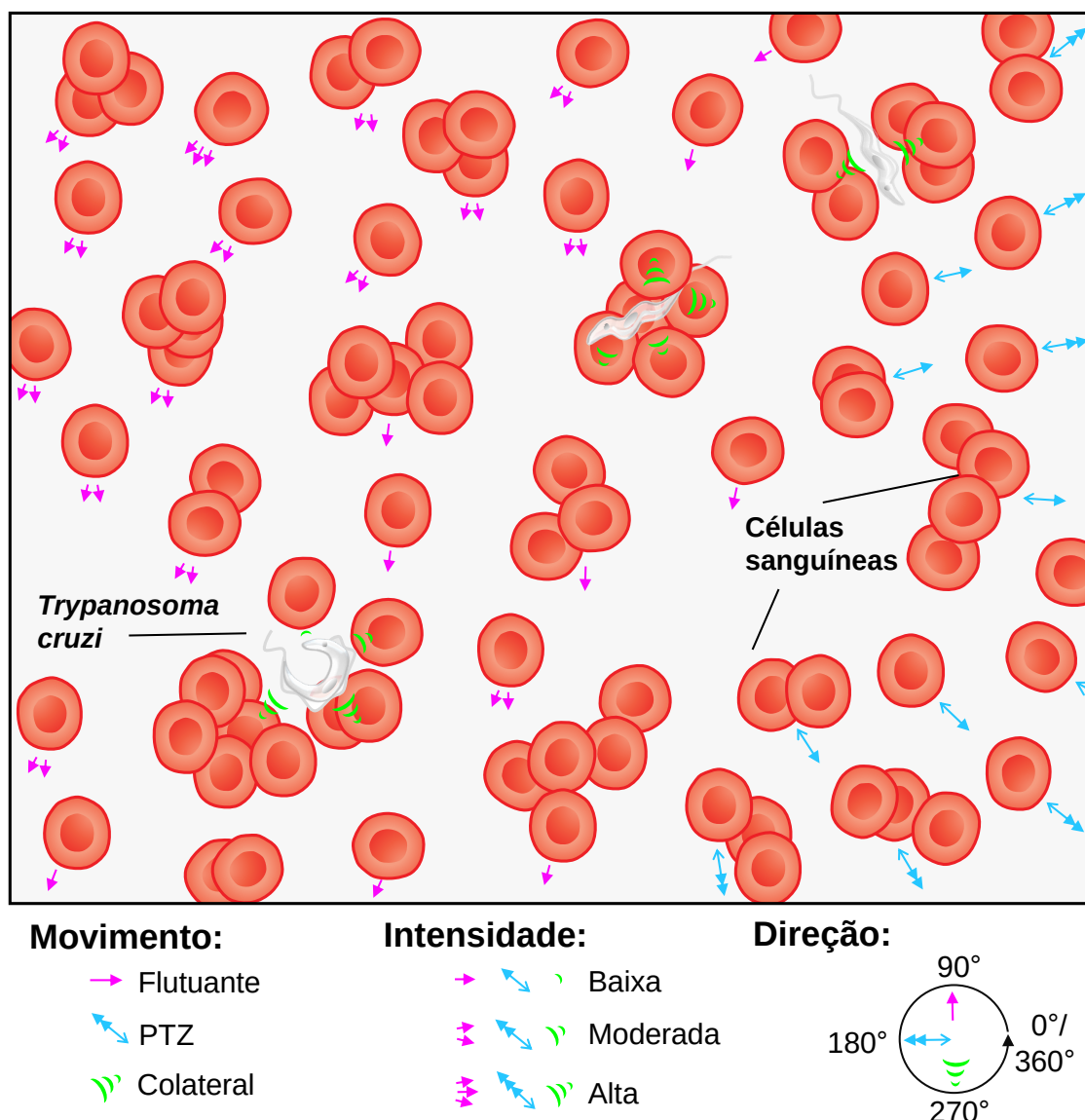


Figura 3 – Dinamismo em vídeos de microscopia óptica de sangue infectado com parasitos *T. cruzi*. Os elementos observados na cena (*T. cruzi* e células sanguíneas) realizam movimentos (flutuante, PTZ ou colateral) que variam em intensidade (baixa, moderada ou alta) e direção (0–360°).

Eventualmente, estímulos externos podem afetar a lâmina, perturbando assim os elementos em observação no campo visual. Como resultado, a cena torna-se ainda mais dinâmica por conta da instabilidade gerada. Embora os parasitos também estejam suscetíveis a ruídos externos, são os artefatos livres e sem motilidade que aparentam maior vulnerabilidade nessas ocorrências. Basta o manuseio de alguma das estruturas móveis do microscópio óptico, como um ajuste no charriot, para células livres e aglomerados desencadearem conjuntamente um movimento em fluxo. Em alguns momentos, esses elementos parecem estar flutuando na lâmina em virtude da resposta a novos impulsos, alterando repentinamente as características de seu movimento. Por conta disso, esse movimento foi denominado de flutuante. Na cena apresentada na Figura 3, algumas células

sanguíneas apresentam movimento flutuante em direção a ângulos compreendidos entre 180–270° e intensidade variando gradativamente de moderada, no canto superior esquerdo, para ocorrências mais baixas na parte inferior da imagem.

O dinamismo na cena pode se intensificar com ajustes de foco das lentes objetivas do microscópio. Nesse caso, é importante considerar que essa ação não conduz ao movimento real dos elementos em observação, mas a uma percepção falsa de movimento. Quando a inspeção microscópica acontece com o auxílio de abordagens computacionais, certamente, esse é um aspecto extremamente relevante, ou crítico, se forem utilizados mecanismos de *pan-tilt-zoom* (PTZ) de câmeras acopladas em possíveis registros durante a varredura da lâmina. *Pan* é a movimentação horizontal ou panorâmica da câmera, *tilt* é a movimentação vertical da câmera e *zoom* é o reajuste das lentes para a ampliação da imagem. O artefato está sob influência do movimento PTZ quando o movimento resultante observado é o desses ajustes. A Figura 3 apresenta algumas células e aglomerados aparentemente estáticos que estão sendo influenciados exclusivamente pelo movimento PTZ, de maneira que, as maiores intensidades são observadas nos elementos posicionados nos extremos da imagem, simulando o efeito de ampliação do *zoom* (*zoom in*).

Identificar o movimento colateral do *T. cruzi* em meio ao complexo fundo dinâmico presente na cena é o grande desafio para o êxito na detecção desses parasitos. Assim, a metodologia proposta neste trabalho considera, por hipótese, que o movimento colateral do *T. cruzi* seja suficientemente saliente para localizá-lo em sistemas de visão computacional.

1.3 Objetivos

Inspirada em mecanismos de atenção visual, esta dissertação apresenta um método *bottom-up* para detecção de parasitos *T. cruzi* com base na saliência de movimento. Para alcançar esse objetivo geral, foram traçados os seguintes objetivos específicos:

- Organizar uma base de vídeos de microscopia óptica obtida a partir de métodos parasitológicos diretos sem técnicas de coloração;
- Implementar uma abordagem computacional para detecção de parasitos *T. cruzi* com base na saliência de movimento;
- Identificar vestígios que caracterizem o movimento colateral dos parasitos;
- Aplicar diferentes técnicas para detecção de movimento a fim de avaliar a capacidade de generalização da abordagem proposta.

1.4 Contribuições

As principais contribuições desta pesquisa são as seguintes:

- Análise do movimento colateral como parâmetro para a localização de parasitos *T. cruzi* em abordagens computacionais;
- Desenvolvimento de um método baseado em saliência de movimento para detecção de parasitos *T. cruzi* em vídeos de microscopia óptica do sangue.

1.5 Produção científica

A produção científica oriunda desta dissertação resultou na publicação de um artigo, a saber:

- **MARTINS, G. L.; FERREIRA, D. S.; RAMALHO, G. L. B.** Collateral motion saliency-based model for *Trypanosoma cruzi* detection in dye-free blood microscopy. *Computers in Biology and Medicine*, v. 132, p. 104220, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.compbiomed.2021.104220>

1.6 Organização do trabalho

Neste primeiro capítulo são introduzidos o tema e a motivação deste trabalho. Além disso, são discutidos aspectos relacionados a problemática em torno da detecção de parasitos *T. cruzi* em vídeos de microscopia óptica do sangue. Na sequência são apresentados os objetivos, contribuições e produção científica desta pesquisa.

O Capítulo 2 revisa os conceitos teóricos utilizados no desenvolvimento desta dissertação. A saliência visual é abordada em termos da atenção visual, detecção de saliência e estimativa da saliência via análise de movimento.

O Capítulo 3 apresenta a metodologia proposta, destacando o método *bottom-up* com base na saliência de movimento para a estimativa dos parasitos. O procedimento experimental é esmiuçado a partir de seus módulos, são eles: organização de dados (A), detecção de parasitos (B), formas de avaliação (C) e otimização de parâmetros (D).

O Capítulo 4 mostra os resultados obtidos nos fluxos de otimização e validação. Além disso, diferentes configurações do método para estimativa de fluxo óptico denso são avaliadas ao final do capítulo.

Por fim, o Capítulo 5 traz as conclusões do presente trabalho e as recomendações para a continuidade desta proposta.

2 Saliência visual

Neste capítulo é apresentada a fundamentação teórica deste trabalho, considerando os aspectos que dão embasamento para a compreensão da proposta. Desse modo, a seção 2.1 introduz o tema da atenção visual. A seção 2.2 discute alguns conceitos básicos sobre a detecção da saliência em vídeo. A seção 2.3 relaciona algumas abordagens para a estimativa do movimento em uma cena.

2.1 Atenção visual

Uma ou mais regiões concentram boa parte da atenção visual ao se olhar para uma cena. Esse comportamento foi estudado por psicólogos e neurocientistas ao longo do tempo, buscando entender o que leva o ser humano a ser tão seletivo. Para Schneider e Shiffrin (1977), essas regiões que atraem a atenção são aquelas mais importantes em uma cena. A distinção entre aquilo que é mais relevante e o que não é mostra-se extremamente interessante para diversas aplicações na área da computação, dadas as limitações que o ser humano tem para processar numerosa quantidade de informação. Nessa perspectiva, muitos trabalhos foram publicados na literatura com o objetivo de modelar computacionalmente esse comportamento humano.

O desenvolvimento de modelos computacionais de atenção visual começou com a Teoria de Integração de Características de Treisman e Gelade (1980), que forneceu uma explicação mecanicista de como o cérebro humano analisa a informação visual. Os pesquisadores propuseram que o processamento ocorre de forma paralela e que são combinadas diferentes informações visuais como cor, intensidade e orientação para identificar regiões salientes em uma cena. Essa concepção foi especificada em uma arquitetura computacional por Koch e Ullman (1987) e posteriormente implementada por Itti, Koch e Niebur (1998). Esses modelos introduziram a ideia de combinar características visuais distintas em um único mapa, denominado mapa de saliência, no qual os valores de cada *pixel* codificam a saliência do estímulo visual.

A Figura 4 mostra um diagrama elaborado por Itti (2004) para detecção da saliência em quadros de vídeo. Com inspiração na Teoria de Integração de Características, os mapas de características visuais básicas como cor, cintilação, intensidade, orientação e movimento competem paralelamente para determinar quais as regiões que se diferenciam do restante da imagem em muitas escalas espaciais. Esses mapas são normalizados e depois combinados em um único mapa de saliência, no qual as áreas mais claras correspondem às regiões de maior atenção visual, ou seja, de maior saliência (ITTI, 2004). Variações desse modelo básico têm sido amplamente utilizadas ao longo do tempo.

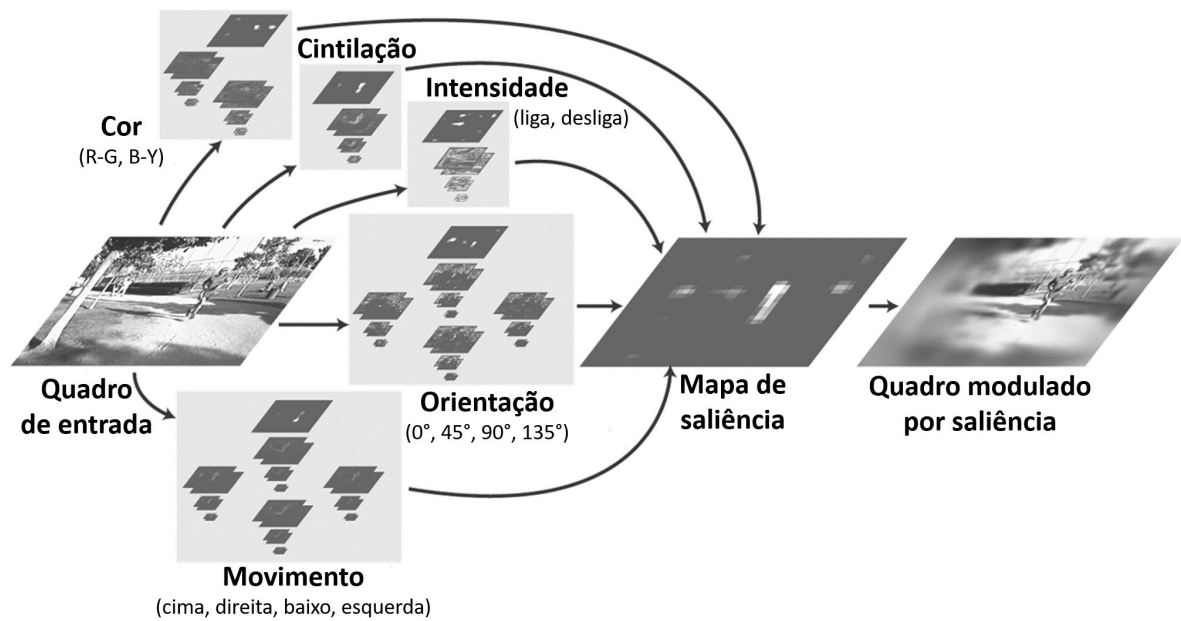


Figura 4 – Modelo de atenção visual para vídeo. Adaptado de Itti (2004).

O modelo proposto por Itti (2004) baseia-se no mecanismo de atenção visual chamado *bottom-up*, de baixo para cima em português. Os métodos *bottom-up* são guiados por características visuais primitivas da imagem. Essas características atuam de modo inconsciente, pois o observador fixa sua atenção em determinadas regiões de acordo com estímulos contrastantes presentes na própria cena. Como observado na Figura 4, pode-se extrair tanto características espaciais como cor, intensidade e orientação quanto temporais como cintilação e movimento, que dependem de mais de um quadro.

Experimentos realizados por Yarbus (1967) demonstraram que a atenção visual não depende apenas de características intrínsecas da imagem, mas também de ações demandadas aos observadores de uma cena. A mudança do padrão de fixação ocular, de acordo com a tarefa solicitada em uma imagem, sugere um segundo mecanismo de atenção visual chamado *top-down*, de cima para baixo em português. Os métodos *top-down* usam conhecimentos obtidos a priori para detectar regiões de maior interesse. Eles são guiados por fatores cognitivos como conhecimentos, expectativas e objetivos.

Em geral, os métodos *top-down* são mais lentos em comparação aos métodos *bottom-up* (ITTI; KOCH, 2001). Além disso, eles necessitam de treinamentos adaptados para tarefas específicas, haja vista a busca a partir de conhecimentos prévios. Isso torna os métodos *top-down* menos generalizáveis que os métodos *bottom-up*. Ainda assim, há que se levar em consideração os mecanismos de atenção *top-down* para um reconhecimento inteligente e não ser afetado com a presença de elementos distratores na cena (BACON; EGETH, 1994).

2.2 Detecção de saliência

Muitos pesquisadores da área de visão computacional têm despertado o interesse em abordagens que implementam mecanismos da atenção visual (NGUYEN; ZHAO; YAN, 2018), especialmente quando a proposta é encontrar objetos que possam representar eficientemente uma cena. Normalmente, um modelo de detecção de objetos salientes deve identificar a atenção saliente de determinados objetos na cena e, em seguida, segmentá-los. A saída do modelo é um mapa de saliência, onde a intensidade de cada pixel representa a sua probabilidade de pertencer a um objeto saliente (BORJI et al., 2015).

A detecção de objetos salientes ou regiões de interesse pode ocorrer tanto em imagens estáticas (BORJI et al., 2015; BORJI et al., 2019) como em vídeo (WANG et al., 2021; BUZZELLI, 2020). A detecção em imagem acontece predominantemente com base na análise de informações espaciais. A detecção em vídeo considera informações temporais extraídas da sequência de quadros.

Para Borji et al. (2019), a detecção de saliência em vídeo é um campo de pesquisa bastante promissor. Borji e Itti (2013) recomendam a análise de informações temporais, sobretudo, em cenários interativos, complexos e dinâmicos. Algumas abordagens computacionais foram propostas nessa direção. Mancas et al. (2011) introduziram um modelo de saliência *bottom-up* para identificação de movimentos anormais em vídeos de *crowds*, multidões em português. Os autores estimam as regiões de movimento usando fluxo óptico. Chen et al. (2018) implementaram um método para detectar a saliência em vídeos com intenso fundo dinâmico. O método consiste em dois componentes principais: um filtro baseado em histogramas KNN (KNNH) e um modelo MRF-Graph (MRFG). Fang et al. (2019) desenvolveram uma nova abordagem *bottom-up* baseada em informações espaço-temporais e na teoria da Gestalt para a detecção em vídeo.

Em aplicações biomédicas, a detecção de saliência em vídeo tem sido cada vez mais utilizada. Javid et al. (2019) analisaram o movimento do sistema imunológico para fins de diagnóstico. Os autores estimam um mapa de saliência espaço-temporal para detectar e segmentar o sistema imunológico em movimento a partir de vídeos de microscopia. Loukas et al. (2018) desenvolveram um método para extração de quadros-chave de vídeos laparoscópicos. Para isso, cada quadro é decomposto em três mapas de saliência a fim de modelar a preferência da visão humana por regiões com maior diferenciação em relação à cor, movimento e textura. Muhammad et al. (2017) também fizeram a sumarização usando saliência, mas em vídeos de histeroscopia diagnóstica. Os autores extraem recursos de saliência baseado em contraste multiescala, textura, curvatura e movimento para cada quadro. Por fim, eles são combinados por um esquema de fusão linear ponderado, gerando um mapa de saliência. Ruano et al. (2019) introduziram um método automático para localizar pequenas lesões neoplásicas em vídeos de colonoscopia. A abordagem usa recursos de borda, textura e movimento, combinando a saliência estimada em um único mapa.

Muitos modelos calculam a saliência espaço-temporal combinando informações *bottom-up* e *top-down* através de técnicas de *deep learning* (WANG; SHEN; SHAO, 2018; SHARIATMADAR; FAEZ, 2019; CHAABOUNI; BENOIS-PINEAU; AMAR, 2019). Dependendo do conjunto de dados, esses métodos conseguem ter um desempenho melhor do que muitos métodos tradicionais. Porém, uma limitação encontrada é a necessidade de serem treinados com grandes volumes de dados, sendo um entrave para aplicações em que os dados disponíveis são poucos ou bastante restritos.

A detecção de saliência em vídeo, geralmente, requer o cálculo do movimento. Objetos com diferentes velocidades, fundo dinâmico e cenários em constante mudança de iluminação são alguns dos aspectos que contribuem para mudar drasticamente a complexidade da cena (CHEN et al., 2018). Essas adversidades encorajaram a proposição de diferentes abordagens para a estimativa do movimento, algumas dessas técnicas são apresentadas na próxima seção.

2.3 Saliência via análise do movimento

Intuitivamente, objetos que se movem mais rapidamente em uma cena tendem a atrair a atenção visual. Um objeto em movimento em um vídeo pode ser entendido como um conjunto de *pixels* conectados na sequência de quadros de vídeo, com movimento coerente ao longo do tempo (aspecto temporal) e semelhança semântica no espaço da imagem (aspecto espacial) (YILMAZ; JAVED; SHAH, 2006). Assim, a relação espaço-temporal dos *pixels* é muito importante para detectar corretamente um objeto em movimento.

Segundo Liu, Yuen e Qiu (2009), os métodos para detecção de movimento podem ser categorizados em três abordagens distintas: métodos baseados em distribuição, contorno ou orientação. A técnica *background subtraction*, subtração de fundo em português, é a mais popular na abordagem baseada em distribuição, onde a informação extraída é resultado da diferenciação entre quadros, como observado no trabalho de Zivkovic e Heijden (2006). Dinamismo de fundo, mudança constante de iluminação e presença de sombra afetam o desempenho da subtração de fundo (KULCHANDANI; DANGARWALA, 2015). Na abordagem baseada em contorno, algoritmos usando *level set* (BROX; BRUHN; WEICKERT, 2006), contornos ativos (YOKOYAMA; POGGIO, 2005) e contornos ativos geodésicos (FANG; CHAN, 2006) são exemplos de aplicações. Esses métodos detectam objetos em movimento com diferentes tamanhos e formas, afirmando ser insensíveis às mudanças de iluminação (FERRARI; TUYTELAARS; GOOL, 2006). Porém, eles não lidam muito bem com objetos rápidos e, ainda por cima, exigem grande esforço computacional. A terceira categoria são os métodos baseados em orientação que tem o *optical flow*, fluxo óptico em português, como a técnica mais utilizada. Por ser o procedimento escolhido na proposta deste trabalho, o fluxo óptico será melhor detalhado na subseção seguinte.

2.3.1 Fluxo óptico

O conceito de fluxo óptico foi introduzido pelo psicólogo americano James Gibson, que definiu o fluxo óptico como o padrão de movimento aparente de objetos em uma cena visual causada pelo movimento relativo entre um observador e uma cena (GIBSON, 1950). No entanto, uma definição mais clássica para os entusiastas de visão computacional é a de Horn e Schunck (1981), que definiram o fluxo óptico como a distribuição de velocidades aparentes do movimento dos padrões de intensidade (brilho) na cena. Nesse caso, existe um vetor de velocidade associado a cada *pixel* do plano da imagem. Algumas considerações importantes para a modelagem é que a intensidade dos *pixels* não muda entre quadros consecutivos e que *pixels* vizinhos têm movimento similar.

A formulação matemática do fluxo óptico pode ser obtida considerando a intensidade de uma imagem I em função do espaço (x, y) e do tempo t . Supondo que um *pixel* realiza certo deslocamento (dx, dy) no quadro subsequente, após um tempo dt , obtém-se:

$$I(x, y, t) = I(x + dx, y + dy, t + dt), \quad (2.1)$$

em que a equação 2.1 pode ser expandida aplicando série de Taylor, como demonstrado a seguir:

$$I(x + dx, y + dy, t + dt) = I(x, y, t) + \frac{\partial I}{\partial x} dx + \frac{\partial I}{\partial y} dy + \frac{\partial I}{\partial t} dt + O^2, \quad (2.2)$$

sendo O^2 um termo de alta ordem. Nesse caso, agrupando os termos e eliminando o de alta ordem, chega-se às seguintes equações:

$$I(x, y, t) = I(x, y, t) + \frac{\partial I}{\partial x} dx + \frac{\partial I}{\partial y} dy + \frac{\partial I}{\partial t} dt, \quad (2.3)$$

$$\frac{\partial I}{\partial x} dx + \frac{\partial I}{\partial y} dy + \frac{\partial I}{\partial t} dt = 0. \quad (2.4)$$

Dividindo os dois lados da equação por dt e simplificando, obtém-se as expressões a seguir:

$$\frac{\partial I}{\partial x} \frac{\partial x}{\partial t} + \frac{\partial I}{\partial y} \frac{\partial y}{\partial t} + \frac{\partial I}{\partial t} = 0, \quad (2.5)$$

$$f_x u + f_y v + f_t = 0, \quad (2.6)$$

onde:

$$f_x = \frac{\partial f}{\partial x}, f_y = \frac{\partial f}{\partial y}, \quad (2.7)$$

$$u = \frac{\partial x}{\partial t}, v = \frac{\partial y}{\partial t}. \quad (2.8)$$

Desse modo, a equação encontrada em 2.6 é conhecida como a equação do fluxo óptico, sendo f_x e f_y os gradientes nas direções x e y , respectivamente, e f_t a derivada parcial de primeira ordem de $f(x, y, t)$ em relação ao tempo. Os vetores de velocidade nas direções x e y são obtidos por u e v respectivamente. No entanto, como observado, só existe uma única equação linear para o cálculo dessas duas variáveis desconhecidas de velocidade. Esse problema é conhecido como Problema da Abertura e tem infinitas soluções. É nesse ponto que os diversos métodos da literatura se diferenciam com o objetivo de se calcular o fluxo óptico (HORN; SCHUNCK, 1981; LUCAS; KANADE, 1981; FARNEBÄCK, 2003).

O cálculo do fluxo óptico pode ser realizado de forma densa, onde se estima o vetor velocidade para cada *pixel* entre duas imagens (FARNEBÄCK, 2003; ZACH; POCK; BISCHOF, 2007; PÉREZ; MEINHARDT-LLOPIS; FACCIOLO, 2013; WEINZAEPFEL et al., 2013; WULFF; BLACK, 2015; KROEGER et al., 2016), ou pode ser selecionado um conjunto de *pixels* de interesse, como pontos de bordas ou contornos, para rastreamento na sequência de quadros (HORN; SCHUNCK, 1981; LUCAS; KANADE, 1981).

Dentre as técnicas para estimativa de fluxo óptico denso, Farneback (2003) aproximou a vizinhança de um pixel através de polinômios quadráticos. Os campos de deslocamento são estimados a partir dos coeficientes polinomiais, dependendo de como o polinômio se transforma em translação. Zach, Pock e Bischof (2007) computaram o fluxo óptico com base na regularização de variação total (TV) e na robusta norma L^1 . O método consiste de uma formulação dual da energia da TV e emprega uma etapa de limiarização eficiente. Weinzaepfel et al. (2013) combinaram um algoritmo de *matching* com uma abordagem variacional para o fluxo óptico. O algoritmo de *matching* proposto é implementado em uma arquitetura de seis camadas, intercalando convoluções e *max-pooling*, semelhante a redes convolucionais profundas. Wulff e Black (2015) mesclaram uma abordagem esparsa-densa para estimar o fluxo óptico. Os autores regredem um conjunto de recursos esparsos para fluxo óptico denso, utilizando um conjunto aprendido de campos de fluxo base de quadro completo para essa finalidade. Kroeger et al. (2016) estimaram o fluxo óptico em 3 etapas: pesquisa inversa de correspondências de *patch*, criação de campo de deslocamento denso por meio de agregação de *patch* ao longo de várias escalas e refinamento variacional.

Para exemplificar a estimativa de fluxo óptico, a Figura 5 apresenta uma aplicação em vídeo de microscopia. De modo que, a Figura 5a traz um quadro de vídeo da *Trichobilharzia cercaria* realizando seu movimento oscilante. A Figura 5b mostra o fluxo óptico

correspondente em forma de *needle map*, diagrama de agulhas em português. Um número reduzido de pontos foi selecionado para uma melhor representação do diagrama. Cada agulha, ou ponto, indica um vetor de velocidade obtido. Nesse caso, as regiões de maior intensidade dos vetores são aquelas em que a velocidade registrada foi maior.

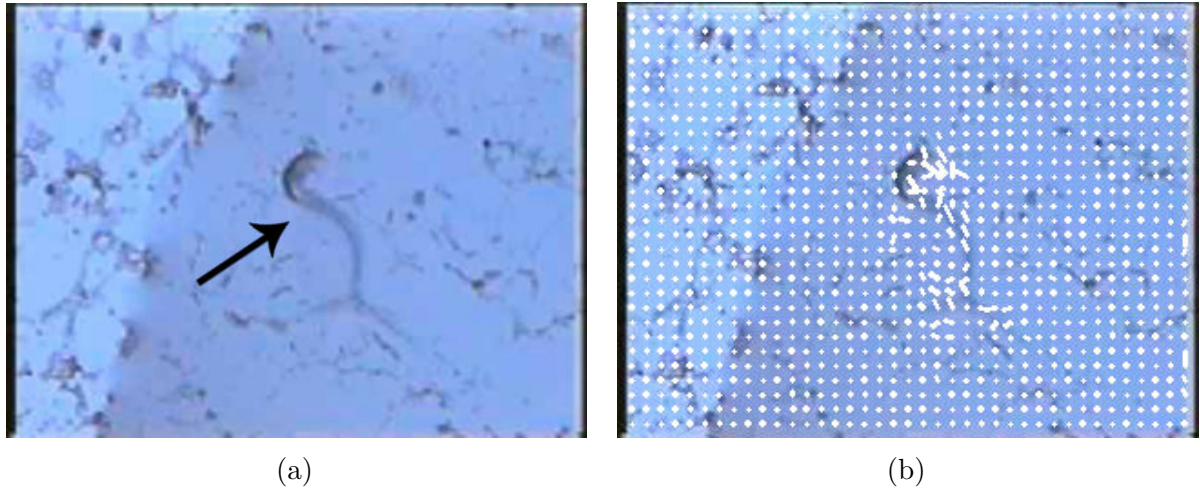


Figura 5 – Motilidade oscilante da *Trichobilharzia cercaria* registrada a uma taxa de reprodução de 15,63 quadros por segundo e ampliação de 100x. Adaptado de Linder, Varjo e Thors (2016). (a) Quadro de vídeo com seta indicando a localização do microrganismo e (b) diagrama de agulhas correspondente.

3 Metodologia

Neste capítulo é apresentada a metodologia desta pesquisa. Desse modo, a seção 3.1 introduz uma visão geral do procedimento experimental. A seção 3.2 demonstra como se deu a organização dos dados coletados para a realização dos experimentos. A seção 3.3 apresenta o método *bottom-up* para detecção de parasitos *T. cruzi* com base na saliência de movimento. A seção 3.4 informa os mecanismos de avaliação utilizados. Por fim, a seção 3.5 trata da otimização dos parâmetros necessários para a aplicação do método proposto.

3.1 Procedimento experimental

O procedimento experimental desta pesquisa é apresentado na Figura 6, onde são definidos os fluxos para otimização e validação do método proposto. Os fluxos são formados por interações dos módulos: organização de dados (A), detecção de parasitos (B), formas de avaliação (C) e otimização de parâmetros (D). Cada módulo corresponde a um conjunto de etapas que serão detalhadas nas seções seguintes.

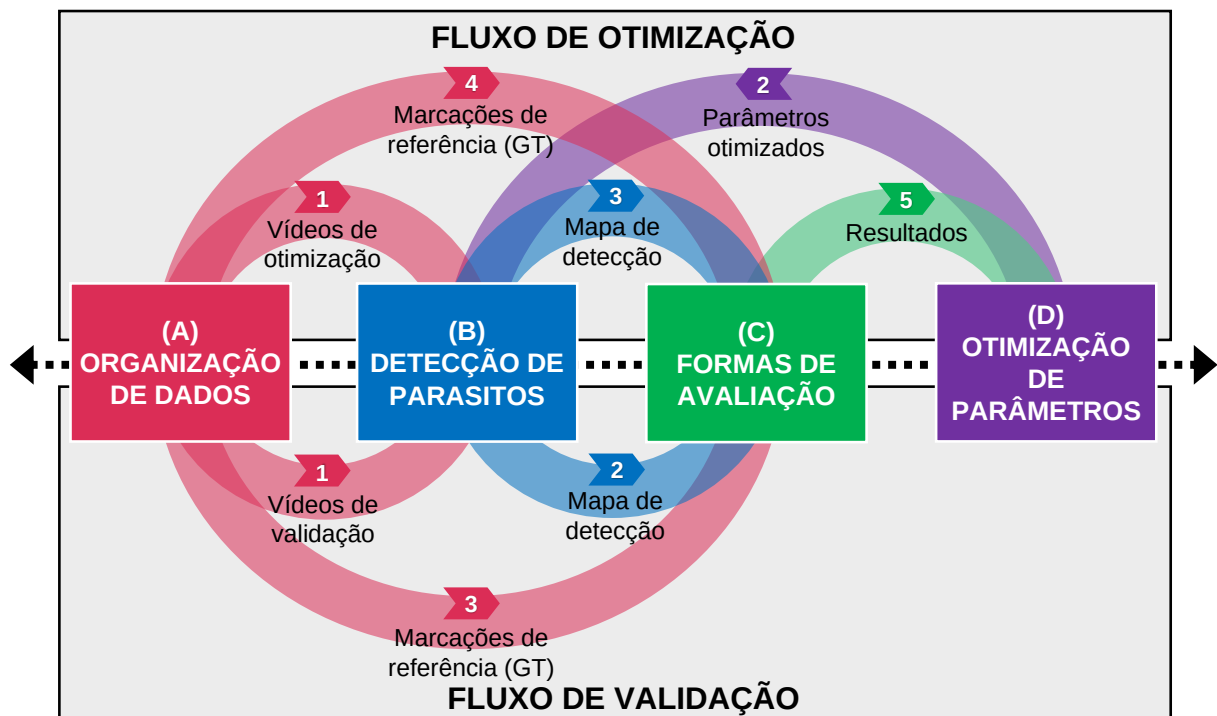


Figura 6 – Visão geral do procedimento experimental. Os fluxos de otimização (acima da seta pontilhada) e validação (abaixo da seta pontilhada) são formados por módulos (A-D) que interagem entre si. Os arcos sinalizam as interações entre pares. A numeração acima dos arcos indica a ordem no respectivo fluxo e as cores informam o módulo que endereçou o recurso.

3.2 Organização dos dados (A)

A Figura 7 apresenta as etapas do módulo A, são elas: 1) aquisição de vídeos de microscopia óptica; 2) seleção de trechos dos vídeos e 3) geração das marcações de referência, ou *ground truth* (GT), verdade terrestre em português. Este módulo interage com os demais encaminhando recursos de vídeo de otimização e validação para o módulo B, assim como, os dados do GT para o módulo C.

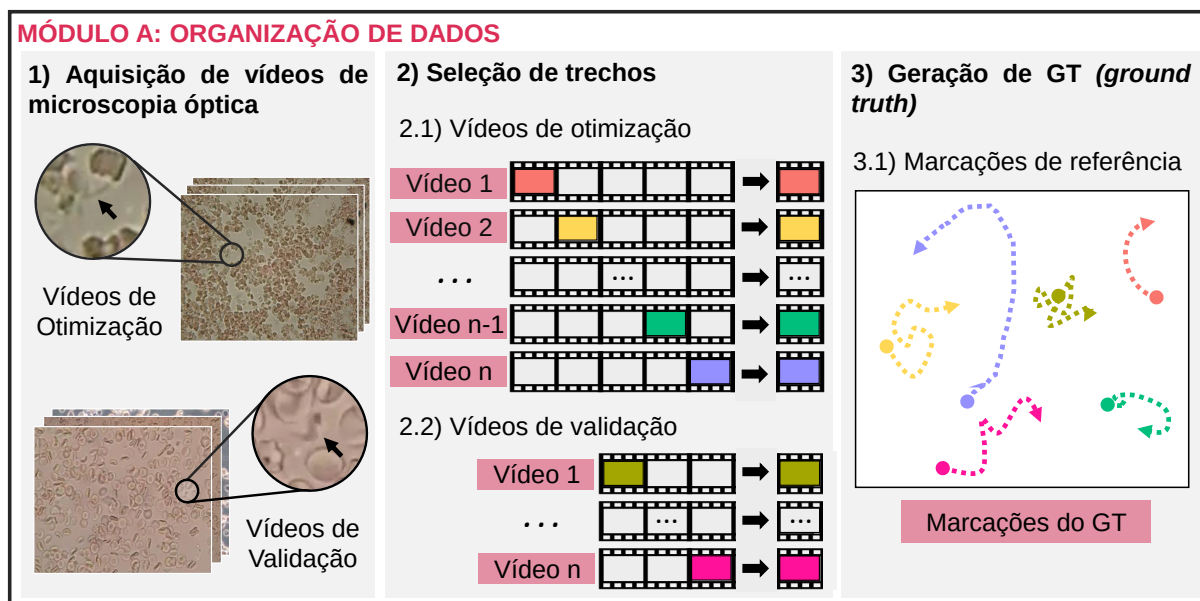


Figura 7 – Etapas do módulo organização de dados (A).

Os vídeos de microscopia óptica utilizados no fluxo de otimização foram obtidos em parceria com o Laboratório de Imunopatologia do Núcleo de Pesquisas em Ciências Biológicas da Universidade Federal de Ouro Preto (LIMP/NUPEB/UFOP). Eles foram gerados a partir de análises parasitológicas do *T. cruzi* com base no método de Brener (1962). Após a coleta em camundongos infectados, uma gota de sangue foi imediatamente colocada no centro de uma lâmina e coberta com uma lamínula sem a aplicação de corantes. Desse modo, a forma tripomastigota presente em sangue periférico foi observada através de um microscópio óptico Nikon Eclipse E200 e, em seguida, o campo de visão foi registrado com uma câmera SONY DSC-W320/W330 Cyber-shot instalada na lente ocular. Apesar dos ajustes durante a inspeção, a ampliação da ocular e da objetiva foram mantidas em 10x e 40x respectivamente. Os vídeos possuem taxa de reprodução de 29,97 *frames per second* (fps), quadros por segundo em português, e resolução de 640 x 480 *pixels*. Além disso, eles estão em formato de arquivo *audio video interleave* (.avi). A Figura 8 ilustra o procedimento laboratorial realizado na etapa de aquisição dos vídeos.

Para o fluxo de validação, um dos vídeos publicados por Martin et al. (2014) foi utilizado. Nesse trabalho, os autores investigaram possíveis implicações do armazenamento a frio de tecidos humanos infectados por *T. cruzi*. O vídeo mostra a natação de parasitos

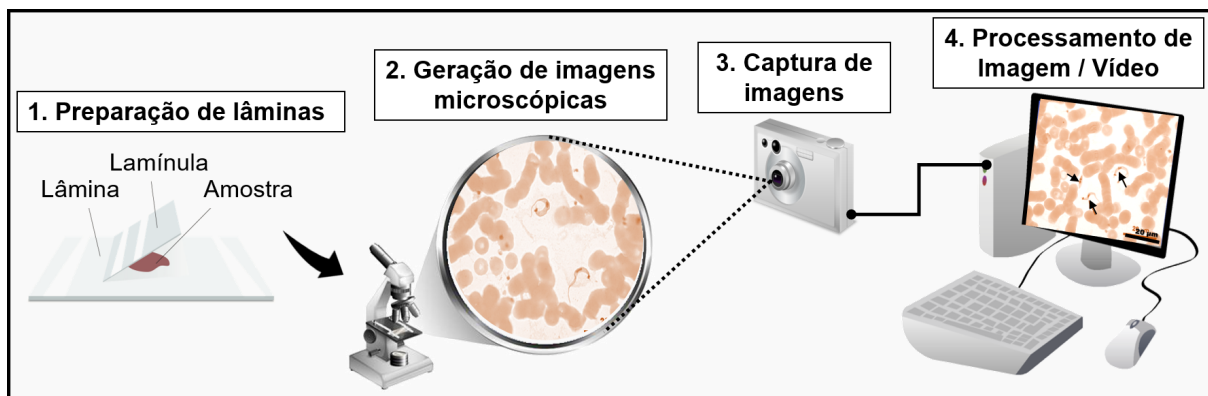
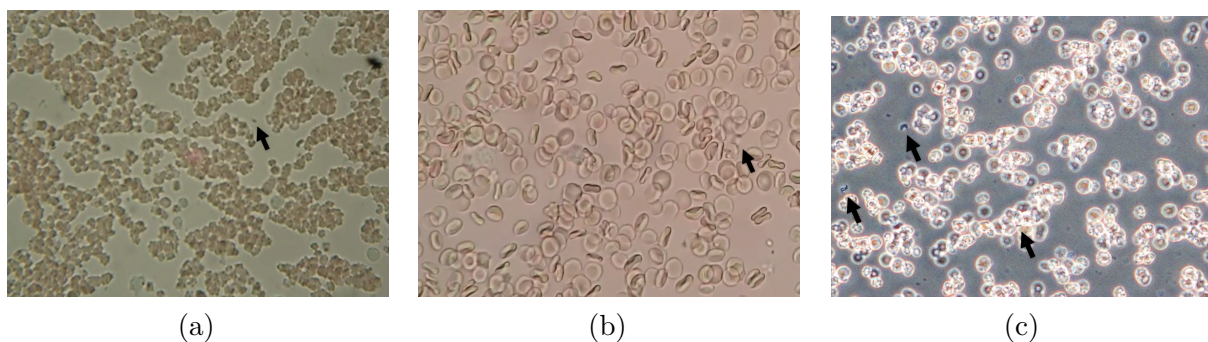


Figura 8 – Aquisição de vídeos de microscopia óptica de material biológico infectado.

entre glóbulos vermelhos após 24h à temperatura ambiente. O vídeo está em formato .avi com resolução de 400 x 300 *pixels*, taxa de reprodução de 15,00 fps e possui cor, textura e brilho que difere dos demais vídeos. Também foram realizados experimentos com um vídeo cedido pelo Laboratório de Biologia Parasitária da Universidade Nacional Autónoma do México (UNAM), onde tripomastigotas sanguíneos de *T. cruzi* foram observados a partir de um microscópio Olympus CH-2 com objetiva de 40x. O vídeo foi registrado com a câmera de um celular Samsung S9, focando através da ocular com *zoom* 2x. As configurações desse vídeo como formato, resolução e taxa de reprodução são as mesmas dos vídeos de otimização. Um vídeo sem a presença de parasitos obtido pelo LIMP também foi escolhido para compor a base de validação, servindo como estudo de controle. A Figura 9 mostra quadros de cada um dos vídeos utilizados nesta pesquisa.

Figura 9 – Base de vídeos utilizada nos experimentos. As setas indicam a localização dos parasitos *T. cruzi*. Os quadros de vídeo foram obtidos de (a) LIMP, (b) UNAM e (c) Martin et al. (2014).



A segunda etapa do módulo A trata da seleção de trechos dos vídeos para formar o conjunto de dados dos experimentos. Para isso, alguns trechos com duração de até 10 segundos e diferentes quantidades de parasitos foram escolhidos. Durante esse procedimento, optou-se por fragmentos que registrassem as situações de dinamismo descritas na seção 1.2. Um resumo das propriedades de cada trecho de vídeo, assim como dos aspectos dinâmicos percebidos, é apresentado na Tabela 1.

Tabela 1 – Detalhes da base de vídeos de microscopia óptica.

	Vídeo	Total de parasitos	Total de quadros	Duração (s)	Dinamismo
Otimização	P1	1	325	10	Movimento colateral, flutuante e PTZ
	P2	1	269	8	Movimento colateral, flutuante e PTZ
	P3	1	255	8	Movimento colateral, flutuante e PTZ
	P4	1	200	6	Movimento colateral, flutuante e PTZ
	P5	1	267	8	Movimento colateral e PTZ
	P6	1	202	6	Movimento colateral e PTZ
	P7	1	184	6	Movimento colateral e PTZ
	P8	1	189	6	Movimento colateral e PTZ
	P9	2	313	10	Movimento colateral, flutuante e PTZ
	P10	3	310	10	Movimento colateral, flutuante e PTZ
Validação	V1	3	74	4	Movimento colateral e flutuante
	V2	1	245	8	Movimento colateral, flutuante e PTZ
	V3	3	160	5	Movimento colateral, flutuante e PTZ
	V4	0	224	7	Movimento flutuante e PTZ

De acordo com a Tabela 1, os trechos de vídeos de otimização totalizam 2.514 quadros com duração de 1min18s, enquanto os vídeos de validação acumulam 703 quadros com duração de 24s. O número de parasitos *T. cruzi* varia de 0 a 3.

A última etapa deste módulo é a geração do GT. O objetivo é gerar marcações de referência que indiquem a localização dos parasitos em cada quadro de vídeo, possibilitando avaliar a assertividade do método proposto. Assim, o rastreamento manual dos parasitos foi realizado com o auxílio da ferramenta Tracker (BROWN, 2009), que permitiu extrair informações como posição, velocidade e aceleração conforme as marcações vão sendo feitas. Para que não ocorressem grandes distorções na posição final da marcação, tendo em vista o corpo alongado e flagelar do *T. cruzi*, um referencial foi definido como forma de padronizar esse procedimento. Nesse caso, uma circunferência de raio igual a 20 *pixels* foi suficiente para delimitá-los, sendo o centro dessa circunferência o referencial adotado para estimar a posição deles. Ao final, o conjunto de marcações das trajetórias dos parasitos permitiu gerar o GT para os experimentos.

A Figura 10 mostra as trajetórias sobrepostas dos parasitos identificados nos vídeos de otimização, assim como, as trajetórias de forma individual para cada parasito dos vídeos de validação. Em geral, observa-se a presença de movimentos disformes e algumas trajetórias concentradas que evidenciam confinamentos entre grupos de células. Além disso, verifica-se que as trajetórias não têm viés de centro na cena, o que é interessante em bases onde se busca avaliar o desempenho de métodos que realizam a detecção de objetos salientes (BORJI et al., 2015).

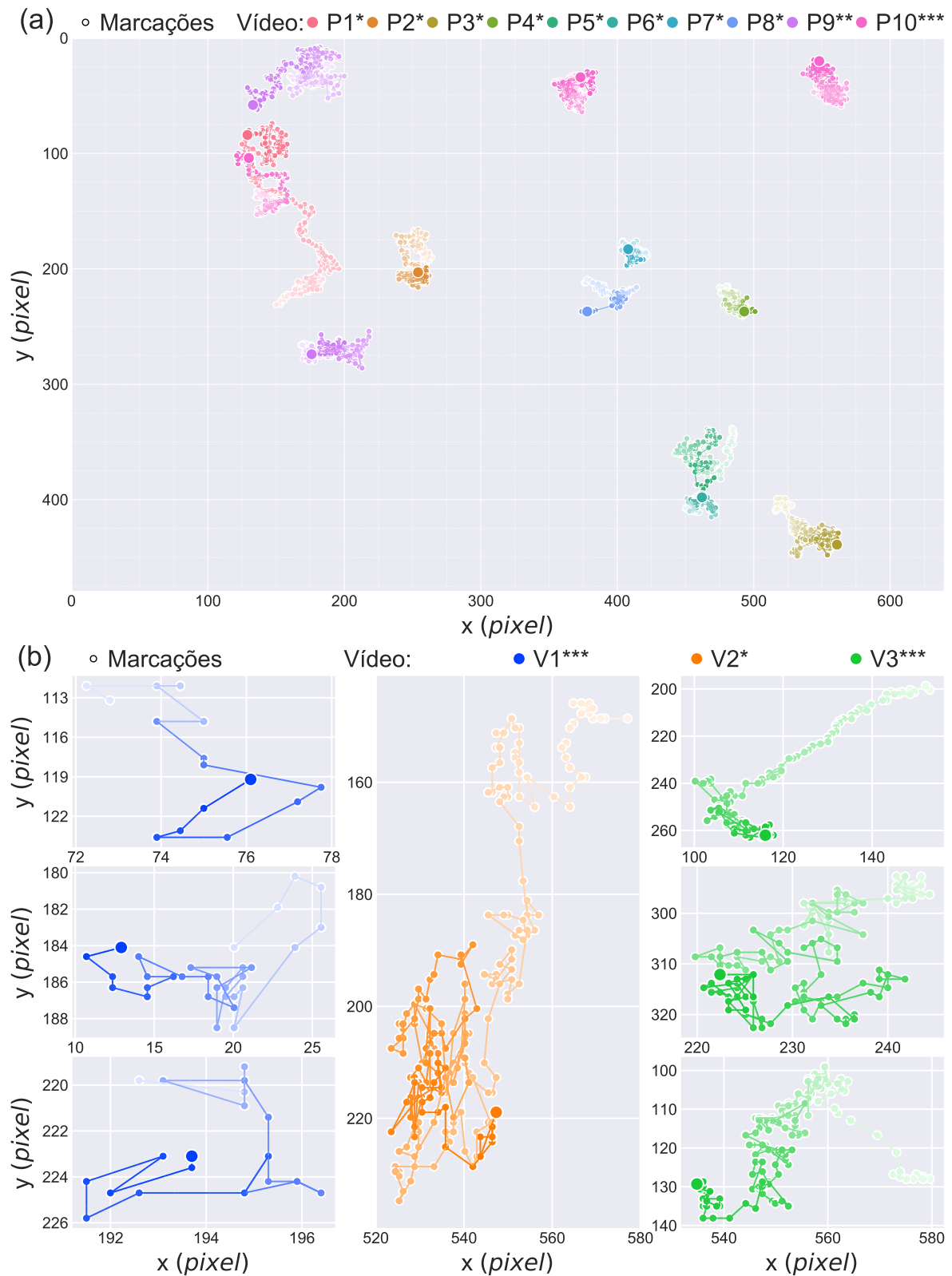


Figura 10 – Trajetórias estimadas dos parasitos identificados na base de vídeos. GT de marcações dos vídeos de (a) otimização e (b) validação. As cores sinalizam o vídeo no qual o parasito foi observado, variando de tonalidades mais claras (início da trajetória) às mais escuras (fim da trajetória) da cor. O maior marcador indica o fim da trajetória. Note que os parasitos dos vídeos P5 e P6 finalizam suas trajetórias no mesmo ponto em (a). O número de parasitos em cada vídeo é indicado por um asterisco (*).

3.3 Detecção de parasitos (B)

Este módulo trata da implementação da abordagem *bottom-up* para detecção de parasitos *T. cruzi* com base na saliência de movimento. Inspirado em aspectos da saliência visual, o movimento colateral desses microrganismos foi investigado por meio das seguintes etapas: 1) detecção da saliência de movimento, 2) detecção de vestígios e 3) refinamento. Essas etapas possuem subetapas, que utilizam técnicas específicas como indicado na Figura 11. Cada etapa produz um mapa, sendo o mapa de detecção a saída do método, ou seja, o recurso final a ser compartilhado com o módulo C. Além disso, este módulo recebe recursos de vídeo do módulo A e parâmetros otimizados do módulo D durante o fluxo de otimização. Os recursos são realçados na Figura 11 de acordo com o módulo que os endereçou, levando em consideração o padrão de cores da Figura 6.

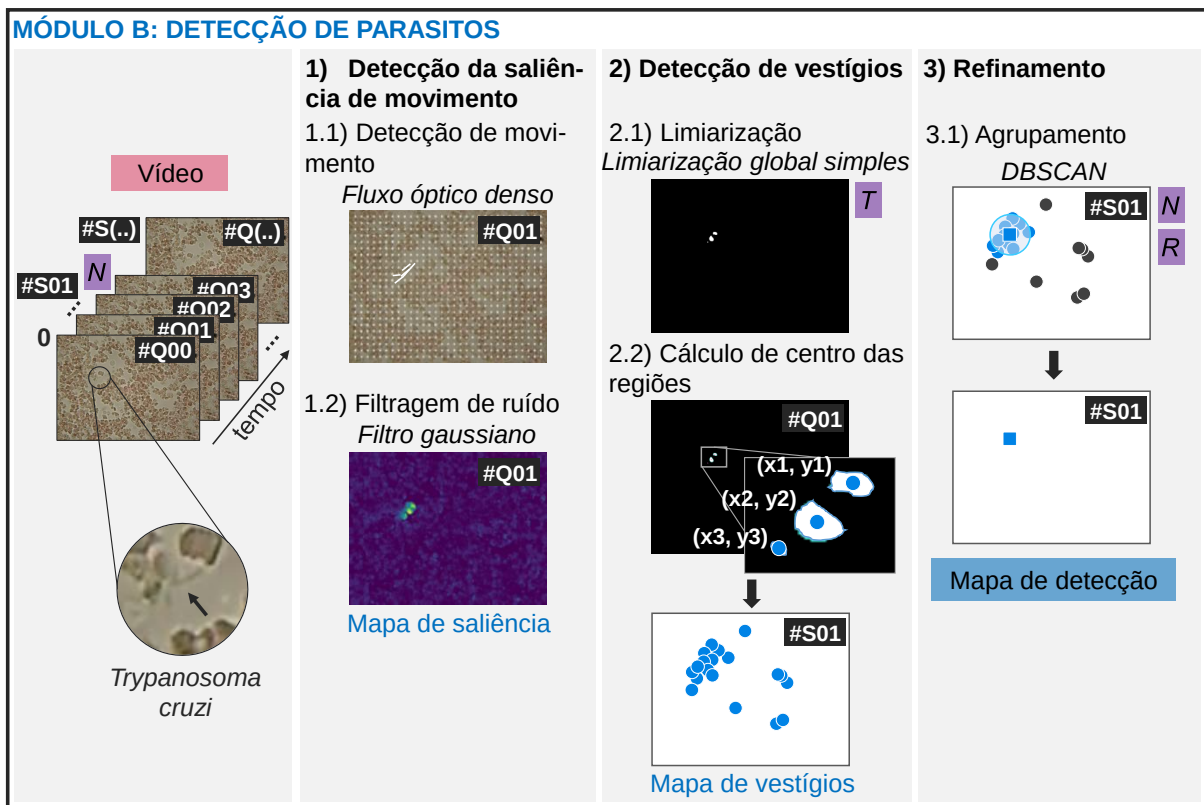


Figura 11 – Etapas do módulo detecção de parasitos (B).

Para tornar mais gerenciável o processamento, os vídeos são divididos em frações menores, condicionando a detecção em sequências de N quadros de vídeo. Outra vantagem é que o movimento de determinados parasitos pode passar despercebido em alguns quadros. Logo, a análise em blocos auxilia na detecção de movimento persistente, podendo indicar o movimento colateral do *T. cruzi*. À medida que o vídeo é processado em sequências de N quadros, o mapa de saliência é gerado com a execução em pares de quadros e, em seguida, os mapas de vestígios são calculados, acumulando pontos até que todos os vestígios da sequência estejam completamente definidos. Depois disso, o mapa de detecção é obtido.

O método foi implementado usando a linguagem Python 3.7, com auxílio da biblioteca OpenCV (BRADSKI, 2000). As subseções seguintes trazem detalhes sobre as técnicas e as configurações aplicadas em cada uma das etapas.

3.3.1 Detecção da saliência de movimento

Esta etapa inicia com a detecção de movimento para dois quadros consecutivos da sequência de vídeo. Dada a imprecisão da localização dos parasitos na cena, assim como, a aleatoriedade dos distúrbios ocasionados pelo movimento colateral do *T. cruzi*, optou-se por uma técnica de fluxo óptico denso. O método escolhido foi o de Farnebäck (2003), que se baseia em expansões polinomiais para a estimativa do movimento. Nesse caso, os polinômios são calculados para uma vizinhança de 5 *pixels* que é suavizada por uma máscara gaussiana com desvio padrão de 1,1 (valores sugeridos pela biblioteca OpenCV). Outro parâmetro importante é o tamanho médio da janela de deslocamento de *pixels*, onde valores maiores que 5 dificultam a detecção de movimentos de baixa intensidade. Assim, utilizou-se uma janela de tamanho 15 com o objetivo de descartar pequenos movimentos ocasionados por ajustes de foco ou dos elementos figurados do sangue.

É importante ressaltar que o movimento PTZ sensibiliza fortemente a componente de orientação do movimento, assim, apenas a componente de magnitude é considerada neste trabalho. Tovey, Hounslow e Wang (1995) recomendaram descartar informações de orientação quando a magnitude for menor que $2/h$, sendo h o espaçamento entre os *pixels*.

Para minimizar a ação do movimento flutuante, o gradiente de magnitude foi convertido em níveis de cinza (8 bits/*pixel*) e, em seguida, convoluído com uma máscara gaussiana de tamanho 5×5 e desvio padrão definido a partir dessa máscara, como demonstrado por Bradski e Kaehler (2008). O resultado será tão atenuado quanto maior for o desvio padrão. Para Sharmin e Brad (2012), o uso combinado do filtro gaussiano com fluxo óptico ajuda a obter melhores resultados na detecção de movimento. Assim, o gradiente de magnitude suavizado constitui o mapa de saliência final.

3.3.2 Detecção de vestígios

Nesta etapa é obtido o mapa de vestígios. Esse mapa é gerado a partir das coordenadas de centro das regiões de interesse detectadas no mapa de saliência. Para essa finalidade, dois procedimentos são necessários: a limiarização (B2.1) visando identificar as regiões salientes, e o cálculo das coordenadas de centro das regiões (B2.2) para obter os vestígios indicadores do *T. cruzi*.

A limiarização, ou binarização, é o método mais simples para segmentação de imagens. Ele consiste em segmentar a imagem em duas regiões específicas. Matematicamente, Gonzalez e Woods (2008) definiram uma imagem limiarizada $L(x, y)$ como em 3.1.

$$L(x, y) = \begin{cases} 1 & \text{se } f(x, y) > T \\ 0 & \text{se } f(x, y) \leq T. \end{cases} \quad (3.1)$$

Para o caso do mapa de saliência $f(x, y)$ em níveis de cinza obtido na etapa anterior, os *pixels* acima do *threshold* T , limiar em português, correspondem às regiões de movimento saliente e, abaixo desse valor, às regiões de fundo da imagem com pouco ou nenhum movimento. Sabendo que uma imagem em tons de cinza utiliza 8 bits para cada *pixel*, é possível obter um total de 256 níveis possíveis de representação de cinza, sendo que, o valor 0 equivale a cor preta e 255, a cor branca. Assim, o valor do limiar T deve ser escolhido com cautela dentro desse intervalo, para que não se descartem regiões de interesse, ou vestígios, referentes ao movimento colateral dos parasitos.

Uma análise prévia de histogramas dos mapas de saliência revelou distribuições com assimetria positiva, exibindo alta frequência nas intensidades de *pixels* mais escuros. Isso era esperado, uma vez que essa faixa de intensidade corresponde às regiões de fundo dinâmico. Essa característica unimodal dificulta a adoção de técnicas adaptativas de limiarização. Assim, aplicou-se a limiarização global simples, onde se define um limiar único T , para dividir a imagem em duas regiões distintas: as regiões de interesse, que recebem a cor branca e o fundo, que recebe a cor preta.

Após a limiarização, os centros das regiões de movimento saliente foram encontrados. Inicialmente, os contornos dessas regiões são identificados utilizando o algoritmo de Suzuki e Be (1985) e, em seguida, os centros são computados através do cálculo dos momentos, como demonstrado por Teague (1980).

As etapas listadas até aqui são realizadas para todos os N quadros da sequência de vídeo, gerando mapas de vestígios parciais, que, se acumulados, formam o mapa de vestígios da sequência em análise. Depois disso, o mapa de vestígios final é encaminhado para a próxima etapa, onde é realizado o refinamento dos pontos.

3.3.3 Refinamento

O mapa de vestígios obtido anteriormente dispõe tanto de pontos provocados pela motilidade do *T. cruzi* como de falsas detecções. Considerando a perspectiva de comportamento persistente para o movimento colateral, espera-se que as regiões de maior densidade de pontos correspondam a vestígios desses microrganismos, ao passo que, as de baixa densidade caracterizem falsos positivos. Como visto na descrição do problema (ver seção 1.2), o movimento do parasito afeta sua vizinhança e isso contribui para a existência de regiões de saliência fragmentadas, gerando pontos no mapa de vestígios para cada região identificada. Esse comportamento induz naturalmente a necessidade de se realizar um refinamento de pontos no mapa de vestígios, sendo esse o objetivo desta etapa.

Para fazer a distinção entre as regiões com base na densidade de pontos, aplicou-se o algoritmo de agrupamento *density based spatial clustering of application with noise* (DBSCAN) (ESTER et al., 1996; SCHUBERT et al., 2017), agrupamento espacial baseado em densidade de aplicações com ruído em português. Uma das principais vantagens desse algoritmo advém do fato de não ser necessário informar previamente o número de grupos desejados. A ideia chave do DBSCAN é que, para cada ponto de um agrupamento, a vizinhança para um dado raio R contém, no mínimo, certo número de pontos, ou seja, a densidade na vizinhança tem que exceder um limiar. Assim, o raio R e a densidade de pontos na vizinhança necessitam ser especificados. Nesse caso, um limiar aceitável para a densidade é considerar pelo menos $N/2$ pontos na vizinhança, indicando que um parasito consegue ser detectado em pelo menos metade dos quadros analisados na sequência de tamanho N . Ainda assim, é importante ressaltar que um parasito pode registrar várias ocorrências de regiões salientes em um mesmo quadro, o que aumenta suas chances de detecção devido ao acréscimo da densidade de pontos na vizinhança. Ao final, obtém-se pontos médios (centróides) para cada agrupamento encontrado, cada um indicando um suposto parasito detectado. Esses centróides constituem o mapa de detecção que é a saída deste método ao longo do tempo.

Os parâmetros de limiar T , raio R e total de N quadros da sequência de vídeo são estimados através do fluxo de otimização, conforme descrito no módulo D.

3.4 Formas de avaliação (C)

Este módulo apresenta os mecanismos de avaliação do método proposto, que ocorre em duas etapas: 1) análise quantitativa e 2) qualitativa. As interações com os demais módulos incluem o recebimento do mapa de detecção do módulo B e os dados do GT do módulo A. Além disso, este módulo é responsável pelo envio de resultados para a otimização dos parâmetros no módulo D durante o fluxo de otimização. A Figura 12 mostra detalhes das etapas listadas.

Inicialmente, a avaliação acontece a partir da comparação dos resultados obtidos no mapa de detecção e os dados do GT. É importante ressaltar que, ao final de uma sequência de N quadros, um ponto no mapa de detecção resume um conjunto de vestígios identificados pelo método. Para viabilizar a comparação com o GT, calculam-se pontos médios da trajetória dos parasitos compreendida na sequência em análise. Assim, um parasito terá sido detectado quando a distância entre um ponto no mapa de detecção e o ponto médio de suas marcações do GT for menor que o valor do parâmetro de raio R .

A análise quantitativa é realizada em termos de precisão, revocação e medida F . Nesse caso, o valor de *true positive* (TP), verdadeiro positivo em português, corresponde ao número de parasitos detectados corretamente. *False positive* (FP), falso positivo em

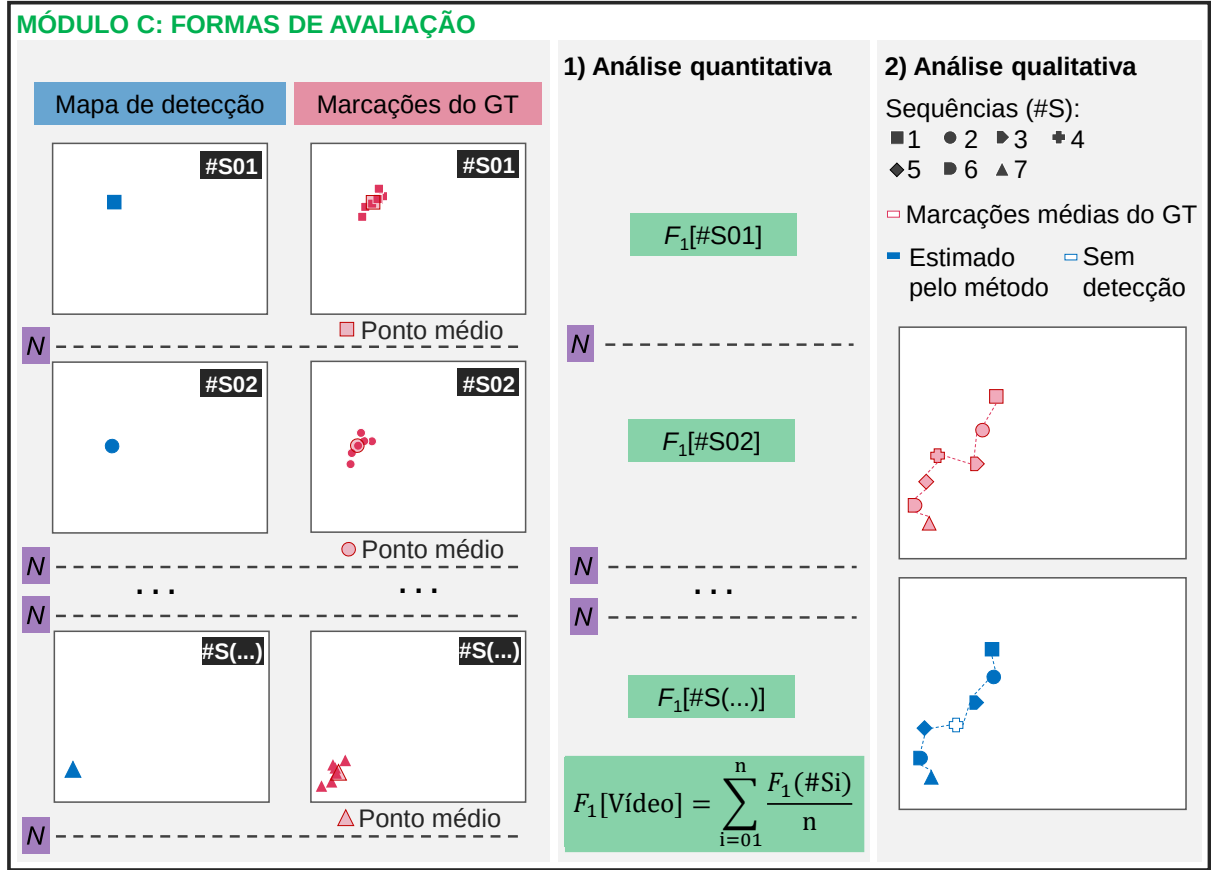


Figura 12 – Etapas do módulo formas de avaliação (C).

português, indica o número de parasitos detectados incorretamente e *false negative* (FN), falso negativo em português, representa o número de parasitos que não foram detectados. As equações abaixo demonstram as métricas utilizadas.

$$Precisão = \frac{TP}{TP + FP}, \quad (3.2)$$

$$Revocação = \frac{TP}{TP + FN}, \quad (3.3)$$

$$F_\beta = \frac{(\beta^2 + 1) \times Precisão \times Revocação}{\beta^2 \times Precisão + Revocação}, (0 \leq \beta \leq +\infty). \quad (3.4)$$

Como observado na equação 3.4, a formulação de F_β reúne em uma só métrica os resultados de precisão e revocação. De acordo com Chinchor (1992), o parâmetro β corresponde a um ajuste entre essas métricas, de maneira que, se $\beta < 1$, F_β enfatiza o valor de precisão atenuando a influência de falsos negativos, caso $\beta > 1$, F_β enfatiza o valor de revocação. Quando $\beta = 1$, F_1 equivale a média harmônica entre precisão e revocação, dando ênfase àquela cujo valor de desempenho é menor (WOLF et al., 2014). Neste trabalho, a métrica é ajustada como F_1 , onde os valores possíveis variam entre 0 e

1, de tal sorte que, quanto mais próximo o valor for de 1, melhor é a qualidade global do método de detecção.

Os valores de F_1 são calculados a cada sequência de N quadros e, ao final do vídeo, obtém-se os valores médios para as métricas apresentadas, como mostra a Figura 12. Avaliando os resultados ao longo do tempo, pode-se observar a ausência de detecção para determinado parasito em uma, ou várias sequências. A análise qualitativa a partir dos mapas de saliência, vestígios e detecção pode ajudar na compreensão das causas que influenciaram negativamente no valor de F_1 médio.

3.5 Otimização de parâmetros (D)

Este módulo trata da otimização dos parâmetros T , R e N que configuram o método proposto. As interações deste módulo limitam-se ao fluxo de otimização, como observado na Figura 6. Elas consistem no envio de parâmetros otimizados para o módulo B, assim como, no recebimento dos resultados da detecção a partir do módulo C.

Os parâmetros indicados são de natureza discreta e têm número finito de soluções, podendo assumir valores dentro de intervalos específicos. O limiar T , por exemplo, admite valores de 0 a 255, devido a transformação do gradiente de magnitude em uma imagem em níveis de cinza. Sabendo que as regiões salientes são identificadas por *pixels* de tonalidades mais claras próximas de 255, considera-se o intervalo de T entre 128, que corresponde a metade das 256 possibilidades, e 255. Isso reduz o espaço de busca para faixas de interesse do método proposto. No caso do raio R , as marcações do GT são obtidas com base em um referencial de 20 *pixels* de enquadramento do *T. cruzi*. Porém, o movimento colateral do parasito estimula seus vizinhos, fazendo com que seja necessário analisar além do raio estipulado. O limite então é definido em até 2x o referencial adotado. Para o parâmetro N , que define a quantidade de quadros da sequência, admite-se o intervalo de 2 a 30 quadros. O valor mínimo resulta da necessidade de se utilizar pelo menos 2 quadros para o cálculo do fluxo óptico e o valor máximo parece ser ideal para uma estimativa de detecção a cada segundo, dado que alguns vídeos são gerados com taxa de reprodução em torno de 30 fps. Além disso, o tempo de resposta do método tende a aumentar com valores maiores de N .

O intervalo dos parâmetros T (128–255), R (20–40) e N (2–30) contém 127, 20 e 28 possibilidades, respectivamente. O espaço de busca para esse conjunto de possibilidades é de $127 \times 20 \times 28 = 71.120$ combinações. Em uma eventual consulta exaustiva usando *grid search*, busca em grade em português, e considerando um suposto tempo de execução para cada combinação igual a duração dos vídeos de otimização, que equivale a 1min18s, ou 78s, seria necessário um tempo de execução total igual a $71.120 \times 78s = 5.547.360s$. Isso corresponde a cerca de 64 dias, o que indica a necessidade de aplicação de alguma abordagem que garanta a solução ótima em menor tempo e esforço computacional.

Diante desse cenário, a otimização dos parâmetros é realizada com a técnica dos Algoritmos Genéticos (AGs) (HOLLAND, 1975). Esses algoritmos são métodos de pesquisa probabilísticos inspirados em fundamentos da seleção natural e da genética. O princípio básico do funcionamento dos AGs é que um critério de seleção vai fazer com que o conjunto inicial de indivíduos gere indivíduos mais aptos depois de muitas iterações.

Seguindo a inspiração biológica, os AGs adotaram um conjunto de nomenclaturas para designar o seu funcionamento. Assim, o conjunto de soluções é conhecido como população. Os indivíduos que constituem uma determinada população são chamados de cromossomos e seus genes correspondem aos elementos (parâmetros) de uma solução. Eles estão posicionados em uma determinada localização, ou locus, e cada um deles tem um conjunto de possibilidades conhecido como alelos. As iterações do processo são denominadas de geração e a sequência de várias populações ao longo do tempo reflete a evolução. Além disso, existem os operadores genéticos que são os responsáveis pela obtenção de novas soluções e garantia da diversidade, são eles o cruzamento e a mutação.

Para aplicar um AG a determinado problema é necessário definir a representação das soluções, a função de aptidão, o método de seleção e os operadores genéticos. É ainda indispensável escolher valores para alguns parâmetros que controlam o funcionamento do AG, tais como, o tamanho da população e o número máximo de gerações, sendo o último necessário caso seja esse o critério de parada do algoritmo.

Modelando o problema de otimização em AG, cada gene representa um dos parâmetros do método. O locus e os alelos de cada um deles são, nesta ordem: T (128 – 255), R (20 – 40) e N (2 – 30). Considerando que grandes populações exigem muito esforço computacional, sobretudo quando a qualidade dos cromossomos é avaliada por meio do processamento em vídeo, alguns trabalhos estabelecem critérios para aplicar AGs com pequenas populações. Alander (1992) definiu que um valor entre n e $2n$ é ideal para esse tipo de problema, onde n é o comprimento de um cromossomo. De acordo com Grefenstette (1986), populações na faixa de 20 a 40 indivíduos têm um bom desempenho quando vinculado a uma alta taxa de cruzamento e baixa taxa de mutação, ou a uma baixa taxa de cruzamento associada a uma alta taxa de mutação. Schaffer et al. (1989) afirmaram que um bom desempenho para AGs pode ser obtido com populações de 20 a 30 cromossomos e taxa de cruzamento entre 0,75 e 0,95 e de mutação entre 0,005 e 0,01. Com base nesses trabalhos, optou-se por uma população de tamanho igual a 30 e taxas de cruzamento e mutação iguais a 0,95 e 0,05 respectivamente. A função de aptidão corresponde ao método de detecção proposto no módulo B, sendo o resultado das métricas no módulo C, ou seja, de F_1 , o valor de referência para avaliar a qualidade dos cromossomos.

A seleção é realizada através de torneios, onde o total de cromossomos participantes é outro parâmetro a ser definido. Miller, Goldberg et al. (1995) afirmaram que torneios com grande número de participantes aumentam a pressão seletiva resultando, muitas vezes,

em convergência prematura para ótimos locais. Lavinias et al. (2018) certificaram que nos últimos anos a maioria dos trabalhos tem utilizado um total de 2 ou 3 integrantes para as disputas. Desse modo, optou-se por 2 integrantes escolhidos aleatoriamente para participar do torneio, nos quais aquele com maior valor da função de aptidão será definido como progenitor na formação da próxima população.

O alcance de um determinado número de gerações tem sido um dos critérios tradicionalmente utilizados como condição de parada dos AGs (SAFE et al., 2004). Neste trabalho, definiu-se um total de 20 gerações. Dadas as características estocásticas dos AGs, o experimento é executado 10 vezes com as configurações informadas, permitindo que a análise deste módulo possa ser mais significativa. Cada execução é denominada de ciclo evolutivo, totalizando, portanto, 10 ciclos evolutivos por experimento.

A Figura 13 mostra a simulação de uma iteração de otimização dos parâmetros utilizando o AG definido. As etapas deste módulo são: 1) geração da população inicial; 2) avaliação de aptidão; 3) seleção; 4) cruzamento; 5) mutação e 6) nova população. Na primeira iteração, os valores iniciais para os genes T , R e N são inicializados aleatoriamente dentro dos alelos informados. Em seguida, todos os cromossomos são avaliados pela função de aptidão, resultando em um valor de F_1 para cada um deles. A etapa de seleção dos mais aptos se dá por torneio entre pares de cromossomos escolhidos aleatoriamente, aquele com maior valor de F_1 prossegue para as próximas etapas. Após isso, os cromossomos aptos são submetidos às operações genéticas. A primeira delas é o cruzamento, em que os cromossomos são agrupados em pares e um ponto de corte é escolhido aleatoriamente ao longo deles (BOOKER et al., 1997; EIBEN; SMITH, 2003), gerando descendentes a partir das sequências complementares de seus progenitores. A segunda operação genética é a mutação, que altera um gene específico do cromossomo, sendo um importante mecanismo para reintroduzir diversidade evitando que o método fique preso em ótimos locais (GOLDBERG, 1989). Terminada a primeira geração, a nova população formada é submetida novamente ao processo de avaliação da função de aptidão, seguindo as demais etapas, até que atinja o total de gerações estabelecido. É importante ressaltar que o tamanho da população se mantém constante em todas as etapas e, ao final, a população é constituída por indivíduos que maximizam o valor de F_1 para o método proposto.

Traçando um comparativo com a estimativa de tempo obtida pelo *grid search*, o AG com as configurações informadas maximizaria o resultado da detecção após 30 (população) x 20 (gerações) x 10 (repetições) x 78s (tempo de execução dos vídeos de otimização) = 468.000s, o que corresponde a aproximadamente 5 dias. Uma estimativa de tempo bem menor que a obtida pelo *grid search*.

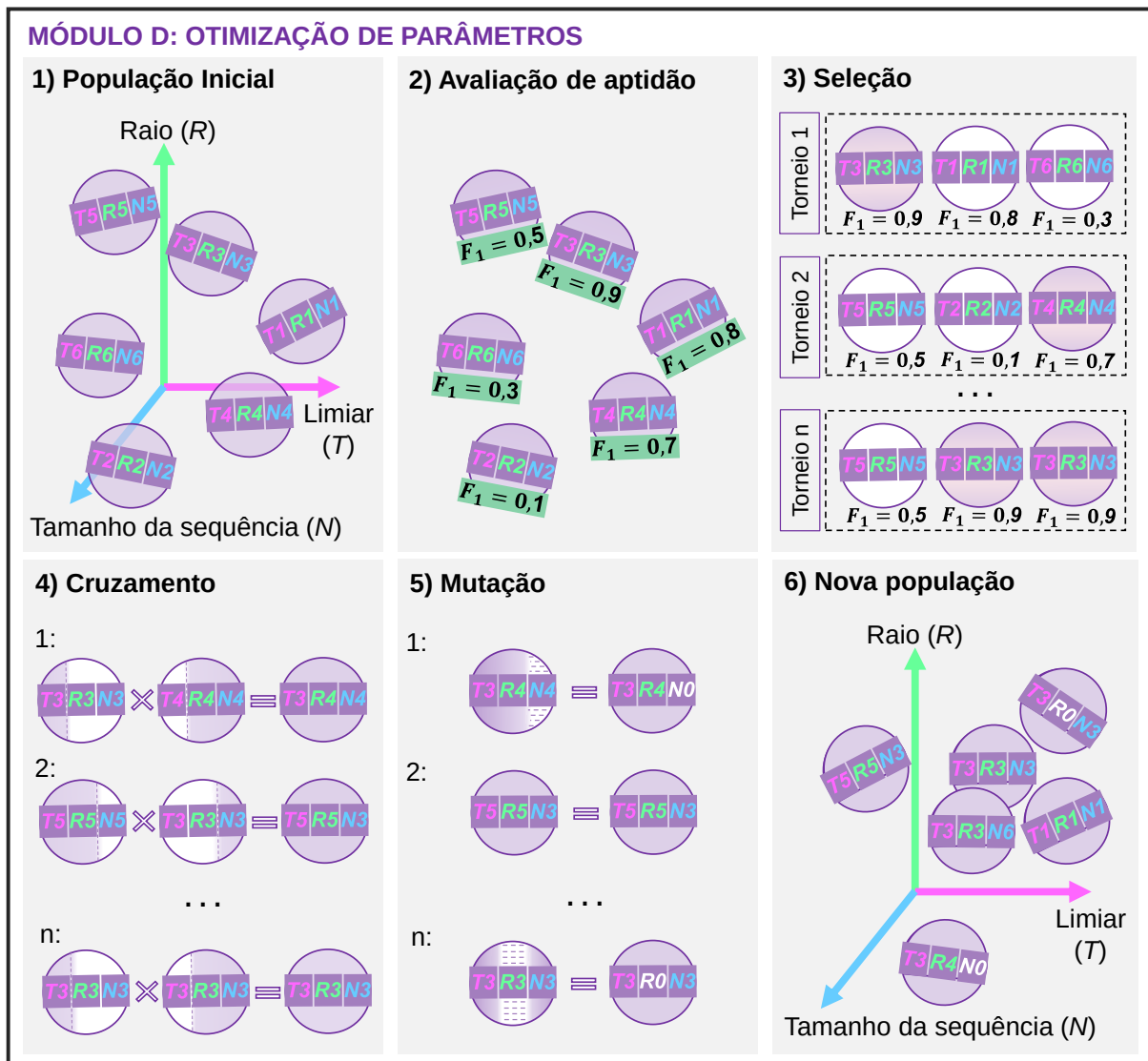


Figura 13 – Etapas do módulo otimização de parâmetros (D).

4 Resultados experimentais

Neste capítulo, os resultados do método proposto para análise parasitológica do *T. cruzi* em vídeos de microscopia óptica do sangue são apresentados e discutidos em detalhes. Os resultados alcançados nos fluxos de otimização e validação são analisados nas seções 4.1 e 4.2 respectivamente. É importante ressaltar que todos os experimentos foram realizados em um notebook equipado com processador Intel® Core™ i7-7500U, CPU 2.70GHz, 8GB de RAM e sistema operacional Microsoft Windows 10 (64 bits). Além disso, os algoritmos foram implementados em Python 3.7, com auxílio da biblioteca OpenCV (BRADSKI, 2000).

4.1 Otimização

No fluxo de otimização foram definidos os parâmetros T , R e N que maximizam a performance do método proposto. Aplicando AG, os parâmetros ótimos foram encontrados para cada vídeo individualmente. A Figura 14 apresenta um comparativo comportamental dos ciclos evolutivos, demonstrando a convergência dos valores de $F_{1\text{médio}}$ das populações em evolução ao longo das gerações. As oscilações percebidas ocorreram por causa dos operadores genéticos de cruzamento e mutação que alteram os genes, garantindo a manutenção da diversidade genética da população, mas também gerando cromossomos inaptos para a solução do problema. Como observado, os ciclos evolutivos dos vídeos com apenas um parasito convergem para valores próximos de 1,0 ainda nas primeiras gerações. Apenas os ciclos do vídeo P6 que convergem de forma mais atenuada, exibindo certa dispersão em relação a curva média, como o ciclo 8 entre as gerações 5 e 11. Os vídeos P9 e P10, com mais de um parasito cada, convergem para valores mais baixos de $F_{1\text{médio}}$ em relação aos vídeos com um parasito. Apesar disso, observa-se a ocorrência de ciclos com valores acima de suas curvas médias, conferindo valores de $F_{1\text{médio}}$ além de 0,8. Esses casos são bastante pertinentes, pois o objetivo da otimização é justamente investigar os cromossomos que atingiram $F_{1\text{máximo}}$, independente de geração ou ciclo evolutivo.

A Tabela 2 destaca as seguintes informações da otimização: $F_{1\text{máximo}}$ alcançado para cada vídeo de otimização, total de cromossomos distintos que obtiveram $F_{1\text{máximo}}$ e média global, com o respectivo desvio padrão, para a qual as curvas da Figura 14 convergiram na 20ª geração. A tabela mostra que os vídeos com apenas um parasito atingiram $F_{1\text{máximo}} = 1$. Além disso, há uma quantidade expressiva de cromossomos que conseguiram maximizar o valor de F_1 para esses vídeos. Os quantitativos indicam, por exemplo, mais de mil cromossomos que otimizaram a detecção ao máximo nos vídeos P1 e P5. Diferente disso, os vídeos com mais de um parasito registraram apenas uma

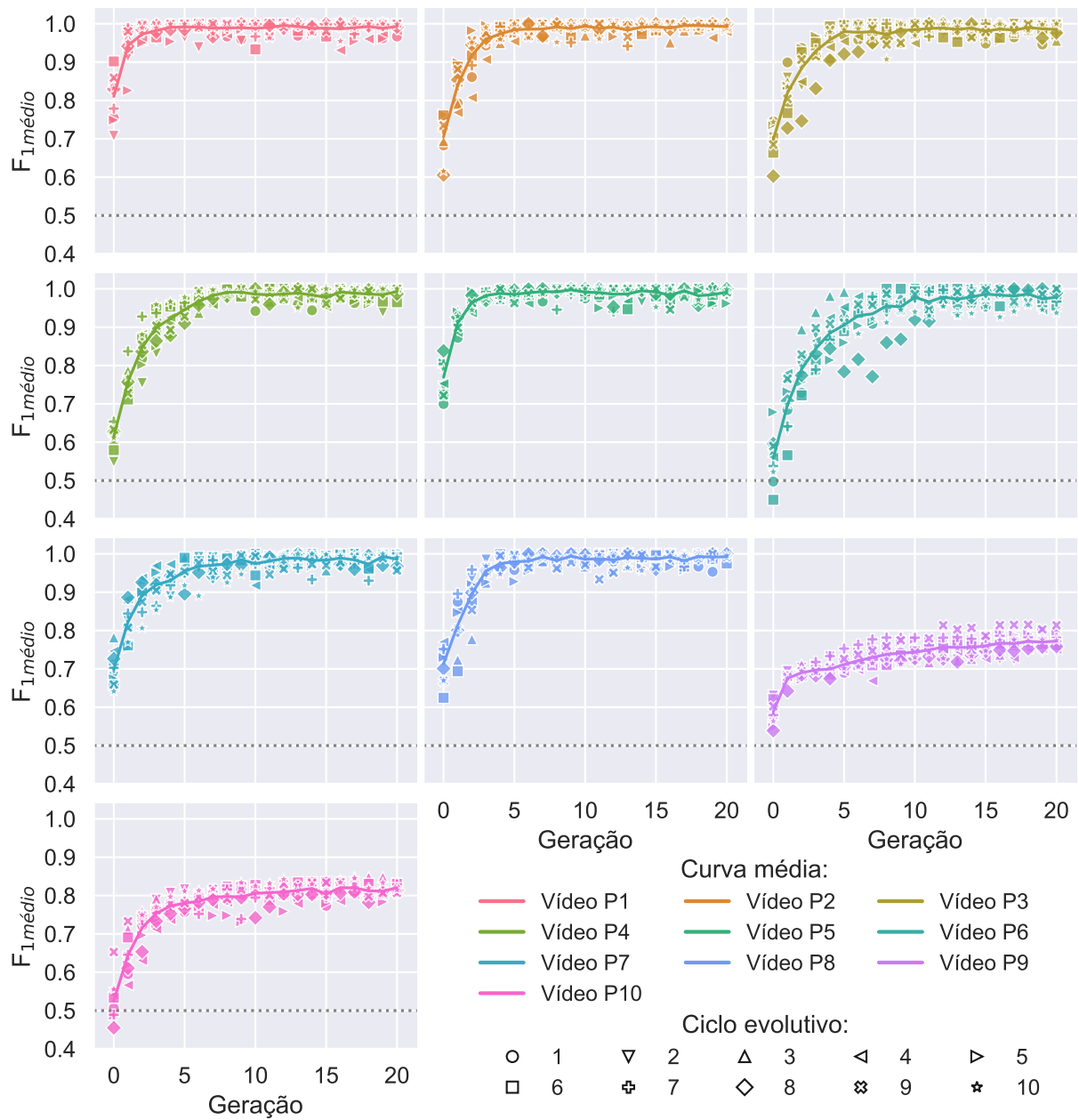


Figura 14 – Análise comportamental dos ciclos evolutivos ao longo das gerações. Os ciclos evolutivos são agrupados por cores específicas para cada vídeo. A série de um determinado ciclo evolutivo é sinalizada por marcadores distintos. Cada ponto na série equivale ao valor de F_1 médio ($F_{1\text{médio}}$) da população. As curvas correspondem à média global dos ciclos ao longo das gerações.

solução ótima para os valores de $F_{1\text{máximo}}$ obtidos. Observa-se também que o valor de $F_{1\text{máximo}}$ não corresponde necessariamente ao valor da curva média na última geração. Desse modo, o vídeo P9 foi o que apresentou maior distinção, variando cerca de 6,31% do valor de $F_{1\text{máximo}}$. Esse comportamento resulta da ação dos operadores genéticos, como abordado anteriormente na Figura 14. Ainda assim, o desvio padrão é relativamente baixo, evidenciando que os valores de $F_{1\text{médio}}$ das populações na 20ª geração tendem a estar próximos da curva média.

Tabela 2 – Resultados da otimização de parâmetros usando algoritmos genéticos.

Vídeo	$F_{1máximo}$	Total de cromossomos	Convergência (média $\pm$ desvio padrão)
P1	1,000	1.490	0,993 $\pm$ 0,011
P2	1,000	776	0,993 $\pm$ 0,007
P3	1,000	823	0,985 $\pm$ 0,015
P4	1,000	512	0,993 $\pm$ 0,011
P5	1,000	1.433	0,991 $\pm$ 0,011
P6	1,000	212	0,978 $\pm$ 0,021
P7	1,000	540	0,986 $\pm$ 0,015
P8	1,000	928	0,992 $\pm$ 0,008
P9	0,824	1	0,772 $\pm$ 0,021
P10	0,848	1	0,821 $\pm$ 0,010

O total de cromossomos na Tabela 2 leva em consideração apenas cromossomos distintos que fazem parte das soluções viáveis. Os cromossomos descendentes com genes iguais a progenitores já computados foram descartados. Dada a quantidade de soluções obtidas para os vídeos em geral, deve-se encontrar um cromossomo que generalize a detecção do método proposto. Nesse caso, a análise dispersiva dos genes que compõem os cromossomos ótimos é indispensável. Assim, a Figura 15 apresenta a variabilidade dos genes T , R e N nesses cromossomos.

A moda das distribuições na Figura 15 expressa genes de grande variabilidade de combinações. Consequentemente, as modas podem configurar arranjos de parâmetros que são bastante promissores para a aplicação. Em algumas situações, intervalos em torno da moda apresentam baixa dispersão, como ocorre em T para os vídeos P3 e P5. Esse comportamento pode ajudar na avaliação da representatividade de cada moda, dado que vizinhanças densas sugerem modas localizadas em faixas de maior relevância. Outro aspecto a ser analisado no gene T é uma certa divergência no valor das modas de acordo com a quantidade de parasitos. No caso dos vídeos com mais de um parasito, uma única ocorrência não permite avaliar a dispersão. Para isso, a Figura 16 traz uma segunda versão da variabilidade genética das soluções viáveis, considerando uma margem de erro de 5% no valor de $F_{1máximo}$.

A análise proposta na Figura 16 mostra que a moda dos vídeos com apenas um parasito permanece próxima dos valores apresentados anteriormente na Figura 15. A adição de novos cromossomos devido a tolerância estabelecida permite ter mais clareza quanto a dispersão nos genes para os vídeos com mais de um parasito. Nesse caso, a nova conformação em R e N tende a seguir a mesma variabilidade encontrada nos vídeos com apenas um parasito, ao contrário do gene T , que apresenta grupos densos isolados para o vídeo P9 e espalhamento concentrado em torno da moda para o vídeo P10. Ainda assim, a moda do vídeo P10 desloca-se em direção à moda dos demais vídeos.

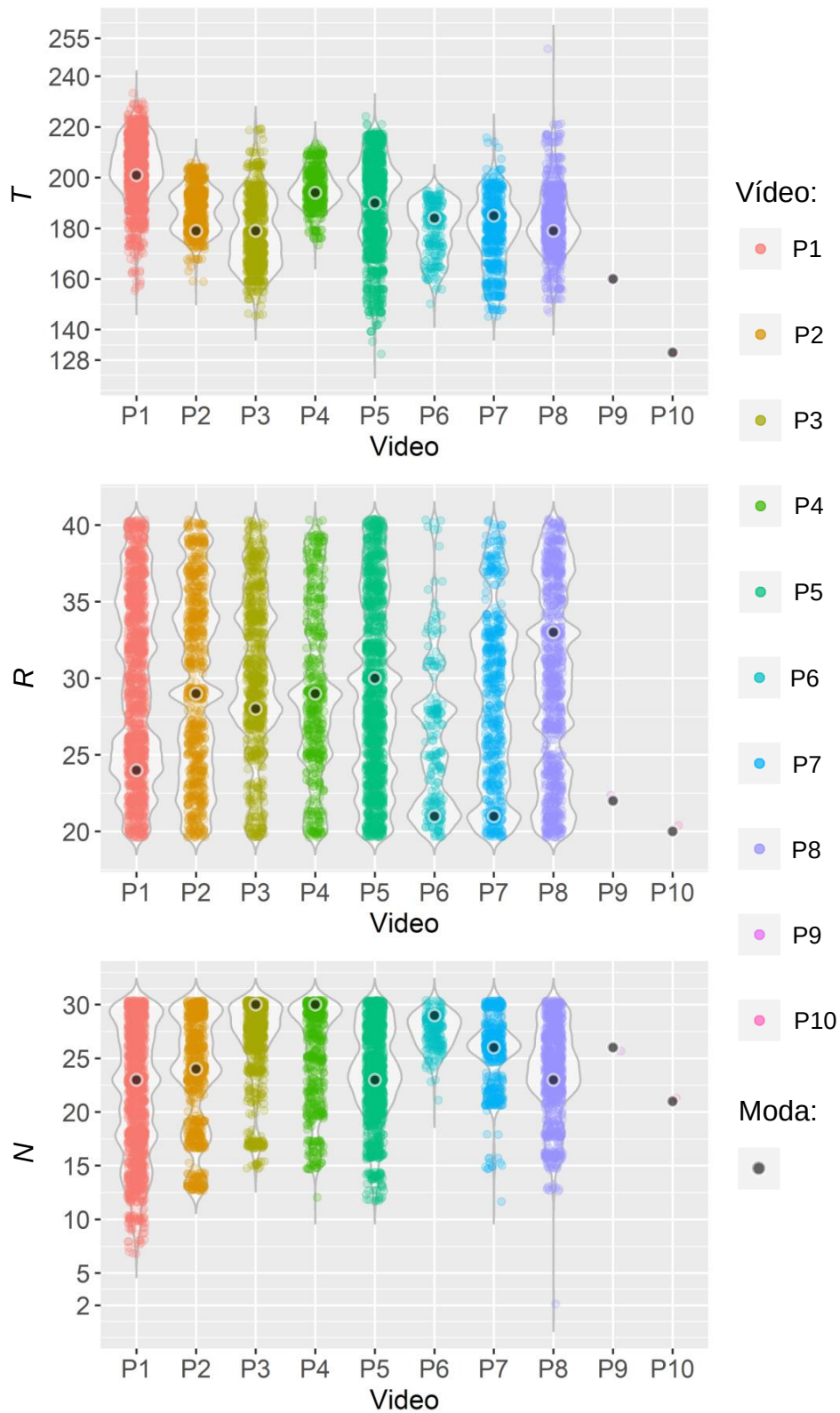


Figura 15 – Parâmetros obtidos com a otimização por algoritmo genético. A variabilidade dos genes T , R e N é apresentada de forma separada. As ocorrências são agrupadas por cores específicas para cada vídeo. Os pontos de tonalidade mais escura indicam a moda das ocorrências nos cromossomos ótimos. As regiões densas da distribuição são enfatizadas através de curvas em torno dos pontos (via largura).

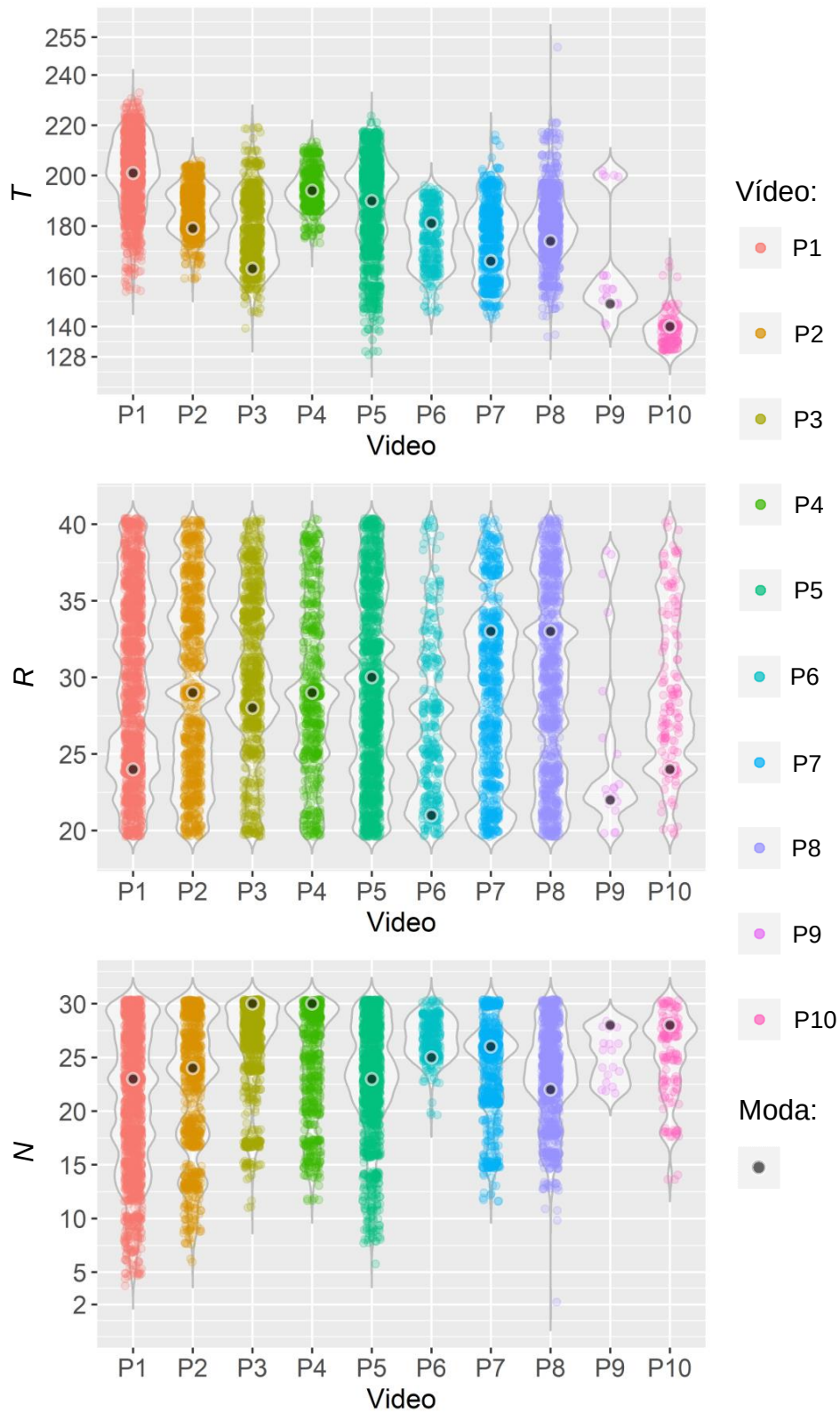


Figura 16 – Parâmetros obtidos com a otimização por algoritmo genético. A variabilidade dos genes T , R e N é apresentada de forma separada, considerando uma margem de erro de 5% nos resultados de $F_{1\text{máximo}}$. As ocorrências são agrupadas por cores específicas para cada vídeo. Os pontos de tonalidade mais escura indicam a moda das ocorrências nos cromossomos ótimos. As regiões densas da distribuição são enfatizadas através de curvas em torno dos pontos (via largura).

Os resultados apresentados na Figura 16 evidenciam que, no conjunto de soluções ótimas, os parâmetros tendem a convergir para um valor que generaliza o método. Desse modo, pode-se obter arranjos de parâmetros que favoreçam a generalização desejada. A Figura 17 apresenta a distribuição das modas ordenadas para cada parâmetro. Além disso, a mediana é calculada, visando obter um arranjo de parâmetros geral que equilibre as divergências observadas entre os vídeos com diferentes quantidades de parasitos.

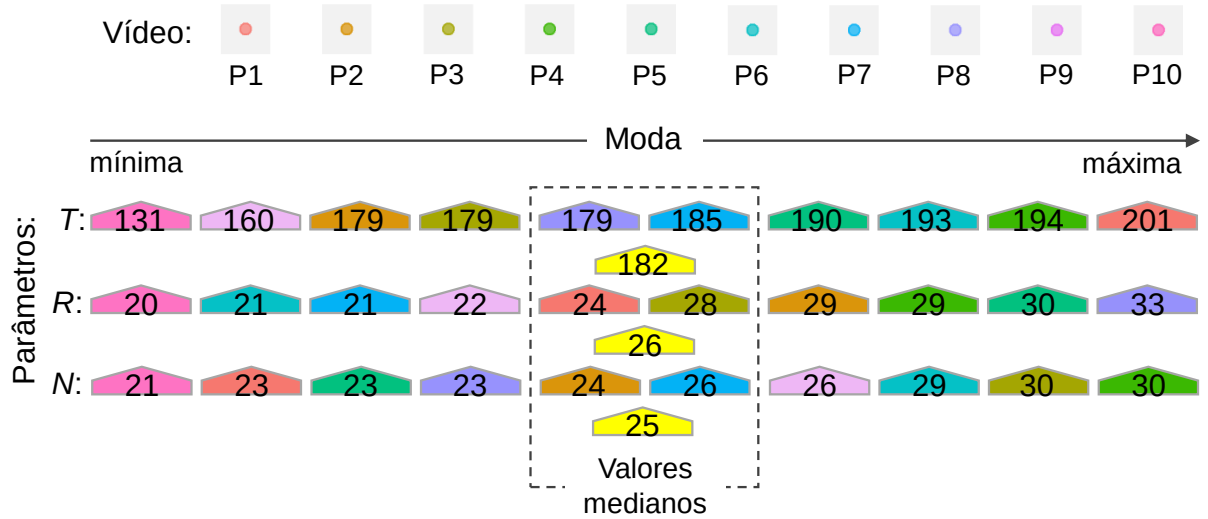


Figura 17 – Arranjos de parâmetros candidatos a generalização da detecção. As modas encontram-se ordenadas, indicando a mediana da distribuição na cor amarela.

A próxima seção apresenta uma análise da performance do método de detecção proposto utilizando os arranjos de parâmetros apresentados na Figura 17.

4.2 Validação

Os resultados obtidos nos experimentos com os vídeos de validação são apresentados nesta seção. Desse modo, a subseção 4.2.1 propõe uma análise quantitativa da detecção, indicando o arranjo de parâmetros ótimo que maximiza as métricas. A subseção 4.2.2 apresenta uma análise qualitativa dos resultados, dando suporte à validação do método. Por fim, a subseção 4.2.3 traça um comparativo entre as configurações recomendadas para estimativa de fluxo óptico denso e outras técnicas da literatura.

4.2.1 Análise quantitativa

A análise quantitativa realiza-se a partir das métricas listadas no módulo C do procedimento experimental, onde foram estabelecidas as formas de avaliação (ver seção 3.4). Os arranjos de parâmetros formados pela moda e mediana da distribuição serviram para configurar o método nestes novos experimentos. O desempenho nos vídeos de validação é apresentado em termos de F_1 na Figura 18 e precisão e revocação na Figura 19.

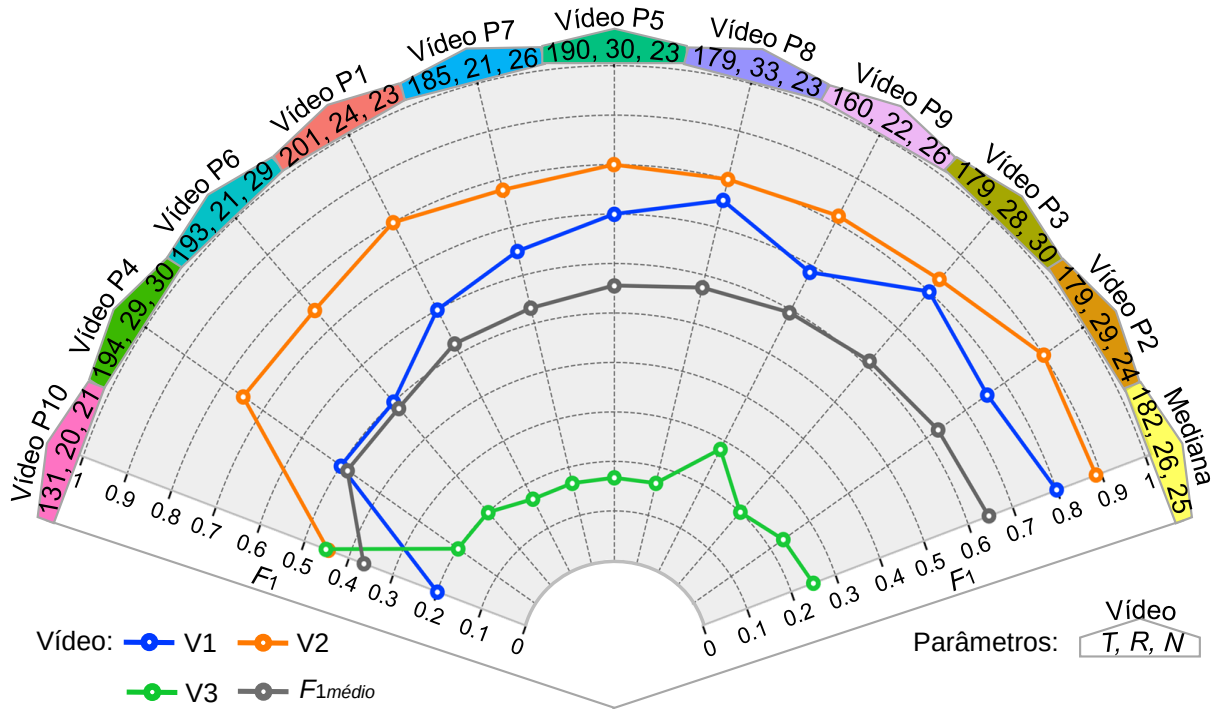


Figura 18 – Análise quantitativa da detecção com base na métrica F_1 . Cada eixo radial equivale a um experimento, onde os arranjos de parâmetros na extremidade superior indicam a configuração do método. Os experimentos com os vídeos de validação são representados por linhas de cores específicas. As linhas cruzam os eixos conforme o valor de F_1 obtido. A linha em tom mais escuro corresponde ao valor médio da métrica, organizando os eixos de forma crescente.

Os eixos radiais iniciais são marcados por uma maior oscilação nos valores de F_1 . Ao longo dos experimentos, observa-se que a métrica vai adquirindo certa estabilidade. Dentre os arranjos de parâmetros avaliados na Figura 18, o arranjo do vídeo P10 obteve o resultado mais baixo de F_1 . Apesar do pico na métrica revocação, motivado sobretudo pela performance no vídeo V3, a detecção foi bastante imprecisa como evidenciado na métrica precisão. Nesse caso, o baixo valor do limiar T contribui para que mais regiões sejam consideradas salientes, gerando pontos indesejados no mapa de vestígios. Esses pontos correspondem a falsos positivos que interferem negativamente no valor de precisão. O mesmo comportamento também pode ser observado para o arranjo de parâmetros do vídeo P9, que só não ocupa posições em eixos mais baixos no gráfico de F_1 por conta do desempenho na métrica precisão ter sido um pouco melhor.

De fato, valores maiores para o limiar T contribuem para uma filtragem mais significativa das regiões de movimento saliente. No entanto, quando esse valor torna-se muito alto, pode-se encontrar dificuldades na localização do $T. cruzi$, uma vez que os vestígios indicadores da presença dos parasitos são mais escassos. Como pode ser visto na Figura 18, os arranjos com os maiores valores de T encontram-se em eixos radiais posicionados a esquerda no gráfico. É o caso dos arranjos dos vídeos P1 e P4.

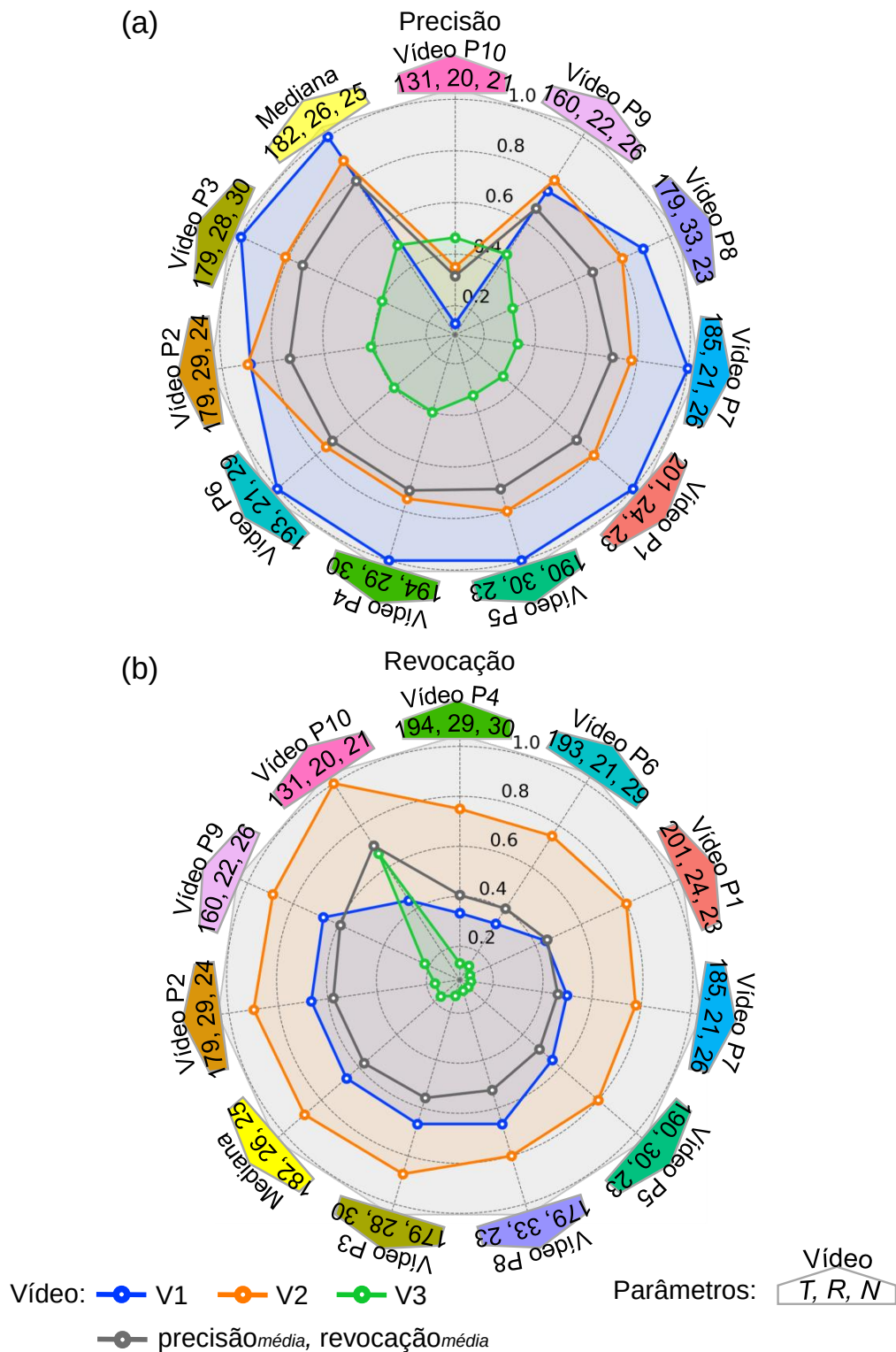


Figura 19 – Análise quantitativa da detecção com base nas métricas (a) precisão e (b) revocação. Cada eixo radial equivale a um experimento, onde os arranjos de parâmetros na extremidade indicam a configuração do método. Os experimentos com os vídeos de validação são representados por linhas de cores específicas. As linhas cruzam os eixos conforme o valor obtido na métrica em análise. A linha em tom mais escuro corresponde ao valor médio da métrica, organizando os eixos de forma crescente.

O arranjo de parâmetros formado pela mediana obteve a melhor performance da métrica F_1 , além do melhor desempenho de precisão_{média}. Esse resultado indica que essa configuração é a que propicia uma detecção mais generalista para o método. Os resultados quantitativos para esse arranjo são apresentados em detalhes na Tabela 3, que mostra valores de F_1 acima de 0.8 para os vídeos V1 e V2. Ao contrário disso, o vídeo V3 obteve desempenho inferior nos experimentos com os arranjos em geral.

Tabela 3 – Resultados da detecção de parasitos *T. cruzi* com base na saliência de movimento colateral.

	Precisão	Revocação	F_1
Vídeo V1	1.000	0.667	0.800
Vídeo V2	0.889	0.889	0.889
Vídeo V3	0.500	0.167	0.250

Os resultados do vídeo V1 conferem ao método certa flexibilidade no trato com diferentes propriedades visuais, dado que esse vídeo é o que apresenta maior distinção de cor, textura e brilho em relação aos demais. O vídeo V1 alcançou valor máximo para a métrica precisão, como mostra a Tabela 3. Além disso, esse vídeo obteve a série de maior área preenchida para essa mesma métrica no gráfico da Figura 19.

O vídeo V2 registra um parasito *T. cruzi* em uma cena bastante complexa. Observa-se intenso movimento flutuante de elementos figurados do sangue, além de trechos de movimento de PTZ ocasionados por conta das variações de iluminação e ajustes de foco das lentes objetivas do microscópio. Mesmo apresentado essas condições adversas, o vídeo V2 obteve a maior área de preenchimento no gráfico da métrica revocação. No experimento com o arranjo de parâmetros da mediana, esse vídeo alcançou o melhor desempenho entre os vídeos de validação, como mostra a Tabela 3. Apesar dos vídeos V2 e V3 possuírem características semelhantes, o desempenho no vídeo V3 não foi o mesmo.

O vídeo V3 apresenta uma quantidade maior de parasitos e ampliação reduzida do campo de visão do microscopista em relação ao vídeo V2. Essa última característica confere menor contraste aos parasitos, dificultando a detecção de seu movimento. Por outro lado, o movimento dos elementos figurados do sangue é crítico. De modo que, esse comportamento dinâmico pode ser entendido, em parte, como uma reação à pressão sobre o fluido entre lâmina e lamínula, ocasionando certo movimento em cascata das células. Nesse cenário de grande movimentação de células livres e aglomerados, a distração do movimento flutuante é previsível, tornando-se mais saliente que o movimento colateral do parasito em alguns trechos de vídeo. Em algumas situações, as colisões do parasito com células flutuantes amortecem o próprio movimento dele, diminuindo a ocorrência de vestígios que poderiam auxiliar na detecção. Para completar esse cenário caótico, observa-se ainda pequenos ajustes que ocasionam tremulações na câmera, além de mudanças de iluminação. Sabe-se

que, por hipótese, o cálculo do fluxo óptico assume que a intensidade dos *pixels* entre uma imagem e outra, em um intervalo de tempo pequeno, é aproximadamente constante. O não cumprimento dessa premissa também contribui para o resultado apresentado na Tabela 3.

4.2.2 Análise qualitativa

Esta subseção apresenta um estudo qualitativo da detecção do método configurado com o arranjo de parâmetros da mediana, ou seja, $T = 182$, $R = 26$ e $N = 25$. A análise é realizada com base nos mapas definidos pelo módulo B do procedimento experimental (ver seção 3.3). Nessa perspectiva, a Figura 20 apresenta um painel comparativo da detecção nos vídeos de validação, relacionando os mapas de saliência, vestígios e detecção.

O mapa de saliência do quadro #Q25 do vídeo V1 apresenta indícios da presença dos dois parasitos localizados mais à esquerda na cena, ao contrário do parasito mais ao centro, que não consegue ser identificado no mapa de saliência. Esse parasito não reúne vestígios suficientes para superar a etapa de refinamento do método e, assim, ser estimado no mapa de detecção. Analisando a cena, ele está envolvido por elementos figurados do sangue que aparentemente não são influenciados pelo seu movimento colateral.

A Figura 20 também mostra que o método conseguiu identificar o parasito presente no vídeo V2 como saliente. Esse caso é desafiador devido o complexo fundo dinâmico ocasionado pelo movimento flutuante e PTZ. Os movimentos distratores distribuídos pela cena ocasiona muitos pontos no mapa de vestígios. Ainda assim, o método conseguiu identificar o parasito corretamente, como indicado no mapa de detecção.

Os mapas de vestígio e detecção do vídeo V3 revelam um fundo mais dinâmico que o do vídeo V2. Observa-se ainda que a maioria das regiões salientes no Vídeo V3 estão localizadas nas extremidades superior esquerda e inferior direita, resultando em alta incidência de pontos no mapa de vestígio da sequência #S01. Analisando a cena, essas extremidades apresentam deslocamento acentuado de células sanguíneas que se movem e causam falsos positivos. Nenhum dos parasitos indicados no mapa de detecção corresponde aos do GT, afetando negativamente as métricas. É importante ressaltar que a detecção do parasito pode ocorrer em outras sequências, o que explica os resultados da Tabela 3.

O método também foi avaliado em um vídeo sem a presença de parasitos (vídeo V4), onde o dinamismo na cena é ocasionado pelo movimento flutuante e PTZ. Os experimentos indicam a existência de 8 sequências de vídeo com 25 quadros cada, sendo notificados apenas dois falsos positivos que ocorreram na sequência #S06, como mostra a Figura 21a. Essa sequência obteve o maior número de vestígios detectados, atingindo uma média de 7,64 pontos por quadro de vídeo. O mapa de detecção da Figura 21b mostra a dispersão desses pontos e a localização dos vestígios incorretamente associados ao movimento colateral do *T. cruzi*. Na Figura 21c, os últimos mapas de saliência (#Q147 - #Q150) da sequência

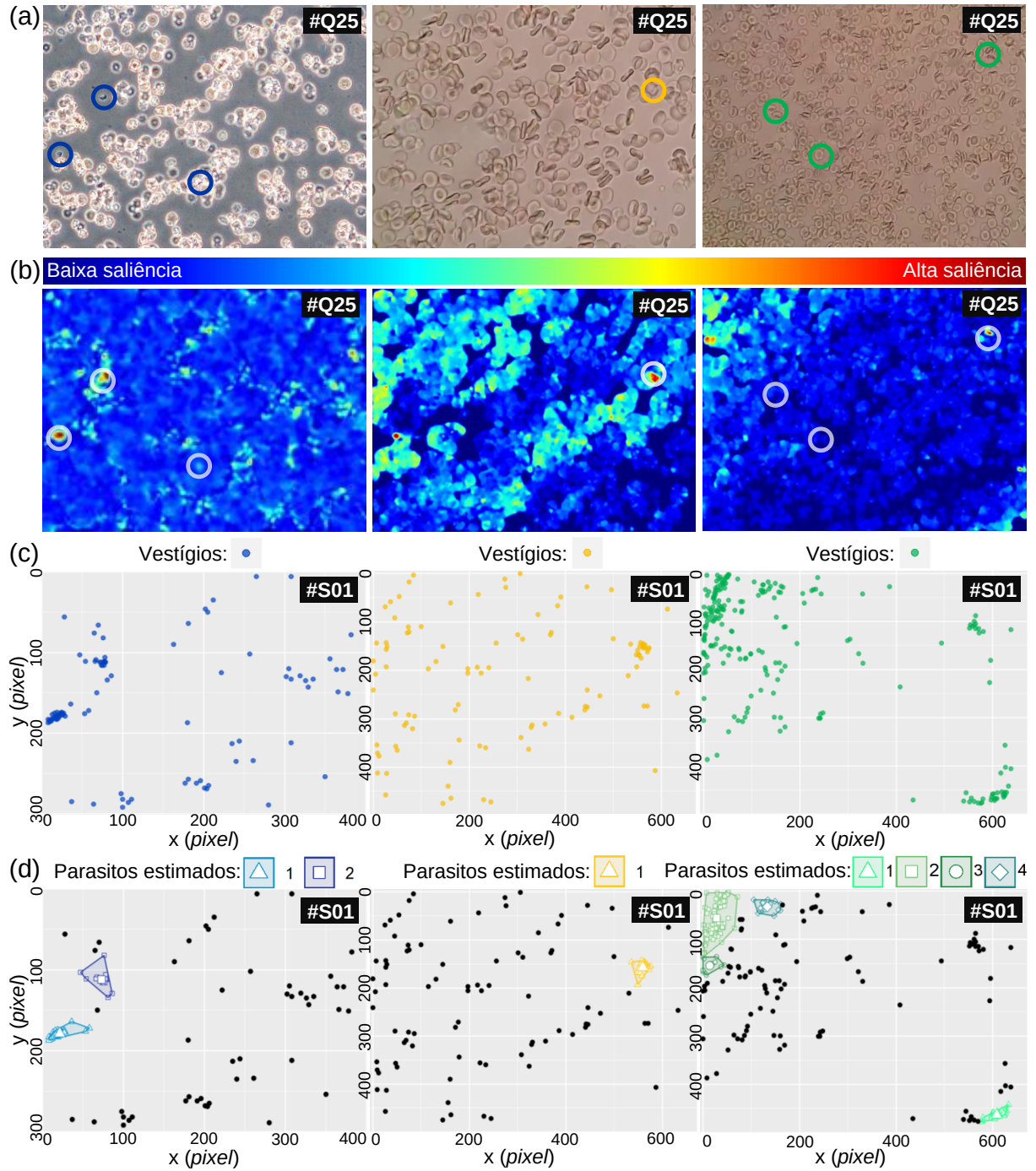


Figura 20 – Análise qualitativa da detecção com base na saliência de movimento colateral. (a) Último quadro (#Q25) da primeira sequência (#S01) de cada vídeo de validação. A localização dos parasitos *T. cruzi* é indicada por círculos. (b) Mapas de saliência *bottom-up* dos respectivos quadros de vídeo. As regiões variam entre baixa e alta saliência. (c) Mapas de vestígios da sequência de vídeo #S01. Os vestígios de movimento saliente são representados por pontos. (d) Mapas de detecção da sequência de vídeo #S01. Os parasitos estimados pelo método são indicados por marcadores diferentes.

forneem informações sobre o dinamismo da cena, mostrando regiões salientes fragmentadas que estão localizadas principalmente nos mapas dos quadros #Q147 e #Q149.

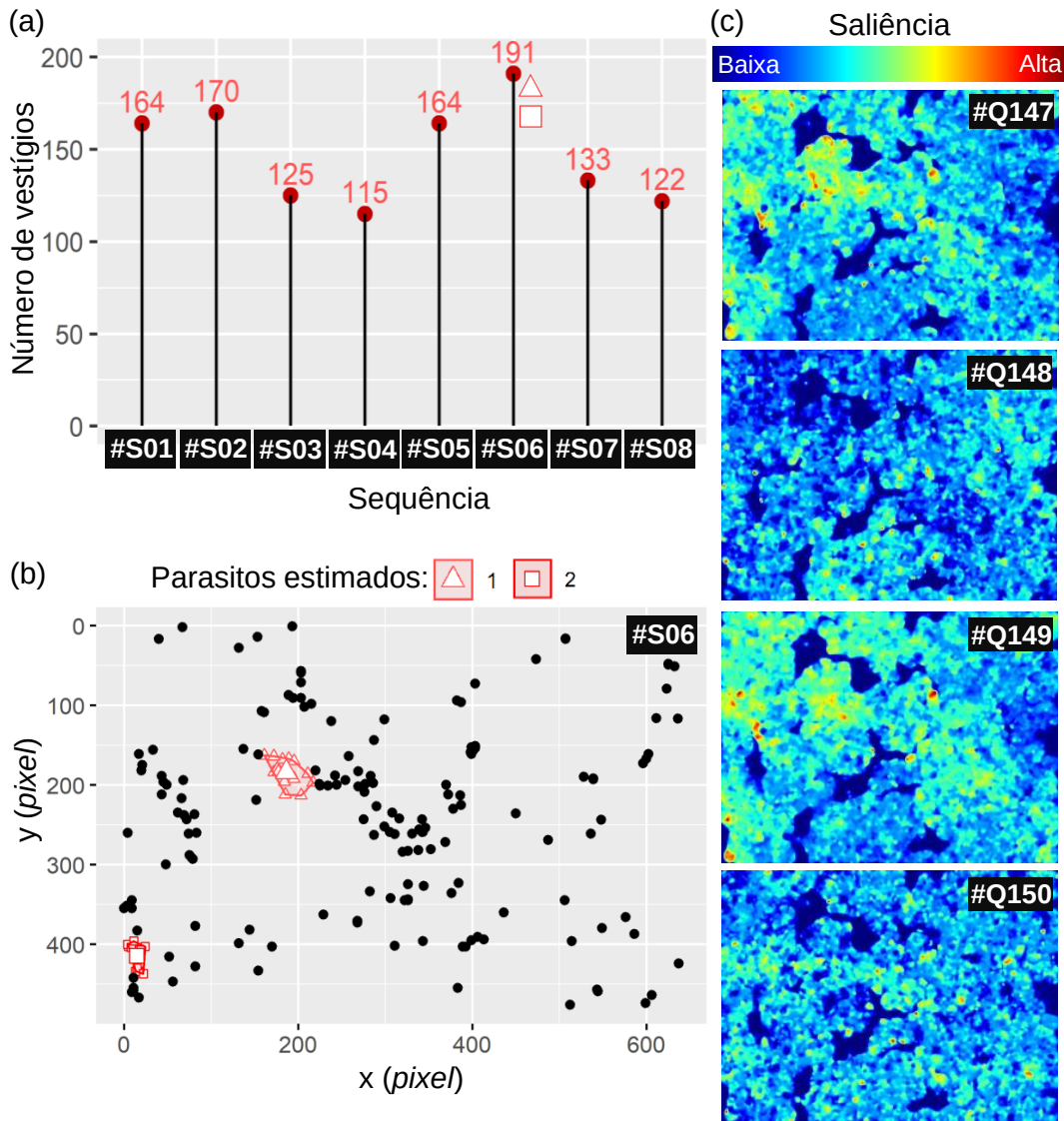


Figura 21 – Desempenho em vídeo sem parasitos (vídeo V4). (a) Total de vestígios identificados em cada sequência de vídeo. As marcações indicam a presença de falsos positivos. (b) Mapa de detecção da sequência #S06. (c) Mapas de saliência *bottom-up* dos últimos quadros de vídeo da sequência #S06.

O vídeo V4 inicia com um ajuste de foco e, em seguida, observa-se uma ação externa que afeta repentinamente as células sanguíneas, muito provavelmente ocasionada pelo movimento das partes móveis do microscópio ou por toques bruscos do microscopista. Dessa maneira, a quantidade de vestígios na Figura 21a oscila de modo a confirmar essas ações. Inicialmente, as sequências #S01 e #S02 têm elevado número de vestígios. Depois disso, as sequências #S03 e #S04 apresentam tendência de queda até que, inesperadamente, a quantidade de vestígios volta a crescer na sequência #S05. O resultado disso, como visto anteriormente, é a maior densidade de vestígios e duas estimativas falsas de parasitos na sequência #S06. Por fim, as sequências #S07 e #S08 retomam a diminuição do número de vestígios. Portanto, pode-se concluir que o comportamento observado no gráfico da Figura 21a resultou de movimento flutuante ou PTZ.

4.2.3 Detecção de movimento

A detecção de movimento é crucial para o bom desempenho da abordagem proposta. Nesse sentido, encontrar a técnica mais adequada a essa tarefa pode ser uma estratégia bastante oportuna, visando a generalização do método. Por essa razão, avaliou-se a abordagem proposta com diferentes configurações para a estimativa de fluxo óptico denso, onde a técnica de Farnebäck (2003) foi substituída por outros algoritmos consolidados na literatura, como DIS (KROEGER et al., 2016), PCA-Flow (WULFF; BLACK, 2015), DualTV- L^1 (PÉREZ; MEINHARDT-LLOPIS; FACCIOLO, 2013; ZACH; POCK; BISCHOF, 2007) e DeepFlow (WEINZAEPFEL et al., 2013). Para a realização dos experimentos, utilizaram-se as implementações da biblioteca OpenCV, assim como, as configurações recomendadas para as técnicas. Os resultados são apresentados na Figura 22.

Como visto anteriormente na seção 4.1, o limiar T foi o único a apresentar variações mais significativas no valor da moda dos parâmetros ótimos. Para uma comparação justa entre as técnicas, o limiar T foi estimado para cada algoritmo através dos vídeos de otimização. Os parâmetros R e N foram mantidos conforme o arranjo da mediana. As configurações obtidas para cada uma das técnicas são apresentadas na Figura 22a.

A relação entre a métrica F_1 e o tempo de execução indica que Farnebäck e DIS são as técnicas que garantem o menor tempo de execução para a abordagem proposta. No entanto, Farnebäck apresenta o melhor desempenho para F_1 no comparativo geral, atestando uma boa relação entre F_1 e tempo de execução. Além disso, a Figura 22b demonstra que não há melhora considerável nos resultados do vídeo V3. Embora o algoritmo DualTV- L^1 registre $F_1 = 0,261$ para o vídeo V3, o que corresponde a um acréscimo de 4,4% no resultado de Farnebäck (ver Tabela 3), esse desempenho torna-se desvantajoso ao considerar o tempo de execução necessário para se obter o resultado.

A Figura 22c apresenta a performance no vídeo sem a presença de parasitos. Observa-se elevada densidade de vestígios nos experimentos com os algoritmos DeepFlow e PCA-Flow, o que indica certa sensibilidade a pequenos deslocamentos. Ainda assim, a etapa de refinamento do método conseguiu minimizar falsas detecções, estimando apenas três parasitos incorretamente em ambos os casos. Já o algoritmo DIS apresentou baixo número de vestígios e a maior incidência de falsos positivos entre os algoritmos analisados. Esse comportamento indica a presença de regiões de saliência persistente ou de grande fragmentação localizada em quadros específicos, confundindo o método mesmo com o refinamento ao longo das sequências. É importante ressaltar o desempenho do algoritmo DualTV- L^1 que estimou apenas um parasito incorretamente na sequência #S02, ultrapassando inclusive o resultado de Farnebäck, que detectou dois falsos positivos em experimentos com o vídeo V4.

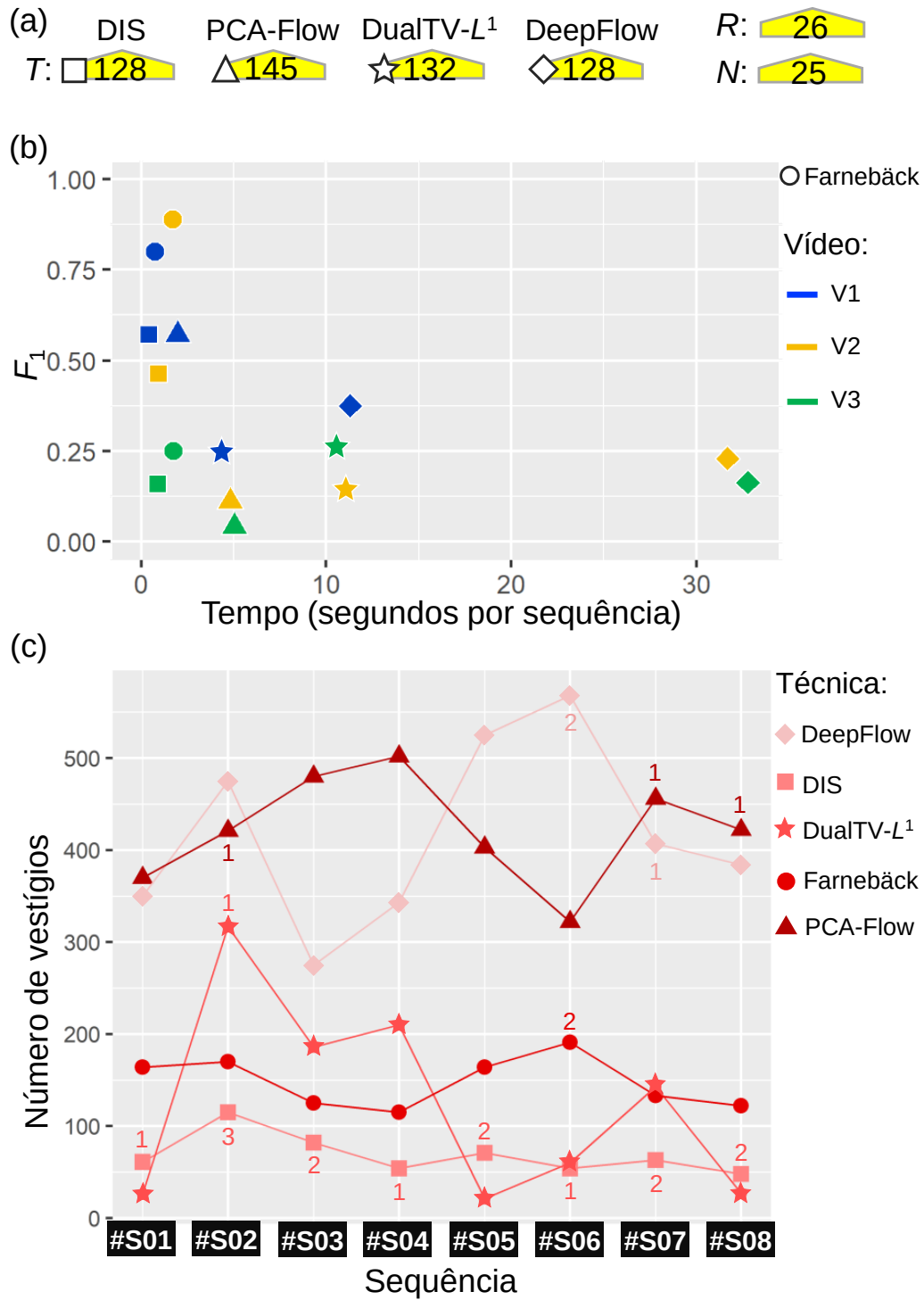


Figura 22 – Desempenho do método utilizando diferentes técnicas para detecção de movimento. (a) Parâmetro T estimado para aplicação do algoritmo. Note que R e N se mantém constante formando o arranjo final. Os marcadores representam os algoritmos nos gráficos seguintes. (b) Relação entre F_1 e tempo de execução nos vídeos de validação. Os círculos indicam os resultados para o algoritmo de Farneback. (c) Performance no vídeo V4. As linhas indicam a evolução da quantidade de vestígios obtidos ao longo das sequências de vídeo. As numerações em torno dos pontos informam a quantidade de parasitos estimados incorretamente. Ex. O método configurado com o algoritmo DIS identificou 61 vestígios na sequência #S01 e estimou incorretamente um parasito.

5 Conclusão

A maioria das abordagens computacionais para detecção do parasito *T. cruzi* concentra-se nos aspectos morfológicos desse microrganismo. Nesta dissertação, uma nova abordagem foi proposta visando localizá-lo através das interações de sua locomoção com elementos vizinhos, aqui denominado de movimento colateral. Desse modo, implementou-se um método *bottom-up* com base na saliência de movimento para identificar vestígios ocasionados pelo movimento colateral do *T. cruzi*. Para isso, regiões de interesse foram inicialmente selecionadas em mapas de saliência obtidos com fluxo óptico denso. Em seguida, as coordenadas de centro dessas regiões foram computadas em um mapa de vestígios para cada sequência de quadros de vídeo. Por fim, esses pontos de coordenadas foram refinados usando um algoritmo de agrupamento para identificar movimentos persistentes que poderiam caracterizar o *T. cruzi*, gerando assim um mapa de detecção ao final.

O método proposto foi aplicado a uma base de vídeos de microscopia óptica do sangue, onde as amostras foram preparadas sem o uso de corantes. Esses vídeos possibilitaram a realização de experimentos mantendo o baixo contraste característico do *T. cruzi*, contribuindo assim para uma análise mais enfática de informações temporais na detecção dos parasitos. Além disso, os trechos de vídeo selecionados apresentaram situações desafiadoras para a detecção, como as perturbações ocasionadas por conta do movimento aparente (PTZ) e/ou induzido (flutuante) de elementos na cena. Isso permitiu avaliar o método sob diferentes cenários dinâmicos.

Os experimentos com técnicas distintas para estimativa de fluxo óptico denso contribuíram para validar uma versão mais generalista da abordagem proposta. No entanto, para fins de diagnóstico médico, potenciais fatores de interferência ainda devem ser investigados, como aspectos físicos relacionados a temperatura, pressão e viscosidade sanguínea da amostra na lâmina, que podem alterar consideravelmente o dinamismo da cena e, conseqüentemente, a performance do método. Outro aspecto a ser analisado, é o desempenho em situações de alta carga parasitária, uma vez que a parasitemia elevada é comum em pacientes chagásicos durante a fase aguda da DC.

De modo geral, os resultados demonstraram o potencial de aplicação do método proposto, permitindo concluir que a metodologia tem aplicabilidade na detecção de parasitos *T. cruzi* em vídeos de microscopia óptica do sangue. Considerando a inspiração deste trabalho na saliência visual, tem-se que cenas com muitos elementos distratores podem confundir a visão humana. Logo, os vídeos com intenso dinamismo de fundo foram mais propensos a registrarem falsos positivos na detecção, ao contrário dos vídeos onde o movimento apresentava intensidade baixa a moderada. Nesse último caso, o movimento

colateral do *T. cruzi* tende a ser mais evidente, gerando vestígios persistentes e/ou fragmentados que auxiliam na localização dos parasitos.

A comparação dos resultados obtidos com outros métodos na literatura possui algumas limitações. A maioria das abordagens computacionais para auxílio ao diagnóstico médico da DC lida com a detecção em imagens estáticas e poucos são os estudos que consideram o movimento como um recurso essencial para a localização dos parasitos. Uma avaliação justa do modelo proposto com métodos que exploram informações espaço-temporais ainda assim não é viável, uma vez que esses trabalhos utilizam microscópios adaptados ou *hardwares* especializados para auxiliar no processo de detecção do *T. cruzi*. Outro aspecto é que o método proposto utiliza imagens de microscopia ótica do sangue sem corantes, divergindo das abordagens da literatura que comumente dependem de técnicas particulares de coleta e preparação de amostras, como coloração, remoção de artefatos e estratégias para realçar as características do *T. cruzi*. Este ponto corresponde a uma das contribuições deste trabalho, entregando à literatura um método que não depende de *hardware* especializado e funciona em vídeos obtidos de amostras sem corante.

5.1 Trabalhos Futuros

Como sugestão de trabalhos futuros fica a análise da performance do método em vídeos de aplicações diversas, viabilizando a comparação dos resultados da detecção em bases consolidadas na literatura. Nessa nova perspectiva, deve-se considerar que os objetos de interesse desenvolvam certo movimento saliente em relação aos demais elementos na cena. Não é condição que o movimento realizado seja colateral, apesar dos resultados apresentados atestarem o método nesse tipo de situação problema. Caso o objeto de interesse apresente maior contraste que o *T. cruzi*, as chances de um melhor desempenho na detecção do movimento certamente serão maiores, a ser confirmado nos novos experimentos. Nesse caso, deve-se considerar que o mapa de detecção é um mapa de pontos representativos dos alvos móveis, não sendo intenção desta abordagem fornecer pontos para caracterização da forma dos objetos sob investigação na cena.

Além disso, a continuidade desta abordagem deverá concentrar-se na extração de informações da própria cena para um ajuste automático dos parâmetros. O limiar T , por exemplo, se adaptativo, tornaria a detecção mais flexível e ajustada a novos contextos e adversidades. O valor do raio R poderia ser estimado de acordo com a ampliação da lente do microscópio, sendo necessário realizar alguns testes que certifiquem melhor essa relação. A quantidade de N quadros da sequência poderia ser definida a partir da taxa de reprodução do vídeo. Por fim, a implementação de técnicas de rastreamento também deve melhorar o desempenho do método, sobretudo em casos de falhas ou em situações complexas, como observado no vídeo V3.

Referências

- ALANDER, J. T. On optimal population size of genetic algorithms. In: *CompEuro 1992 Proceedings Computer Systems and Software Engineering*. Haia, Holanda: IEEE, 1992. p. 65–70. Citado na página 41.
- ALANIS, E. et al. Optical detection of *Trypanosoma cruzi* in blood samples for diagnosis purpose. In: *5th Iberoamerican Meeting on Optics and 8th Latin American Meeting on Optics, Lasers, and Their Applications*. Porlamar, Venezuela: SPIE, 2004. v. 5622, p. 24–28. Citado 2 vezes nas páginas 17 e 18.
- ALVES, L. G. A. et al. Transient superdiffusion and long-range correlations in the motility patterns of trypanosomatid flagellate protozoa. *PLOS ONE*, Public Library of Science, v. 11, n. 3, p. 1–15, 3 2016. Citado na página 17.
- BACON, W. F.; EGETH, H. E. Overriding stimulus-driven attentional capture. *Perception & Psychophysics*, Springer-Verlag, v. 55, n. 5, p. 485–496, 9 1994. Citado na página 24.
- BALLESTEROS-RODEA, G. et al. Flagellar motility of *Trypanosoma cruzi* epimastigotes. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, Hindawi Publishing Corporation, v. 2012, n. 520380, p. 1–9, 1 2012. Citado na página 17.
- BERN, C. et al. *Trypanosoma cruzi* and Chagas’ disease in the United States. *Clinical Microbiology Reviews*, American Society for Microbiology Journals, v. 24, n. 4, p. 655–681, 10 2011. Citado na página 16.
- BOOKER, L. B. et al. Recombination. In: *The Handbook of Evolutionary Computation*. 2^a. ed. Bristol, UK: IOP Publishing and Oxford University Press, 1997. Citado na página 42.
- BORJI, A. et al. Salient object detection: a survey. *Computational Visual Media*, Tsinghua University Press, v. 5, n. 2, p. 117–150, 6 2019. Citado na página 25.
- BORJI, A. et al. Salient object detection: a benchmark. *IEEE Transactions on Image Processing*, IEEE, v. 24, n. 12, p. 5706–5722, 12 2015. Citado 2 vezes nas páginas 25 e 33.
- BORJI, A.; ITTI, L. State-of-the-art in visual attention modeling. *IEEE Transactions on Pattern Analysis and Machine Intelligence*, IEEE, v. 35, n. 1, p. 185–207, 1 2013. Citado na página 25.
- BRADSKI, G. The OpenCV library. *Dr Dobb’s J. Software Tools*, v. 25, p. 120–125, 2000. Citado 2 vezes nas páginas 36 e 44.
- BRADSKI, G.; KAEHLER, A. *Learning OpenCV: Computer Vision with the OpenCV Library*. Sebastopol, CA, EUA: O’Reilly Media, Inc., 2008. Citado na página 36.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Coordenação-Geral de Desenvolvimento da Epidemiologia em Serviços. *Guia de Vigilância em Saúde*, Brasília, DF: Ministério da Saúde, 3^a ed., p. 720, 2019. Citado na página 17.

- BRENER, Z. Therapeutic activity and criterion of cure on mice experimentally infected with *Trypanosoma cruzi*. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, v. 4, p. 389–396, 11 1962. Citado na página 31.
- BROWN, D. *Tracker: Video Analysis and Modeling Tool*. 2009. Disponível em: <<https://physlets.org/tracker/>>. Acesso em: 19 de Fevereiro de 2020. Citado na página 33.
- BROX, T.; BRUHN, A.; WEICKERT, J. Variational motion segmentation with level sets. In: *Computer Vision – European Conference on Computer Vision ECCV 2006*. Graz, Áustria: Springer, 2006. v. 3951, p. 471–483. Citado na página 26.
- BUZZELLI, M. Recent advances in saliency estimation for omnidirectional images, image groups, and video sequences. *Applied Sciences*, v. 10, n. 15, p. 1–32, 7 2020. Citado na página 25.
- CDC. *Parasites - American Trypanosomiasis (also known as Chagas Disease)*. Centers for Disease Control and Prevention, 2019. Disponível em: <<https://www.cdc.gov/parasites/chagas/>>. Acesso em: 10 de Abril de 2020. Citado 2 vezes nas páginas 10 e 16.
- CGC. *Portal da Coalizão Global de Chagas*. Coalizão Global de Chagas, 2021. Disponível em: <<http://www.coalicionchagas.org/>>. Acesso em: 27 de Janeiro de 2021. Citado na página 17.
- CHAABOUNI, S.; BENOIS-PINEAU, J.; AMAR, C. B. Chabonet: design of a deep CNN for prediction of visual saliency in natural video. *Journal of Visual Communication and Image Representation*, Elsevier, v. 60, p. 79–93, 4 2019. Citado na página 26.
- CHEN, C. et al. A novel bottom-up saliency detection method for video with dynamic background. *IEEE Signal Processing Letters*, IEEE, v. 25, n. 2, p. 154–158, 2 2018. Citado 2 vezes nas páginas 25 e 26.
- CHINCHOR, N. MUC-4 evaluation metrics. In: *Proceedings of the 4th Conference on Message Understanding*. McLean, Virgínia: Association for Computational Linguistics, 1992. (MUC4 '92), p. 22–29. Citado na página 39.
- COURA, J. R.; DIAS, J. C. P. Epidemiology, control and surveillance of Chagas disease: 100 years after its discovery. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, SciELO, v. 104, p. 31–40, 7 2009. Citado na página 16.
- DIAS, J. C. P. et al. II Consenso Brasileiro em doença de Chagas, 2015. *Epidemiologia e Serviços de Saúde*, SciELO, v. 25, p. 7–86, 6 2016. Citado na página 16.
- DNDi. *Doença de Chagas*. Drugs for neglected diseases initiative, 2019. Disponível em: <<http://www.dndial.org/doencas/doenca-chagas/>>. Acesso em: 15 de Abril de 2020. Citado 2 vezes nas páginas 16 e 17.
- EIBEN, A. E.; SMITH, J. E. Genetic algorithms. In: *Introduction to Evolutionary Computing*. Berlim, Alemanha: Springer-Verlag, 2003. p. 37–69. Citado na página 42.

- ESTER, M. et al. A density-based algorithm for discovering clusters in large spatial databases with noise. In: *Proceedings of the Second International Conference on Knowledge Discovery and Data Mining*. Portland, Oregon, EUA: AAAI Press, 1996. (KDD'96, 34), p. 226–231. Citado na página 38.
- FANG, W.; CHAN, K. L. Using statistical shape priors in geodesic active contours for robust object detection. In: *18th International Conference on Pattern Recognition (ICPR'06)*. Hong Kong, China: IEEE, 2006. v. 2, p. 304–307. Citado na página 26.
- FANG, Y. et al. Video saliency detection by gestalt theory. *Pattern Recognition*, Elsevier, v. 96, p. 106987, 12 2019. Citado na página 25.
- FARNEBÄCK, G. Two-frame motion estimation based on polynomial expansion. In: *Proceedings of the 13th Scandinavian Conference on Image Analysis (SCIA '03)*. Halmstad, Suécia: Springer-Verlag, 2003. p. 363–370. Citado 3 vezes nas páginas 28, 36 e 56.
- FERRARI, V.; TUYTELAARS, T.; GOOL, L. V. Object detection by contour segment networks. In: *9th European Conference on Computer Vision (ECCV 2006)*. Graz, Áustria: Springer, 2006. p. 14–28. Citado na página 26.
- FIOCRUZ. *Portal da Doença de Chagas*. Fundação Oswaldo Cruz, 2017. Disponível em: <<http://chagas.fiocruz.br/>>. Acesso em: 04 de Maio de 2020. Citado 3 vezes nas páginas 10, 15 e 16.
- GIBSON, J. J. *The Perception of the Visual World*. Boston, MA, EUA: Houghton Mifflin Company, 1950. Citado na página 27.
- GOLDBERG, D. E. *Genetic Algorithms in Search, Optimization and Machine Learning*. 1ª. ed. Boston, MA, EUA: Addison-Wesley Longman Publishing Co., Inc., 1989. Citado na página 42.
- GONZALEZ, R.; WOODS, R. *Digital Image Processing*. 3ª. ed. Upper Saddle River, NJ, EUA: Prentice Hall, 2008. Citado na página 36.
- GREFENSTETTE, J. J. Optimization of control parameters for genetic algorithms. *IEEE Transactions on Systems, Man, and Cybernetics*, IEEE, v. 16, n. 1, p. 122–128, 1 1986. Citado na página 41.
- HOCHSTETTER, A.; PFOHL, T. Motility, force generation, and energy consumption of unicellular parasites. *Trends in Parasitology*, Elsevier, v. 32, n. 7, p. 531–541, 7 2016. Citado na página 17.
- HOLLAND, J. H. *Adaptation in Natural and Artificial Systems*. Cambridge, MA, EUA: MIT Press, 1975. Citado na página 41.
- HORN, B. K. P.; SCHUNCK, B. G. Determining optical flow. *Artificial Intelligence*, Elsevier, v. 17, n. 1-3, p. 185–203, 8 1981. Citado 2 vezes nas páginas 27 e 28.
- ITTI, L. Automatic foveation for video compression using a neurobiological model of visual attention. *IEEE Transactions on Image Processing*, IEEE, v. 13, n. 10, p. 1304–1318, 10 2004. Citado 3 vezes nas páginas 10, 23 e 24.

- ITTI, L.; KOCH, C. Computational modelling of visual attention. *Nature Reviews Neuroscience*, Nature Publishing Group, v. 2, n. 3, p. 194–203, 3 2001. Citado na página 24.
- ITTI, L.; KOCH, C.; NIEBUR, E. A model of saliency-based visual attention for rapid scene analysis. *IEEE Transactions on Pattern Analysis and Machine Intelligence*, IEEE, v. 20, n. 11, p. 1254–1259, 11 1998. Citado na página 23.
- JAVID, R. et al. Spatio-temporal saliency for microscopic medical data. In: *2019 International Conference on Robotics and Automation in Industry (ICRAI)*. Rawalpindi, Paquistão: IEEE, 2019. p. 1–5. Citado na página 25.
- JUNQUEIRA, A. C. V. et al. *Manual de Capacitação na Detecção de Trypanosoma Cruzi para Microscopistas de Malária e Laboratoristas da Rede Pública*. 2^a. ed. PAHO-WHO/Fiocruz, Rio de Janeiro, Brasil, 2011. Citado na página 17.
- KOCH, C.; ULLMAN, S. Shifts in selective visual attention: towards the underlying neural circuitry. In: *Matters of Intelligence: Conceptual Structures in Cognitive Neuroscience*. Dordrecht, Holanda: Springer, 1987. v. 188, p. 115–141. Citado na página 23.
- KROEGER, T. et al. Fast optical flow using dense inverse search. In: *European Conference on Computer Vision (ECCV)*. Amsterdam, Holanda: Springer, 2016. v. 9908, p. 471–488. Citado 2 vezes nas páginas 28 e 56.
- KULCHANDANI, J. S.; DANGARWALA, K. J. Moving object detection: review of recent research trends. In: *2015 International Conference on Pervasive Computing (ICPC)*. Pune, Índia: IEEE, 2015. p. 1–5. Citado na página 26.
- LAVINAS, Y. et al. Experimental analysis of the tournament size on genetic algorithms. In: *2018 IEEE International Conference on Systems, Man, and Cybernetics (SMC)*. Miyazaki, Japão: IEEE, 2018. p. 3647–3653. Citado na página 42.
- LINDER, E.; VARJO, S.; THORS, C. Mobile diagnostics based on motion? A close look at motility patterns in the schistosome life cycle. *Diagnostics*, Multidisciplinary Digital Publishing Institute, v. 6, n. 2, p. 1–22, 6 2016. Citado 2 vezes nas páginas 10 e 29.
- LIU, C.; YUEN, P. C.; QIU, G. Object motion detection using information theoretic spatio-temporal saliency. *Pattern Recognition*, Elsevier, v. 42, n. 11, p. 2897–2906, 11 2009. Citado na página 26.
- LOUKAS, C. et al. Keyframe extraction from laparoscopic videos based on visual saliency detection. *Computer Methods and Programs in Biomedicine*, v. 165, p. 13–23, 10 2018. Citado na página 25.
- LUCAS, B. D.; KANADE, T. An iterative image registration technique with an application to stereo vision. In: *Proceedings of the 7th International Joint Conference on Artificial Intelligence*. Vancouver, BC, Canadá: Morgan Kaufmann Publishers, Inc., 1981. (IJCAI’81, v. 2), p. 674–679. Citado na página 28.
- MANCAS, M. et al. Abnormal motion selection in crowds using bottom-up saliency. In: *18th IEEE International Conference on Image Processing*. Bruxelas, Bélgica: IEEE, 2011. p. 229–232. Citado na página 25.

- MARTIN, D. L. et al. *Trypanosoma cruzi* survival following cold storage: possible implications for tissue banking. *PLOS ONE*, Public Library of Science, v. 9, n. 4, p. 1–7, 4 2014. Citado 3 vezes nas páginas 10, 31 e 32.
- MAZA-SASTRE, H. et al. Identification of trypanosoma with digital image processing. In: *2014 IEEE Central America and Panama Convention (CONCAPAN XXXIV)*. Cidade do Panamá, Panamá: IEEE, 2014. p. 1–4. Citado na página 18.
- MILLER, B. L.; GOLDBERG, D. E. et al. Genetic algorithms, tournament selection, and the effects of noise. *Complex Systems*, Complex Systems Publications, Inc., Champaign, IL, EUA, v. 9, n. 3, p. 193–212, 1995. Citado na página 41.
- MOON, S. et al. An image-based algorithm for precise and accurate high throughput assessment of drug activity against the human parasite *Trypanosoma cruzi*. *PLOS ONE*, Public Library of Science, v. 9, n. 2, p. 1–12, 2 2014. Citado na página 18.
- MS. *Doença de Chagas: o que é, Causas, Sintomas, Tratamento e Prevenção*. Brasil: Ministério da Saúde, 2019. Disponível em: <<http://antigo.saude.gov.br/saude-de-a-z/doenca-de-chagas>>. Acesso em: 12 de Janeiro de 2021. Citado na página 15.
- MSF. *Doença de Chagas*. Médicos Sem Fronteiras, 2018. Disponível em: <<https://www.msf.org.br/o-que-fazemos/atividades-medicas/doenca-de-chagas>>. Acesso em: 23 de Maio de 2020. Citado na página 17.
- MUHAMMAD, K. et al. Efficient visual attention driven framework for key frames extraction from hysteroscopy videos. *Biomedical Signal Processing and Control*, v. 33, p. 161–168, 3 2017. Citado na página 25.
- NGUYEN, T. V.; ZHAO, Q.; YAN, S. Attentive systems: a survey. *International Journal of Computer Vision*, Springer, v. 126, n. 1, p. 86–110, 1 2018. Citado na página 25.
- NOHARA, L. L. et al. High-content imaging for automated determination of host-cell infection rate by the intracellular parasite *Trypanosoma cruzi*. *Parasitology International*, Elsevier, v. 59, n. 4, p. 565–570, 12 2010. Citado na página 18.
- OJEDA-PAT, A.; MARTIN-GONZALEZ, A.; SOBERANIS-MUKUL, R. Convolutional neural network U-Net for *Trypanosoma cruzi* segmentation. In: *Intelligent Computing Systems*. Cham: Springer, 2020. v. 1187, p. 118–131. Citado na página 18.
- PAHO. *Guidelines for the Diagnosis and Treatment of Chagas Disease*. Washington, D.C., EUA: Pan American Health Organization, 2019. Citado na página 15.
- PÉREZ, J. S.; MEINHARDT-LLOPIS, E.; FACCILOLO, G. TV- L^1 optical flow estimation. *Image Processing On Line*, v. 3, p. 137–150, 7 2013. Citado 2 vezes nas páginas 28 e 56.
- RELLI, C. de S. et al. Automatic counting of trypanosomatid amastigotes in infected human cells. *Computers in Biology and Medicine*, Elsevier, v. 89, p. 222–235, 10 2017. Citado na página 18.
- ROMERO, G. G.; MONALDI, A. C.; ALANÍS, E. E. Digital holographic microscopy for detection of *Trypanosoma cruzi* parasites in fresh blood mounts. *Optics Communications*, Elsevier, v. 285, n. 6, p. 1613–1618, 3 2012. Citado na página 18.

- RUANO, J. et al. Localization of small neoplastic lesions in colonoscopy by estimating edge, texture and motion saliency. In: *2019 41st Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society (EMBC)*. Berlim, Alemanha: IEEE, 2019. p. 5945–5948. Citado na página 25.
- SAFE, M. et al. On stopping criteria for genetic algorithms. In: *Advances in Artificial Intelligence - 17th Brazilian Symposium on Artificial Intelligence (SBIA 2004)*. São Luís, Maranhão, Brasil: Springer, 2004. v. 3171, p. 405–413. Citado na página 42.
- SCHAFFER, J. D. et al. A study of control parameters affecting online performance of genetic algorithms for function optimization. In: *Proceedings of the 3rd International Conference on Genetic algorithms*. George Mason University, EUA: Morgan Kaufmann Publishers, Inc., 1989. p. 51–60. Citado na página 41.
- SCHNEIDER, W.; SHIFFRIN, R. M. Controlled and automatic human information processing: I. detection, search, and attention. *Psychological Review*, American Psychological Association, v. 84, n. 1, p. 1–66, 1 1977. Citado na página 23.
- SCHUBERT, E. et al. DBSCAN revisited, revisited: why and how you should (still) use DBSCAN. *ACM Transactions on Database Systems*, Association for Computing Machinery, v. 42, n. 3, p. 1–21, 7 2017. Citado na página 38.
- SHARIATMADAR, Z. S.; FAEZ, K. Visual saliency detection via integrating bottom-up and top-down information. *Optik*, Elsevier, v. 178, p. 1195–1207, 2 2019. Citado na página 26.
- SHARMIN, N.; BRAD, R. Optimal filter estimation for Lucas-Kanade optical flow. *Sensors*, Molecular Diversity Preservation International, v. 12, n. 9, p. 12694–12709, 9 2012. Citado na página 36.
- SOBERANIS-MUKUL, R. et al. An automatic algorithm for the detection of *Trypanosoma cruzi* parasites in blood sample images. *Computer Methods and Programs in Biomedicine*, Elsevier, v. 112, n. 3, p. 633–639, 12 2013. Citado na página 18.
- SOSA-HERNÁNDEZ, E. et al. Experimental and mathematical-modeling characterization of *Trypanosoma cruzi* epimastigote motility. *PLOS ONE*, Public Library of Science, v. 10, n. 11, p. 1–17, 11 2015. Citado na página 17.
- SUZUKI, S.; BE, K. Topological structural analysis of digitized binary images by border following. *Computer Vision, Graphics, and Image Processing*, Elsevier, v. 30, n. 1, p. 32–46, 4 1985. Citado na página 37.
- TAKAGI, Y. et al. Development of a motion-based cell-counting system for trypanosoma parasite using a pattern recognition approach. *BioTechniques*, Future Science, v. 66, n. 4, p. 179–185, 4 2019. Citado na página 18.
- TEAGUE, M. R. Image analysis via the general theory of moments. *Journal of the Optical Society of America*, Optical Society of America, v. 70, n. 8, p. 920–930, 8 1980. Citado na página 37.
- TOVEY, N. K.; HOUNSLOW, M. W.; WANG, J. Orientation analysis and its applications in image analysis. *Advances in Imaging and Electron Physics*, Elsevier, v. 93, p. 219–329, 1 1995. Citado na página 36.

- TREISMAN, A. M.; GELADE, G. A feature-integration theory of attention. *Cognitive Psychology*, Elsevier, v. 12, n. 1, p. 97–136, 1 1980. Citado na página 23.
- UC-CETINA, V.; BRITO-LOEZA, C.; RUIZ-PIÑA, H. Chagas parasites detection through gaussian discriminant analysis. *Abstraction & Application*, v. 8, p. 6–17, 8 2013. Citado na página 18.
- UC-CETINA, V.; BRITO-LOEZA, C.; RUIZ-PIÑA, H. Chagas parasite detection in blood images using adaboost. *Computational and Mathematical Methods in Medicine*, Hindawi Publishing Corporation, v. 2015, p. 1–13, 3 2015. Citado na página 18.
- VEGA-ALVARADO, L. et al. Images analysis method for the detection of Chagas parasite in blood image. In: *Pattern Recognition Techniques Applied to Biomedical Problems*. Cham: Springer, 2020. p. 63–72. Citado na página 18.
- WANG, W.; SHEN, J.; SHAO, L. Video salient object detection via fully convolutional networks. *IEEE Transactions on Image Processing*, IEEE, v. 27, n. 1, p. 38–49, 1 2018. Citado na página 26.
- WANG, W. et al. Revisiting video saliency prediction in the deep learning era. *IEEE Transactions on Pattern Analysis and Machine Intelligence*, v. 43, n. 1, p. 220–237, 1 2021. Citado na página 25.
- WEINZAEPFEL, P. et al. Deepflow: large displacement optical flow with deep matching. In: *2013 IEEE International Conference on Computer Vision (ICCV)*. Sydney, Austrália: IEEE, 2013. p. 1385–1392. Citado 2 vezes nas páginas 28 e 56.
- WHO. *Fact sheet: Chagas disease (American trypanosomiasis)*. World Health Organization, 2020. Disponível em: <[https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/chagas-disease-\(american-trypanosomiasis\)](https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/chagas-disease-(american-trypanosomiasis))>. Acesso em: accessed in April 2020. Citado na página 15.
- WOLF, C. et al. Evaluation of video activity localizations integrating quality and quantity measurements. *Computer Vision and Image Understanding*, Elsevier, v. 127, p. 14–30, 10 2014. Citado na página 39.
- WULFF, J.; BLACK, M. J. Efficient sparse-to-dense optical flow estimation using a learned basis and layers. In: *2015 IEEE Conference on Computer Vision and Pattern Recognition (CVPR)*. Boston, MA, EUA: IEEE, 2015. p. 120–130. Citado 2 vezes nas páginas 28 e 56.
- YARBUS, A. L. *Eye Movements and Vision*. Nova York, EUA: Plenum Press, 1967. Citado na página 24.
- YILMAZ, A.; JAVED, O.; SHAH, M. Object tracking: a survey. *ACM Computing Surveys*, Association for Computing Machinery, v. 38, n. 4, p. 1–45, 12 2006. Citado na página 26.
- YOKOYAMA, M.; POGGIO, T. A contour-based moving object detection and tracking. In: *2005 IEEE International Workshop on Visual Surveillance and Performance Evaluation of Tracking and Surveillance*. Pequim, China: IEEE, 2005. p. 271–276. Citado na página 26.

- ZACH, C.; POCK, T.; BISCHOF, H. A duality based approach for realtime TV- L^1 optical flow. In: *Joint Pattern Recognition Symposium*. Berlin, Heidelberg, Alemanha: Springer, 2007. p. 214–223. Citado 2 vezes nas páginas 28 e 56.
- ZHANG, Y. et al. Motility-based label-free detection of parasites in bodily fluids using holographic speckle analysis and deep learning. *Light: Science & Applications*, Nature Publishing Group, v. 7, n. 108, p. 1–18, 12 2018. Citado 2 vezes nas páginas 17 e 18.
- ZIVKOVIC, Z.; HEIJDEN, F. V. D. Efficient adaptive density estimation per image pixel for the task of background subtraction. *Pattern Recognition Letters*, Elsevier, v. 27, n. 7, p. 773–780, 5 2006. Citado na página 26.