

Computer Vision in Automatic Visceral Leishmaniasis Diagnosis: a Survey

Clésio de A. Gonçalves, Armando L. Borges, Anderson L. Rodrigues, Nathália B. Andrade, Marcos V. de S. Lemos, Bruno G. A. Aguiar, Romuere R. V. e Silva

Abstract—Visceral Leishmaniasis (VL) is a neglected disease that affects 1 billion people in tropical and subtropical countries. In Brazil, VL causes about 3,500 cases/year. Although this disease is lethal when left untreated, the number of cases is increasing. Thus, it is necessary to study current and safety technologies for VL diagnosis, treatment, and control. Specialized laboratories carry out the LV diagnosis, and this step has great automation power through automatic methods based on computer vision to aid in diagnosis. This work aims to present state-of-the-art research on computer vision techniques to detect VL in humans and provide a theoretical basis for developing computational systems to aid in diagnosing VL. This work's contributions are finding the methodologies and algorithms used in VL automatic detection and listing the gaps in developing those systems. As a result, we find out the lack of image databases and the use of deep learning techniques is still scarce. We conclude that methodologies that use the segmentation procedure perform better in terms of accuracy and that it is possible to develop a CAD system to help diagnose VL in humans.

Index Terms—Automatic Detection, Computer Vision, Visceral Leishmaniasis.

I. INTRODUÇÃO

Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), a Leishmaniose é um grande problema de saúde nas Américas, na África Oriental, África do Norte, Ásia Ocidental e no Sudeste Asiático [1]. No Brasil, há a presença de duas formas da doença: a Leishmaniose Visceral (LV, também conhecida como calazar); e a Leishmaniose Tegumentar (LT, também conhecida como leishmaniose cutânea) [2], sendo esta última a forma mais frequente da doença com cerca de 21.000 casos/ano [3], enquanto a LV tem cerca de 3.500 casos/ano [4], porém é a mais letal, e se não tratada pode levar a óbito até 90% dos casos [5].

Clésio de Araújo Gonçalves is with Informatics Department, Federal Institute of Sertão Pernambucano, and Electrical Engineering - PPGEE/UFPI, Picos, Piauí, Brazil (clesiodearaujo@gmail.com).

Armando Luz Borges is with Information Systems - CSHNB/UFPI, Picos, Piauí, Brazil (armandoari.288@gmail.com).

Anderson Lourenço Rodrigues is with Information Systems - CSHNB/UFPI, Picos, Piauí, Brazil (anderson.lourenco.r@gmail.com).

Nathália Batista Andrade is with Center for Intelligence on Emerging and Neglected Tropical Diseases (CIENTD), Teresina, Piauí, Brazil (veterinarianba@gmail.com).

Marcos Vinicius de Sousa Lemos is with Computer Science Department - UESPI, Teresina, Piauí, Brazil (marvinlemos@gmail.com).

Bruno Guedes Alcoforado Aguiar is with Department of Community Medicine - UFPI, and Center for Intelligence on Emerging and Neglected Tropical Diseases (CIENTD), Teresina, Piauí, Brazil (guedesaguiar@ufpi.edu.br).

Romuere Rodrigues Veloso e Silva is with Information Systems - CSHNB/UFPI, and Electrical Engineering - PPGEE/UFPI, and Center for Intelligence on Emerging and Neglected Tropical Diseases (CIENTD), Picos, Piauí, Brazil (romuere@ufpi.edu.br) - Corresponding author.

A LV é uma doença negligenciada de evolução crônica que afeta 1 bilhão de pessoas em países tropicais e subtropicais [6]. É uma doença causada por protozoários da espécie *Leishmania chagasi*, sendo transmitida ao homem por meio da picada de fêmeas do inseto vetor infectado, denominado flebotomíneo [7]. No Brasil, a principal espécie responsável pela transmissão é a *Lutzomyia longipalpis*. Os principais sintomas da LV em humanos são febre de longa duração, fraqueza, perda de peso, anemia, hepatoesplenomegalia (aumento do fígado e baço) e a queda acentuada da contagem de plaquetas do sangue do paciente [8].

A detecção da LV pode ser realizada por um teste imunológico, que tem por objetivo detectar anticorpos anti *Leishmania*, entretanto essa modalidade apresenta um diagnóstico incerto por diferentes estágios da infecção e pela baixa reprodutibilidade entre diferentes testes sorológicos [9]. Por outro lado, o padrão-ouro para a detecção de LV é feito pela microscopia do material aspirado da medula óssea (exame parasitológico), tendo como objetivo a busca por formas amastigotas do parasito [10].

A avaliação manual de imagens médicas pode se tornar cansativa e laboriosa para os profissionais de saúde [11]. Dessa forma, nos últimos anos tem surgido sistemas computacionais que utilizam imagens de exames para auxílio ao diagnóstico em diversas áreas da medicina [12]. Tais sistemas utilizam métodos de Visão Computacional (VC) para extrair informações importantes das imagens e encontrar padrões que permitam auxiliar no diagnóstico de determinada doença [13].

A fim de aliviar o trabalho repetitivo e dar um resultado mais eficiente, é pertinente o uso de técnicas de aprendizado de máquina para processamento de imagens médicas capazes de diagnosticar doenças [14]. Dentre essas técnicas, destacam-se aquelas de VC, amplamente utilizada na detecção de enfermidades, entre elas a LV em humanos, alcançando alta precisão a partir do processamento de imagens de lâminas do exame parasitológico (microscopia) da medula óssea [15].

Nesse contexto, o objetivo deste trabalho é realizar um levantamento bibliográfico das pesquisas que utilizam técnicas de VC para diagnosticar a LV em humanos. O estudo realizado neste trabalho identifica as principais técnicas de pré-processamento, segmentação, extração de atributos e classificação de imagens, além do desempenho das soluções abordadas. Além disso, são discutidas as principais lacunas existentes nessa linha de pesquisa, tais como: bases de dados e principais técnicas utilizadas. Todas essas informações constituem uma base teórica relevante para

a comunidade que deseja contribuir no desenvolvimento de sistemas computacionais de auxílio ao diagnóstico da LV em humanos.

II. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

O diagnóstico da LV é realizado em laboratórios especializados [16] e essa etapa possui grande poder de automação através de métodos automáticos baseados em VC para auxílio ao diagnóstico [17]. Esta seção apresenta os principais exames para aquisição de imagens utilizadas no auxílio ao diagnóstico da LV em humanos, bem como a utilização de técnicas de VC para detecção de parasitas que são indicativos para a doença. Os principais métodos laboratoriais para diagnóstico da LV são os exames imunológicos e parasitológicos [5].

A. Diagnóstico Imunológico

O teste imunológico é uma abordagem sorológica menos invasiva para a detecção da LV [18] e tem por objetivo detectar anticorpos anti *Leishmania* [19]. O Teste rápido imunocromatográfico e a Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI) são as principais provas imunológicas para diagnóstico da LV [20]. Entretanto, essas abordagens podem retornar positivo mesmo após o tratamento [21]. Ambos os testes imunológicos não apresentam um diagnóstico de certeza e não são tão confiáveis quanto o exame parasitológico, pois podem apresentar falsos positivos [22].

O Teste rápido imunocromatográfico permite a detecção rápida de anticorpos contra *Leishmania spp.* [23]. Esse teste possui uma tira revestida com o antígeno K39 [24] recombinante que reage com os anticorpos da amostra sorológica do paciente [25]. Por apresentar resultados rápidos, são utilizados no diagnóstico de pacientes com suspeita clínica de LV e provenientes de áreas com ocorrência de transmissão [26], além de serem utilizados em regiões endêmicas [27].

A RIFI é utilizada desde a década de 60 e tem especificidade [28] de aproximadamente 80% nas amostras de soro do paciente [29]. No entanto, sua especificidade é prejudicada devido a reações cruzadas com doenças causadas por outros tripanossomatídeos [30]. O uso das formas amastigotas de *Leishmania donovani*, como antígeno nas RIFI, traz um aumento significativo de sensibilidade, que é em torno de 90 a 100%, sem prejudicar a especificidade do teste, o que resulta em um diagnóstico mais precoce [31]. A Fig. 1 apresenta uma parte de uma imagem de Imunofluorescência Indireta (IFI) vista ao microscópio.

O diagnóstico por imagens de IFI apresenta algumas desvantagens, dentre elas destacam-se: exigência de pessoal treinado para realizar o diagnóstico; apresenta baixa especificidade; alto custo financeiro; não está ajustada para estudos epidemiológicos em larga escala; especificidade prejudicada devido a ocorrência de reações cruzadas com leishmaniose tegumentar, esquistossomose, doença de chagas, malária e tuberculose pulmonar [33].

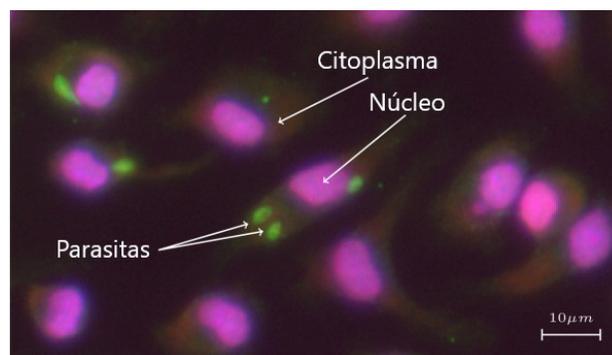


Fig. 1. Campo de uma lâmina utilizando fluorescência, ilustrando as estruturas mais importantes envolvidas na anotação de infecções por *Leishmania*. A técnica de fluorescência destaca os núcleos dos macrófagos em rosa, os parasitas em verde e o citoplasma dos macrófagos em tons de vermelho. Fonte: Neves et al. [32].

B. Diagnóstico Parasitológico

O diagnóstico parasitológico é considerado o padrão-ouro para detecção da *Leishmania* [34]. Nessa técnica, o material biológico é colhido da medula óssea do paciente e depositado em uma lâmina e corado. O passo seguinte é a análise microscópica do material, onde o profissional de saúde busca por *Leishmanias* – forma amastigota [35]. Elas geralmente aparecem dentro de macrófagos, e podem aparecer também fora dessas células em menor quantidade [36]. O processo de busca é feita por todos os campos da lâmina e caso alguma *Leishmania* seja encontrada o diagnóstico é definido como positivo para LV.

A técnica de parasitologia é mais adequada devido a sua forma de análise e segurança, pois é um método mais eficaz [37]. Essa análise se torna muito fatigante ao especialista, pois as formas amastigotas da doença são minúsculas e fáceis de confundir com outras estruturas [38], conforme exibido na Fig. 2.

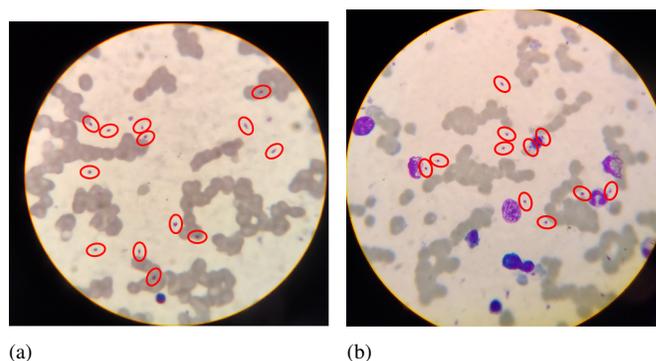


Fig. 2. Imagens de campos de lâminas de exame parasitológico da medula óssea. (a) e (b) são imagens positivas para LV. As amastigotas estão marcadas com círculos vermelhos para melhor visualização.

C. Visão Computacional

A VC é um ramo da Inteligência Artificial que vem sendo bastante empregado na área médica [39]. Ela investiga maneiras de dar as máquinas a capacidade de enxergar e

aprender o processo de modelagem e replicação da visão humana para através da análise de imagens, dar a possibilidade a uma máquina de entender e interpretar informações visuais ou dados multidimensional [40]. Um exemplo de algoritmo utilizado pela VC, é o algoritmo de aprendizado profundo, que treina o computador para aprender sozinho através do reconhecimento de padrões em várias camadas de processamento.

Os sistemas de VC são conhecidos por terem como entrada uma imagem (ou conjuntos delas) e como saída algumas informações [41]. Normalmente, esses sistemas computacionais possuem usabilidade simples, necessitando apenas das informações de entrada (imagens dos campos das lâminas, por exemplo) e tem como saída o diagnóstico realizado, bem como os campos de onde o auxílio ao diagnóstico foi obtido [42]. Isso possibilita ao profissional de saúde a confirmação do diagnóstico feito pelo sistema [43].

A etapa de desenvolvimento do sistema de VC é usualmente dividida em algumas processos: aquisição de imagens; pré-processamento; segmentação; extração de características e classificação [44]. A partir da classificação das imagens, realiza-se a validação dos resultados da pesquisa, apresentando em maior parte dos casos as taxas de acerto nos mais diversos cenários além do nível de confiabilidade da solução proposta [45].

III. METODOLOGIA

A metodologia de revisão bibliográfica utilizada seguiu as etapas propostas por Kitchenham [46], que incluem: planejamento, condução e extração dos dados. A Fig. 3 ilustra esses passos.

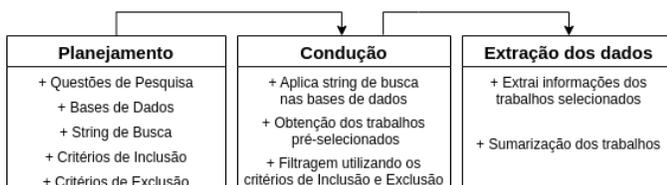


Fig. 3. Etapas da metodologia proposta para a revisão bibliográfica.

No planejamento da revisão bibliográfica, partimos das seguintes questões de pesquisa: (1) Quais bases de imagens médicas estão sendo utilizadas na detecção da LV em humanos? e (2) Como as técnicas de VC são empregadas na detecção da LV em humanos? Além disso, definimos os seguintes critérios de Inclusão (I) e Exclusão (E), conforme apresentado na Tabela I.

Na fase de condução, submetemos a *string* de busca (“*deep learning*” OR “*computer vision*” OR “*image processing*”) AND (“*visceral leishmaniasis*” OR *kala-azar* OR “*visceral leishmaniasis in humans*” OR “*leishmania*” OR “*leishmaniasis*”) nas bases IEEE Xplorer, Science Direct, Web Of Science, PubMed, Scopus, ACM, SciELO, Springer e outras bases, posteriormente aplicamos três etapas de filtragem e, por fim, um total de 18 artigos foram selecionados na última fase. As informações extraídas dos trabalhos relacionados estão descritas na Seção IV. A Fig. 4 apresenta

as etapas de busca e seleção utilizadas na condução da revisão bibliográfica.

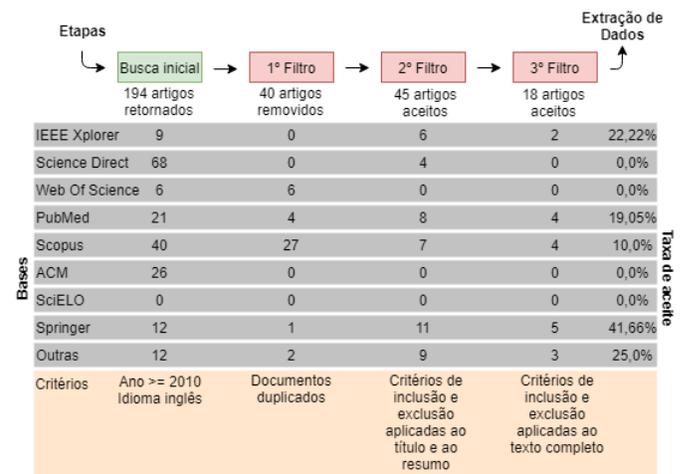


Fig. 4. Etapas da condução da revisão bibliográfica: (1) Busca inicial nas bases, filtrando os artigos por ano de publicação e idioma; (2) Filtro 1: remoção dos artigos duplicados; (3) Filtro 2: aplicação dos critérios de inclusão e exclusão no título e resumo; e (4) Filtro 3: aplicação dos critérios de inclusão e exclusão no texto completo.

IV. RESULTADOS

Levando em consideração os desafios no diagnóstico da LV, o uso de técnicas de VC pode oferecer soluções viáveis a serem utilizadas em ambientes reais. Essas soluções podem ajudar a diminuir o trabalho cansativo e laborioso de profissionais da saúde. A seguir, apresentamos como resultado os principais trabalhos encontrados que usam imagens de microscopia junto a técnicas de VC para o auxílio ao diagnóstico da LV em humanos. Dentre os trabalhos encontrados, alguns utilizam imagens de Imunofluorescência Indireta (IFI) e outros utilizam imagens de microscopia do aspirado da medula.

A. Detecção da Leishmaniose Visceral em humanos: Imunofluorescência Indireta (IFI)

Em Ouertani et al. [47], os autores apresentaram um método automático de segmentação do parasita utilizando imagens de IFI. Devido ao alto contraste presente nas imagens dessa natureza, foi possível utilizar uma segmentação baseada em cor para remover o fundo das imagens utilizando o agrupador *K-means* [48]. O método proposto foi avaliado em 40 imagens, mostrando-se confiável e robusto quanto aos resultados.

O agrupador *K-means* também é utilizado por Neves et al. [49] para desenvolver um método automático para anotação de infecções por *Leishmania* através de imagens de IFI. A estratégia é baseada principalmente na detecção de *blobs* que são formas que diferem das demais regiões da imagem, tais como formas circulares claras ou escuras [50]. Além disso, é realizada a segmentação do citoplasma, o agrupamento e a separação usando regiões côncavas dos contornos das células. Esse método foi comparado com o método de Leal et al. [51],

TABLA I
CRITÉRIOS DE INCLUSÃO E EXCLUSÃO

Ordem	Crítérios de Inclusão	Crítérios de Exclusão
1	Estudo sobre LV em humanos.	Estudo anterior a 2010.
2	Utiliza imagens de lâminas provenientes do exame parasitológico (microscopia) da medula óssea.	O estudo não se trata de LV em humanos.
3	Emprega técnica de VC para processamento de imagens médicas.	Não utiliza imagens de lâminas provenientes do exame parasitológico (microscopia) da medula óssea.
4	Realiza a detecção da LV através de técnica de aprendizado profundo, servindo de indicativo para o diagnóstico dessa doença.	Não emprega técnica de VC para processamento de imagens médicas.
5	Utiliza métricas de avaliação que possibilita a comparação com demais trabalhos na literatura.	Não realiza a detecção da LV através de técnica de aprendizado profundo, não servindo de indicativo para o diagnóstico dessa doença.
6	-	Não utiliza métricas de avaliação que possibilita a comparação com demais trabalhos na literatura.

e foi capaz de obter desempenho superior na detecção dos parasitas.

O trabalho de Leal *et al.* [51] propôs um método automático para avaliação dos índices de infecção por *Leishmania* utilizando imagens de IFI. Os autores foram capazes de segmentar os núcleos e os citoplasmas dos macrófagos individuais, como também dos parasitas e sua localização na imagem, aplicando o filtro da Diferença de Gaussiana [52] e o limiar de Otsu [53]. O trabalho mostra uma taxa de erro médio de 2,3% na análise do índice de infecção, sendo feito 4 experimentos, utilizando 86 imagens. Os autores dão continuidade ao trabalho em Ferro *et al.* [54], onde eles corrigem os problemas de fluorescência existentes, propondo uma etapa de desagrupamento integrada na etapa de segmentação obtendo um melhor desempenho na análise dos níveis de infecção através de melhorias na qualidade das imagens.

No trabalho de Neves *et al.* [32], os autores desenvolveram um método para determinar as posições dos macrófagos infectados e de parasitas, através de imagens IFI. Além da detecção, os autores realizaram a separação das células sobrepostas com base na concavidade de contorno. Esse método também se baseia na detecção, no agrupamento e na separação de blobs, usando regiões côncavas dos contornos das células (assim como em Neves *et al.* [49]). Em comparação com os trabalhos de Nogueira [55] e Leal *et al.* [51], os autores concluem que o método proposto atinge melhor desempenho na anotação de infecções por *Leishmania*.

Em Ouertani [56], os autores apresentam um método de segmentação para detectar promastigotas de *Leishmania* em imagens de IFI. Esse método apresenta uma etapa de pré-processamento para corrigir não-uniformidades de iluminação, uma etapa de segmentação primária baseada no algoritmo de detecção de bordas *Watershed* [57] e uma etapa de fusão de regiões usando critérios combinados de homogeneidade de regiões e integridade de borda como uma solução para a super-segmentação produzida pela etapa de processamento inicial. Os autores utilizaram 40 imagens para testar o método.

Em Moraes e Alcântara [58], os autores apresentam um protocolo para quantificar a carga parasitária por análise de alto conteúdo, que se baseia na infecção de macrófagos com promastigotas de *Leishmania*. O método utiliza imagens de IFI e é capaz de detectar e quantificar amastigotas intracelulares,

além do número total de parasitas e o número de parasitas por células infectadas.

Ainda relacionado aos métodos que utilizam imagens de IFI, em Nogueira [55], Nogueira e Teófilo [59], [60], e em Siqueira-Neto [61], são propostos métodos para análise e processamento de imagens que visa determinar automaticamente os níveis de infecção em imagens de microscopia infectadas com o parasita *Leishmania*.

Em Nogueira [55], é proposto um método para determinar automaticamente os níveis de infecção em imagens de microscopia infectadas com o parasita *Leishmania*. Para este efeito, são usadas técnicas de visão computacional e reconhecimento de padrões. As imagens são submetidas a uma etapa de pré-processamento para normalizar as condições de iluminação. Em seguida, o método realiza a detecção dos macrófagos e parasitas de *Leishmania*, utilizando técnicas de limiar adaptativo [53]. Finalmente, foi realizada a quantificação dos níveis de infecção utilizando uma Máquina de Vetores de Suporte (SVM) [62] junto com um classificador estatístico baseado em regras [63].

Nos trabalhos de Nogueira e Teófilo [59], [60], são desenvolvidos métodos automatizados para identificar células e parasitas em imagens microscópicas infectadas com *Leishmania*, permitindo anotações mais precisas. Esses autores utilizam segmentação através do limiar de Otsu e, em seguida, as regiões segmentadas são divididas, através de um classificador baseado em regras e uma SVM treinada com dados extraídos de vários Modelos de Mistura Gaussiana [64] das regiões segmentadas. A acurácia dos métodos ficam acima dos 90%, tendo aproximados 85% de acerto na detecção individual de parasitas em regiões com múltiplos núcleos.

Em Siqueira-Neto [61], também foi proposto um método para calcular a taxa de infecção e o número de parasitas amastigotas, além de produzir informações de citotoxicidade com base no número de células hospedeiras. Os autores realizam a segmentação celular com base na detecção dos núcleos e parasitas de *Leishmania*. As imagens de entrada bruta foram suavizadas utilizando um *kernel* Gaussiano [65] e os núcleos das células foram detectados com base em pontos máximos locais (conjunto de pixels de maior intensidade) [66]. Os autores utilizaram o diagrama de Voronoi [67] para traçar retas baseadas nas posições dos núcleos para separar células aglomeradas. Finalmente, os autores utilizam um método de marcação de componente conectado [68] para filtrar núcleos

e amastigotas aplicando um limiar de intensidade e tamanho aos parasitas.

No trabalho de Gomes-Alves et al. [69], os autores apresentam um protocolo de análise automática de imagens para contagem de parasitas de *Leishmania*. O trabalho aplica algoritmos clássicos para segmentar e contornar a imagem para identificar os parasitas. Os autores utilizaram 382 imagens neste processo e obtiveram como resultado uma taxa de infecção de aproximadamente 80% (bem como na contagem manual).

Em Yazdanparast [70], os autores apresentam um software de código aberto capaz de automatizar a medição do nível de infecção por Leishmaniose, chamado de INsPECT. O software é independente de qualquer plataforma e possibilita a escolha entre diferentes tipos de análise, além de possibilitar diferentes tipos de execução. O software realiza a segmentação das células, parasitas e citoplasma. A segmentação morfológica utiliza o *Watershed* [71] para separar células sobrepostas, além de remover os fragmentos de células usando o fechamento morfológico [72] e de aplicar o operador *Sobel Edge Detector* [73] para detectar as bordas do citoplasma.

B. Detecção da Leishmaniose Visceral em humanos: Imagens de microscopia do aspirado da medula

Além dos trabalhos que utilizam imagens de IFI, temos também aqueles que têm como entrada imagens de microscopia do aspirado da medula. Essas imagens de lâminas provenientes do exame parasitológico da medula óssea é o padrão ouro para diagnóstico da LV em humanos. Ainda, a OMS recomenda a punção aspirativa da medula óssea para diagnóstico parasitológico [74]. A seguir são relatados os trabalhos que utilizam esse tipo de imagem.

No trabalho de Górriz et al. [15], os autores apresentam um método de análise não supervisionada na detecção de parasitas de Leishmaniose em imagens microscópicas. Para isso, eles implementam técnicas de *Deep Learning* (DL) [75] e treinam um modelo de U-Net [76] para segmentar parasitas de *Leishmania* e classificá-los em promastigotas [77], amastigotas e parasitas aderidos.

Salazar et al. [42] propõe uma estratégia de segmentação semiautomática dos parasitas evolutivos da LV, especificamente do tipo amastigota e promastigota. As imagens de microscopia óptica são geradas a partir do esfregaço de sangue e submetidas a um processo de transformação do espaço de intensidade de cor em um espaço de intensidade em níveis de cinza. Na etapa de pré-processamento, utiliza-se filtros de suavização e detectores de borda para aprimorar as imagens. Na segmentação, aplica-se a técnica do crescimento de região [78] para agrupar os *pixels* correspondentes a cada um dos parasitas. Por fim, as segmentações obtidas permitem calcular as áreas e os perímetros associados aos parasitas segmentados. Cabe destacar que os autores utilizaram um conjunto de dados aberto contendo 45 imagens microscópicas do aspirado da medula óssea de pacientes com LV, disponibilizada por Farahi et al. [79] Base disponível

O trabalho de Isaza-Jaimes et al. [80] apresenta uma abordagem computacional de três etapas para a detecção

automática de protozoários de *Leishmania* em imagens de microscopia da medula óssea. A primeira etapa corresponde ao pré-processamento para atenuar os ruídos ou informações indesejadas associadas às imagens e preservar as bordas dos objetos contidos nas imagens. Na segunda etapa, foi desenvolvido um procedimento para selecionar potenciais áreas de interesse para a presença de parasitas, a análise foi associada a um conjunto de perfis selecionados a partir de imagens suavizadas. Na última etapa, cada região de interesse que continha protozoários foi analisada para classificar seu conteúdo como parasita do gênero *Leishmania*. A aplicação da abordagem computacional proposta gerou uma taxa de reconhecimento do parasita de aproximadamente 80%. Os autores também utilizaram a base de imagens pública disponibilizada por Farahi et al. [79].

Coelho et al. [81] desenvolveram um método automático para a determinação da taxa de infecção de amastigotas. Para isso, o método de segmentação se baseia na morfologia matemática [82] e alcançou uma acurácia de 95% quando comparado com o método manual. Sendo assim, este método contribui para uma maior rapidez na determinação da taxa de infecção.

Por último, no trabalho de Farahi et al. [83], os autores desenvolveram um método de segmentação de parasitas de Leishmaniose. O método utiliza métodos morfológicos e de *Chan-Vese (CV) level set* [84] para segmentar os parasitas. A posição do núcleo é considerada para evitar/ignorar a detecção de outros objetos indesejados. O método foi testado em 28 amostras, tendo uma média de erro de 10,90% com o método de definição de nível CV global e 9,76% com o método de definição de nível CV local.

C. Considerações Finais

A Tabela II apresenta o desempenho dos principais modelos de detecção da LV em humanos utilizando imagens de IFI e imagens de microscopia do material biológico aspirado da medula. Além disso, vale ressaltar que os estudos levantados tem origem, em sua maioria, em Portugal. Ademais, tais estudos utilizam somente exames de imunofluorescência indireta.

A detecção da LV em humanos é um desafio, pois o parasita a ser identificado representa um pequeno ponto na imagem. Além disso, ruídos na imagem podem conter características semelhantes. A baixa qualidade de algumas imagens é outro problema que dificulta a detecção de infecções de LV.

Adicionalmente, poucas pesquisas investigaram as técnicas de *Deep Learning* para detecção de LV em humanos, além de pré-processamento, aumento de dados e validação utilizando a média de várias iterações de classificação. Apenas o trabalho de Górriz et al. [15] utiliza DL, como Redes Neurais Convolucionais (CNN), para classificação e segmentação de parasitas de *Leishmania* em imagens microscópicas.

V. DESAFIOS E DIREÇÕES DA PESQUISA

A. Bases de Dados Privadas

Os trabalhos relacionados ao estado da arte apresentaram dificuldades na aquisição de imagens de campos de lâminas.

TABLA II

DESEMPENHO DOS MODELOS DE DETECÇÃO DA LV EM HUMANOS UTILIZANDO IMAGENS DE IMUNOFLOUORESCÊNCIA INDIRETA (IFI) E IMAGENS DE MICROSCOPIA DO ASPIRADO DA MEDULA.

Método	Ano	País	Exame	Técnicas	Acc(%)	Prec(%)	Recall(%)	FI(%)	Dice(%)	ES(%)
Nogueira [55]	2011	Portugal	IFI	Otsu - SVM	94,3	-	-	-	-	-
Nogueira e Teófilo [60]	2012	Portugal	IFI	Otsu - SVM	94,9	-	-	-	-	-
Nogueira e Teófilo [59]	2012	Portugal	IFI	Otsu - SVM - Modelos de Mistura Gaussiana	94,3	-	-	-	-	-
Leal et al. [51]	2012	Portugal	IFI	Diferença de Gaussiana - Otsu	-	-	-	-	-	20,0
Ferro et al. [54]	2013	Portugal	IFI	Diferença de Gaussiana - Otsu	-	-	-	-	-	21,6
Neves et al. [49]	2013	Portugal	IFI	K-means	-	86,8	87,1	86,9	-	-
Neves et al. [32]	2014	Portugal	IFI	K-means	-	81,5	87,6	84,4	-	-
Ouertani et al. [47]	2014	Tunísia	IFI	Otsu - K-means	30,4	85,5	26,6	40,6	-	-
Farahi et al. [83]	2015	Iran	Microscopia	Chan-Vese (CV) level set	-	-	-	-	-	9,7
Ouertani et al. [56]	2016	Tunísia	IFI	Watershed	70,0	-	-	-	-	-
Górriz et al. [15]	2018	Espanha	Microscopia	U-Net - CNN	-	75,7	82,3	77,7	77,7	-
Salazar et al. [42]	2019	Colômbia	Microscopia	Crescimento de Região	-	-	-	-	85,0	-
Isaza-Jaimes et al. [80]	2020	Colômbia	Microscopia	Método próprio	78,7	-	-	-	-	-
Coelho et al. [81]	2020	Brasil	Microscopia	Morfologia Matemática	95,0	-	-	-	-	-

Exame: tipo de exame utilizado para aquisição das imagens; Acc: acurácia; Prec: precisão; FI: FI-score; ES: erro de segmentação dos parasitas.

A maioria dos conjuntos de dados são privados e analisam poucas imagens em seus estudos. Dessa forma, enfrentamos um problema de aquisição de dados.

Farahi et al. [79] disponibilizam um conjunto de dados aberto para pesquisa clínica e computacional contendo 45 imagens microscópicas do aspirado da medula óssea de pacientes com LV. Para a aquisição dos dados, foi utilizada uma câmera digital (Sony DSC-H9) acoplada a um microscópio óptico (Olympus-CH40RF200)???. Esse artigo não foi retornado pela string de busca devido seu texto ser escrito em idioma Persa.

B. Pré-Processamento

O pré-processamento é uma etapa inicial no desenvolvimento de sistemas de Visão Computacional [85]. É o processo de tratar as imagens, redimensioná-las, remover ruídos, ajustar brilho e balancear contraste [86]. Com isso, é possível obter uma melhor representação da imagem para o problema em questão, tornando, por exemplo, regiões de interesse mais evidentes [87]. A aplicação dessa técnica resulta em melhorias significativas na precisão e na eficiência do sistema [88]. Nessa revisão sistemática, os trabalhos de Farahi et al. [83], Isaza-Jaimes et al. [80], Leal et al. [51], Nogueira [55], Nogueira e Teófilo [59], [60], Ouertani et al. [56] e Salazar et al. [42] aplicam o pré-processamento de imagens em seus estudos.

C. Segmentação

Geralmente, um dos principais desafios no diagnóstico médico de Leishmanioses é a subjetividade no momento da análise [89]. O resultado final dado pelo especialista, pode ser influenciado pela sua experiência, fadiga e pelo ambiente de trabalho, isso em conjunto com a complexidade da imagem pode resultar em um o diagnóstico impreciso [90]. Nesse cenário, a segmentação tem o objetivo de facilitar a análise da imagem particionando-a em vários segmentos com o intuito de isolar regiões de interesse na imagem [91], como os macrófagos e as amastigotas.

A segmentação das imagens facilita a análise do especialista e traz benefícios para técnicas de VC, pois a imagem a ser

processada será menor e menos complexa [92], trazendo assim uma melhor eficiência e precisão [93].

É importante destacar que a maioria dos trabalhos levantados utilizam a segmentação, seja como objetivo final do método proposto ou como técnica intermediária no processo de extração de atributos e classificação das imagens. Somente o trabalho de Isaza-Jaimes et al. [80] não aplica segmentação. Além disso, apenas o trabalho de Górriz et al. [15] utiliza a arquitetura U-Net para segmentação das imagens, os demais utilizam algoritmos clássicos da literatura como limiar de Otsu, K-means e Watershed [94].

D. Extração de Características e Classificação

A etapa de classificação é uma das principais etapas no processo de diagnóstico automático e preciso de doenças [95]. Através da aplicação de técnicas de VC são extraídos atributos e padrões das imagens que serão utilizados para treinar modelos de classificação [96], auxiliando o trabalho dos profissionais de saúde no diagnóstico da LV em humanos. Esse método automático irá poupar tempo e tornar mais preciso e eficiente o diagnóstico [97].

A classificação da LV em imagens de microscópio é um desafio, pois o parasita a ser identificado representa um pequeno ponto na imagem da lâmina de microscópio [15], além da presença de ruídos e baixa qualidade das imagens [98].

Nesse contexto, observamos que nove trabalhos levantados realizam alguma etapa de classificação. Alguns trabalhos realizam a classificação utilizando imagens de IFI: Gomes-Alves et al. [69], Nogueira [55], Nogueira e Teófilo [59], [60], Moraes e Alcântara [58] e Siqueira-Neto [61]. Outros três trabalhos utilizam imagens do aspirado da medula no processo de classificação: Coelho et al. [81], Górriz et al. [15] e Isaza-Jaimes et al. [80].

E. Técnicas de Deep Learning Utilizadas

1) *Aumento de dados*: Quando a base de imagens adquirida apresenta poucas amostras, é recomendado utilizar a técnica de aumento de dados para aumentar a diversidade do conjunto de treinamento e aprimorar o desempenho da classificação de

imagens médicas [99]. Por meio da aplicação de uma série de transformações matemáticas e aleatórias (mas realistas) no conjunto pré-existente de imagens, é possível gerar um conjunto de novas imagens representativas do conjunto original [100]. Com isso, os modelos de DL podem melhorar seu aprendizado, aumentando a generalização [101].

O trabalho de Górriz et al. [15] utiliza técnicas de aumento de dados (como rotações, inversões horizontais e verticais e suas combinações) para otimizar o treinamento do modelo de classificação e assim obter melhores resultados.

2) *Redes Neurais Convolucionais (CNN)*: Dentre as várias técnicas de DL, as que mais se destacam para a classificação e reconhecimento de imagens são as CNNs [102]. As CNNs são sistemas de aprendizado profundo capazes de identificar características em imagens, e através disso, diferenciar essas imagens entre si [103]. As CNNs são uma ótima técnica para a extração de atributos em imagens, pois são mais eficientes em comparação com outros algoritmos clássicos [104]. Um exemplo disso é a arquitetura U-Net, que é uma CNN desenvolvida para o reconhecimento de padrões e processamento de imagens biomédicas [76]. Essa rede foi utilizada por Górriz et al. [15] na segmentação de LV, desenvolvendo um modelo de U-Net que detecta parasitas de *Leishmania* em imagens microscópicas.

3) *Desafios da Utilização de Deep Learning*: Os estudos sobre LV em humanos enfrentam problemas de aquisição de imagens, pois todos os estudos do estado da arte utilizam bases de imagens privadas e com poucas amostras. Esse número reduzido de imagens pode resultar em sobreajuste (*overfitting* [105]) do modelo e impactar negativamente nos resultados de detecção. Isso normalmente ocorre com os sistemas baseados em CNNs, pois necessitam de uma grande quantidade de imagens para realizar o treinamento dos modelos de classificação e/ou segmentação [106]. Para resolver esse problema, são aplicadas técnicas de aumento de dados para criar novas imagens representativas [107].

A partir do levantamento das técnicas utilizadas nos trabalhos relacionados (Tabela II), é possível observar que as técnicas clássicas de segmentação de imagens como Otsu e K-means são utilizadas pela maioria dos trabalhos e apresentam bons resultados. Percebe-se também que as técnicas de DL, como U-Net e CNN, apresentam resultados promissores na detecção de LV em humanos.

O trabalho Górriz et al. [15] possui um papel de destaque, pois é o único trabalho que emprega DL em imagens microscópicas para diagnóstico de LV. Porém, há diversos trabalhos que empregam DL em aplicações similares, como segmentação de parasitas da doença de chagas [108] e a detecção de parasitas da malária em imagens de microscopia [109], [110], [111].

VI. CONCLUSÃO

Neste artigo, foi realizado um levantamento de trabalhos do estado da arte que utilizam técnicas de Visão Computacional para auxiliar na detecção da LV em humanos. Apesar dessas técnicas apresentarem resultados promissores no auxílio ao diagnóstico da LV, elas ainda enfrentam alguns desafios. Os

trabalhos do estado da arte enfrentam problemas na aquisição de imagens. A maioria dos estudos utiliza bases de dados privadas e com poucas imagens.

O estado da arte mostra que os métodos de detecção que utilizam VC podem rastrear pacientes com infecções de LV utilizando a análise de imagens, uma vez que a avaliação manual de imagens médicas é cansativa e trabalhosa. Esses métodos de detecção podem auxiliar o trabalho dos profissionais de saúde no diagnóstico dessa doença. No entanto, há poucas imagens de campos de lâminas de LV em humanos, o que é essencial para oferecer um sistema viável a ser utilizado em ambientes reais.

Foi possível observar que um método de segmentação dos parasitas torna o sistema de detecção mais eficiente, sendo mais rápido e tendo um nível maior de acurácia. Portanto, pesquisas voltadas para segmentação de amastigotas contribuirão de forma eficaz para o desenvolvimento de sistemas de visão computacional para detecção de LV em humanos, a fim de se obter um diagnóstico precoce da doença, como também otimizar o trabalho manual da avaliação clínica.

AGRADECIMENTOS

Este trabalho contou com o apoio da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Piauí (FAPEPI) - <http://www.fapepi.pi.gov.br> (Edital nº 02/2021). Agradecemos também ao Dr. Carlos Henrique Nery Costa pelo laboratório (LABLEISH) onde parte do projeto está sendo desenvolvido.

REFERÊNCIAS

- [1] World Health Organization, "Global leishmaniasis surveillance, 2017–2018, and first report on 5 additional indicators," *Weekly Epidemiological Record*, vol. 95, no. 25, pp. 265 – 279, 2020.
- [2] M. O. Harhay, P. L. Olliaro, D. L. Costa, and C. H. N. Costa, "Urban parasitology: visceral leishmaniasis in Brazil," *Trends in Parasitology*, vol. 27, no. 9, pp. 403–409, 2011. [Online]. Available: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S147149221100064X>
- [3] World Health Organization, "Number of cases of cutaneous leishmaniasis reported," Aug. 2021. [Online]. Available: <https://www.who.int/data/gho/data/indicators/indicator-details/GHO/number-of-cases-of-cutaneous-leishmaniasis-reported> (accessed Apr. 03, 2022).
- [4] World Health Organization, "Number of cases of visceral leishmaniasis reported," Aug. 2021. [Online]. Available: <https://www.who.int/data/gho/data/indicators/indicator-details/GHO/number-of-cases-of-visceral-leishmaniasis-reported> (accessed Apr. 03, 2022).
- [5] Pan American Health Organization, "Visceral leishmaniasis," Mar. 2022. [Online]. Available: <https://www.paho.org/en/topics/leishmaniasis/visceral-leishmaniasis> (accessed Mar. 21, 2022).
- [6] G. Herrera, N. Barragán, N. Luna, D. Martínez, F. De Martino, J. Medina, S. Niño, L. Páez, A. Ramírez, L. Vega et al., "An interactive database of leishmania species distribution in the Americas," *Scientific data*, vol. 7, no. 1, pp. 1–7, 2020.
- [7] A. Kumar, S. C. Pandey, and M. Samant, "Dna-based microarray studies in visceral leishmaniasis: identification of biomarkers for diagnostic, prognostic and drug target for treatment," *Acta Tropica*, vol. 208, p. 105512, 2020.
- [8] R. Kumar and S. Nylén, "Immunobiology of visceral leishmaniasis," *Frontiers in Immunology*, vol. 3, p. 251, 2012.
- [9] L. A. Silva, H. D. Romero, G. A. N. Nascentes, R. T. Costa, V. Rodrigues, and A. Prata, "Antileishmania immunological tests for asymptomatic subjects living in a visceral leishmaniasis-endemic area in Brazil," *The American journal of tropical medicine and hygiene*, vol. 84, no. 2, p. 261, 2011.

- [10] J. M. Silva, D. A. Zacarias, L. C. D. Figueirêdo, M. R. A. Soares, E. A. Ishikawa, D. L. Costa, and C. H. Costa, "Bone marrow parasite burden among patients with new world kala-azar is associated with disease severity," *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, vol. 90, pp. 621–626, 2014.
- [11] R. R. Silva, F. H. Araújo, D. M. Ushizima, A. G. Bianchi, C. M. Carneiro, and F. N. Medeiros, "Radial feature descriptors for cell classification and recommendation," *Journal of Visual Communication and Image Representation*, vol. 62, pp. 105–116, 2019.
- [12] F. H. Araújo, R. R. Silva, F. N. Medeiros, J. F. R. Neto, P. H. C. Oliveira, A. G. C. Bianchi, and D. Ushizima, "Active contours for overlapping cervical cell segmentation," *International Journal of Biomedical Engineering and Technology*, vol. 35, no. 1, pp. 70–92, 2021.
- [13] E. D. Carvalho, A. O. Filho, R. R. Silva, F. H. Araújo, J. O. Diniz, A. C. Silva, A. C. Paiva, and M. Gattass, "Breast cancer diagnosis from histopathological images using textural features and CBR," *Artificial Intelligence in Medicine*, vol. 105, p. 101845, 2020.
- [14] R. R. V. e Silva, F. H. D. de Araújo, L. M. R. dos Santos, R. M. S. Veras, and F. N. S. de Medeiros, "Optic disc detection in retinal images using algorithms committee with weighted voting," *IEEE Latin America Transactions*, vol. 14, no. 5, pp. 2446–2454, 2016.
- [15] M. Górriz, A. Aparício, B. Raventós, V. Vilaplana, E. Sayrol, and D. López-Codina, "Leishmaniasis parasite segmentation and classification using deep learning," in *Articulated Motion and Deformable Objects*, F. J. Perales and J. Kittler, Eds. Cham: Springer International Publishing, 2018, pp. 53–62.
- [16] S. Sundar and M. Rai, "Laboratory diagnosis of visceral leishmaniasis," *Clinical and Vaccine Immunology*, vol. 9, no. 5, pp. 951–958, 2002.
- [17] G. Lebedev, H. Klimentko, S. Kachkovskiy, V. Konushin, I. Ryabkov, and A. Gromov, "Application of artificial intelligence methods to recognize pathologies on medical images," vol. 126. Elsevier B.V., 2018, pp. 1171–1177.
- [18] G. Terán-Ángel, V. Rodríguez, R. Silva, O. Zerpa, H. Schallig, M. Ulrich, and M. Cabrera, "Non invasive diagnostic tools for visceral leishmaniasis: a comparison of the immunoserological tests dat, rk26 and rk39," *Biomedica*, vol. 30, no. 1, pp. 39–45, 2010.
- [19] M. de Paiva-Cavalcanti, R. C. S. de Moraes, R. Pessoa-e Silva, L. A. M. Trajano-Silva, S. d. C. Gonçalves-de Albuquerque, D. d. H. C. Tavares, M. C. A. Brelaz-de Castro, V. R. A. Pereira *et al.*, "Leishmaniasis diagnosis: an update on the use of immunological and molecular tools," *Cell & bioscience*, vol. 5, no. 1, pp. 1–10, 2015.
- [20] J. Cunningham, E. Hasker, P. Das, S. El Safi, H. Goto, D. Mondal, M. Mbuchi, M. Mukhtar, A. Rabello, S. Rijal *et al.*, "A global comparative evaluation of commercial immunochromatographic rapid diagnostic tests for visceral leishmaniasis," *Clinical infectious diseases*, vol. 55, no. 10, pp. 1312–1319, 2012.
- [21] L. d. A. Silva, H. D. Romero, A. Prata, R. T. Costa, E. Nascimento, S. F. G. Carvalho, and V. Rodrigues, "Immunologic tests in patients after clinical cure of visceral leishmaniasis," *The American journal of tropical medicine and hygiene*, vol. 75, no. 4, pp. 739–743, 2006.
- [22] O. P. Singh and S. Sundar, "Developments in diagnosis of visceral leishmaniasis in the elimination era," *Journal of parasitology research*, vol. 2015, 2015.
- [23] J. M. Burns, W. G. Shreffler, D. R. Benson, H. W. Ghalib, R. Badaro, and S. G. Reed, "Molecular characterization of a kinesin-related antigen of leishmania chagasi that detects specific antibody in african and american visceral leishmaniasis," *Proceedings of the National Academy of Sciences*, vol. 90, no. 2, pp. 775–779, 1993.
- [24] S. F. G. Carvalho, E. M. Lemos, R. Corey, and R. Dietze, "Performance of recombinant k39 antigen in the diagnosis of brazilian visceral leishmaniasis," *The American journal of tropical medicine and hygiene*, vol. 68, no. 3, pp. 321–324, 2003.
- [25] S. Sundar, R. Singh, K. Bharti, R. Maurya, I. Delafosse, and P. Jacquier, "Evaluation of a new rapid immunochromatographic diagnostic test (diamed-it leish) for indian visceral leishmaniasis and pkd1," in *The American Society of Tropical Medicine and Hygiene: ASTMH 52 nd Annual Meeting*, 2003, pp. 3–7.
- [26] M. Boelaert, K. Verdonck, J. Menten, T. Sunyoto, J. van Griensven, F. Chappuis, and S. Rijal, "Rapid tests for the diagnosis of visceral leishmaniasis in patients with suspected disease," *Cochrane Database of Systematic Reviews*, no. 6, 2014.
- [27] V. Peruhype-Magalhães, T. S. Machado-de Assis, and A. Rabello, "Use of the kala-azar detect® and it-leish® rapid tests for the diagnosis of visceral leishmaniasis in brazil," *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*, vol. 107, pp. 951–952, 2012.
- [28] D. Müller, I. Soto-Rey, and F. Kramer, "Towards a guideline for evaluation metrics in medical image segmentation," 2022. [Online]. Available: <https://arxiv.org/abs/2202.05273>
- [29] S. C. Mendonça, W. J. Souza, M. P. Nunes, M. C. Marzochi, and S. G. Coutinho, "Indirect immunofluorescence test in new world leishmaniasis: serological and clinical relation-ship," *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, vol. 83, no. 3, pp. 347–355, 1988.
- [30] A. Harith, A. Kolk, P. Kager, J. Leeuwenburg, F. Faber, R. Muigai, S. Kiugu, and J. Laarman, "Evaluation of a newly developed direct agglutination test (dat) for serodiagnosis and sero-epidemiological studies of visceral leishmaniasis: comparison with ifat and elisa," *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, vol. 81, no. 4, pp. 603–606, 1987.
- [31] E. A. E. R. Mohammed, E. Wright, A. Rahman, A. Kolk, J. Laarman, and K. Pondman, "Serodiagnosis of sudanese visceral and mucosal leishmaniasis: comparison of elisa-immunofluorescence and indirect haemagglutination," *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, vol. 80, no. 2, pp. 271–274, 1986.
- [32] J. C. Neves, H. Castro, A. Tomás, M. Coimbra, and H. Proença, "Detection and separation of overlapping cells based on contour concavity for leishmania images," *Cytometry Part A*, vol. 85, no. 6, pp. 491–500, 2014.
- [33] P. Srivastava, A. Dayama, S. Mehrotra, and S. Sundar, "Diagnosis of visceral leishmaniasis," *Transactions of The Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, vol. 105, no. 1, pp. 1–6, 2011.
- [34] G. Srividya, A. Kulshrestha, R. Singh, and P. Salotra, "Diagnosis of visceral leishmaniasis: developments over the last decade," *Parasitology research*, vol. 110, no. 3, pp. 1065–1078, 2012.
- [35] H. Sakkas, C. Gartzonika, and S. Levidiotou, "Laboratory diagnosis of human visceral leishmaniasis," *Journal of vector borne diseases*, vol. 53, no. 1, p. 8, 2016.
- [36] S. Sundar and O. P. Singh, "Molecular diagnosis of visceral leishmaniasis," *Molecular diagnosis & therapy*, vol. 22, no. 4, pp. 443–457, 2018.
- [37] E. K. Elmahallawy, A. S. Martínez, J. Rodriguez-Granger, Y. Hoyos-Mallecot, A. Agil, J. M. N. Mari, and J. G. Fernández, "Diagnosis of leishmaniasis," *The Journal of Infection in Developing Countries*, vol. 8, no. 08, pp. 961–972, 2014.
- [38] A. Bermejo Rodriguez, J. M. Ruiz Giardin, J. Garcia Martinez, J. V. San Martin Lopez, A. Castaneda de la Mata, D. Lopez Lacomba, J. Jaqueti Aroca, and S. Walter, "Diagnostic model of visceral leishmaniasis based on bone marrow findings. study of patients with clinical suspicion in which the parasite is not observed," *European Journal of Internal Medicine*, vol. 69, pp. 42–49, 2019.
- [39] C. H. Chen, *Handbook of Pattern Recognition and Computer Vision*, 5th ed. World Scientific, 2016. [Online]. Available: <https://www.worldscientific.com/doi/abs/10.1142/9503>
- [40] J. R. Parker, *Algorithms for Image Processing and Computer Vision*, 2nd ed. Wiley Publishing, 2010.
- [41] B. Zhang, "Computer vision vs. human vision," in *9th IEEE International Conference on Cognitive Informatics (ICCI'10)*, 2010, pp. 3–3.
- [42] J. Salazar, M. Vera, Y. Huérfano, M. I. Vera, E. Gelvez-Almeida, and O. Valbuena, "Semi-automatic detection of the evolutionary forms of visceral leishmaniasis in microscopic blood smears," *Journal of Physics: Conference Series*, vol. 1386, p. 012135, 2019. [Online]. Available: <https://doi.org/10.1088/1742-6596/1386/1/012135>
- [43] E. H. Shortliffe, E. H. Shortliffe, J. J. Cimino, and J. J. Cimino, *Biomedical Informatics: Computer Applications in Health Care and Biomedicine*, 4th ed. Springer, 2014.
- [44] M. Nixon and A. Aguado, *Feature extraction and image processing for computer vision*, 4th ed. Academic press, 2019.
- [45] R. Scherer, *Computer Vision Methods for Fast Image Classification and Retrieval*, 1st ed. Springer Cham, 2020.
- [46] B. Kitchenham, "Procedures for performing systematic reviews," *Keele, UK, Keele University*, vol. 33, no. 2004, pp. 1–26, 2004.
- [47] F. Ouertani, H. Amiri, J. Bettaib, R. Yazidi, and A. Ben Salah, "Adaptive automatic segmentation of leishmaniasis parasite in indirect immunofluorescence images," in *2014 36th Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society*, 2014, pp. 4731–4734.
- [48] B. R. Jipkate and V. Gohokar, "A comparative analysis of fuzzy c-means clustering and k means clustering algorithms," *International Journal Of Computational Engineering Research*, vol. 2, no. 3, pp. 737–739, 2012.
- [49] J. C. Neves, H. Castro, H. Proença, and M. Coimbra, "Automatic annotation of leishmania infections in fluorescence microscopy

- images,” in *Image Analysis and Recognition*, M. Kamel and A. Campilho, Eds. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2013, pp. 613–620.
- [50] T. Lindeberg, “Scale-space theory in computer vision,” *Kluwer Academic Publishers*, 1994.
- [51] P. Leal, L. Ferro, M. Marques, S. Romão, T. Cruz, A. M. Tomás, H. Castro, and P. Quelhas, “Automatic assessment of leishmania infection indexes on in vitro macrophage cell cultures,” in *Image Analysis and Recognition*, A. Campilho and M. Kamel, Eds. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2012, pp. 432–439.
- [52] R. A. Schowengerdt, “Chapter 6 - spatial transforms,” in *Remote Sensing (Third Edition)*, third edition ed., R. A. Schowengerdt, Ed. Burlington: Academic Press, 2007, pp. 229–283.
- [53] N. Otsu, “A threshold selection method from gray-level histograms,” *IEEE transactions on systems, man, and cybernetics*, vol. 9, no. 1, pp. 62–66, 1979.
- [54] L. Ferro, M. Marques, P. Leal, S. Romão, T. Cruz, A. M. Tomás, H. Castro, and P. Quelhas, “Automatic spectral unmixing of leishmania infection macrophage cell cultures image,” in *Image Analysis and Recognition*, M. Kamel and A. Campilho, Eds. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2013, pp. 621–629.
- [55] P. A. Nogueira, “Determining leishmania infection levels by automatic analysis of microscopy images,” Master’s thesis, Department of Computer Science, University of Porto, 2011.
- [56] F. Ouertani, H. Amiri, J. Bettaib, R. Yazidi, and A. Ben Salah, “Hybrid segmentation of fluorescent leishmania-infected images using a watershed and combined region merging based method,” in *2016 38th Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society (EMBC)*, 2016, pp. 3910–3913.
- [57] K. Haris, S. Efstratiadis, N. Maglaveras, and A. Katsaggelos, “Hybrid image segmentation using watersheds and fast region merging,” *IEEE Transactions on Image Processing*, vol. 7, no. 12, pp. 1684–1699, 1998.
- [58] C. B. Moraes and L. M. Alcântara, “Quantification of parasite loads by automated microscopic image analysis,” in *Leishmania*. Humana Press, New York, NY, 2019, pp. 279–288.
- [59] P. A. Nogueira and L. F. Teófilo, “Automatic analysis of leishmania infected microscopy images via gaussian mixture models,” in *Advances in Artificial Intelligence - SBIA 2012*, L. N. Barros, M. Finger, A. T. Pozo, G. A. Giménez-Lugo, and M. Castilho, Eds. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2012, pp. 82–91.
- [60] P. A. Nogueira and L. F. Teófilo, “A probabilistic approach to organic component detection in leishmania infected microscopy images,” in *Artificial Intelligence Applications and Innovations*, L. Iliadis, I. Maglogiannis, and H. Papadopoulos, Eds. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2012, pp. 1–10.
- [61] J. L. Siqueira-Neto, S. Moon, J. Jang, G. Yang, C. Lee, H. K. Moon, E. Chatelain, A. Genovesio, J. Cechetto, and L. H. Freitas-Junior, “An image-based high-content screening assay for compounds targeting intracellular leishmania donovani amastigotes in human macrophages,” *PLOS Neglected Tropical Diseases*, vol. 6, no. 6, pp. 1–9, 2012.
- [62] M. Hearst, S. Dumais, E. Osuna, J. Platt, and B. Scholkopf, “Support vector machines,” *IEEE Intelligent Systems and their Applications*, vol. 13, no. 4, pp. 18–28, 1998.
- [63] D. Tien and P. Nickolls, “A combined statistical and rule-based classifier,” in *Images of the Twenty-First Century. Proceedings of the Annual International Engineering in Medicine and Biology Society*, 1989, pp. 1829 vol.6–.
- [64] D. A. Reynolds, “Gaussian mixture models,” *Encyclopedia of biometrics*, vol. 741, pp. 659–663, 2009.
- [65] A. Buades, B. Coll, and J. M. Morel, “On image denoising methods,” *CMLA Preprint*, vol. 5, 2004.
- [66] A. Kuijper, “On detecting all saddle points in 2d images,” *Pattern Recognition Letters*, vol. 25, no. 15, pp. 1665–1672, 2004.
- [67] M. I. Karavelas, “A robust and efficient implementation for the segment voronoi diagram,” in *International symposium on Voronoi diagrams in science and engineering*, vol. 2004. Citeseer, 2004, pp. 51–62.
- [68] K. Suzuki, I. Horiba, and N. Sugie, “Linear-time connected-component labeling based on sequential local operations,” *Computer Vision and Image Understanding*, vol. 89, no. 1, pp. 1–23, 2003.
- [69] A. G. Gomes-Alves, A. F. Maia, T. Cruz, H. Castro, and A. M. Tomás, “Development of an automated image analysis protocol for quantification of intracellular forms of leishmania spp,” *PLOS ONE*, vol. 13, no. 8, pp. 1–15, 2018. [Online]. Available: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0201747>
- [70] E. Yazdanparast, A. Dos Anjos, D. Garcia, C. Loeuillet, H. R. Shahbazkia, and B. Vergnes, “Inspect, an open-source and versatile software for automated quantification of (leishmania) intracellular parasites,” *PLOS Neglected Tropical Diseases*, vol. 8, no. 5, pp. 1–10, 2014. [Online]. Available: <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0002850>
- [71] S. Beucher, “The watershed transformation applied to image segmentation,” *Scanning Microscopy*, vol. 1992, no. 6, p. 28, 1992.
- [72] R. C. Gonzalez and R. E. Woods, “Digital image processing addison-wesley,” *Reading, Ma*, 1992.
- [73] R. Maini and H. Aggarwal, “Study and comparison of various image edge detection techniques,” *International journal of image processing (IJIP)*, vol. 3, no. 1, pp. 1–11, 2009.
- [74] World Health Organization, “Leishmaniasis.” [Online]. Available: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/leishmaniasis> (accessed Jan. 11, 2022).
- [75] D. Li and Y. Dong, “Deep learning,” *Foundations and trends in signal processing*, vol. 7, pp. 197–387, 2014.
- [76] O. Ronneberger, P. Fischer, and T. Brox, “U-net: Convolutional networks for biomedical image segmentation,” in *Medical Image Computing and Computer-Assisted Intervention – MICCAI 2015*, N. Navab, J. Hornegger, W. M. Wells, and A. F. Frangi, Eds. Cham: Springer International Publishing, 2015, pp. 234–241.
- [77] N. Suman Gupta, “Visceral leishmaniasis: experimental models for drug discovery,” *The Indian journal of medical research*, vol. 133, no. 1, p. 27, 2011.
- [78] R. Adams and L. Bischof, “Seeded region growing,” *IEEE Transactions on Pattern Analysis and Machine Intelligence*, vol. 16, no. 6, pp. 641–647, 1994.
- [79] A. M. M. Farahi, H. Rabbani, M. Farahi, H. Rabbani, and A. Talebi, “Automatic boundary extraction of leishman bodies in bone marrow samples from patients with visceral leishmaniasis,” *Journal of Isfahan Medical School*, vol. 32, no. 286, pp. 726–739, 2014. [Online]. Available: <https://sites.google.com/site/hosseinrabbani/ghorasan/datasets-1/dataset-of-leishmania-parasite-in-microscopic-images>
- [80] A. Isaza-Jaimes, V. Bermúdez, A. Bravo, J. S. Castrillo, J. D. H. Lalinde, C. A. Fossi, A. Flórez, and J. E. Rodríguez, “A computational approach for leishmania genus protozoa detection in bone marrow samples from patients with visceral leishmaniasis,” *Archivos Venezolanos de Farmacología y Terapéutica*, vol. 39, no. 7, pp. 908–920, 2020.
- [81] G. Coelho, A. R. Galvão Filho, R. Viana-de Carvalho, G. Teodoro-Laureano, S. Almeida-da Silveira, C. Eleutério-da Silva, R. M. P. Pereira, A. d. S. Soares, T. W. d. L. Soares, A. Gomes-da Silva, H. B. Napolitano, and C. J. Coelho, “Microscopic image segmentation to quantification of leishmania infection in macrophages,” *Frontiers: Journal of Social, Technological and Environmental Science*, vol. 9, no. 1, pp. 488–498, 2020.
- [82] J. Serra, “Image analysis and mathematical morphology,” 1982. [Online]. Available: <https://cir.nii.ac.jp/crid/1571980073970615552>
- [83] M. Farahi, H. Rabbani, A. Talebi, O. Sarrafzadeh, and S. Ensafi, “Automatic segmentation of leishmania parasite in microscopic images using a modified cv level set method,” in *Seventh International Conference on Graphic and Image Processing (ICGIP 2015)*, vol. 9817. International Society for Optics and Photonics, 2015, p. 98170K.
- [84] H. Tan, H. Jiang, A. Dong, B. Yang, and L. Zhang, “C-v level set based cell image segmentation using color filter and morphology,” in *2014 International Conference on Information Science, Electronics and Electrical Engineering*, vol. 2, 2014, pp. 1073–1077.
- [85] E. Vocaturo, E. Zumpano, and P. Veltri, “Image pre-processing in computer vision systems for melanoma detection,” in *2018 IEEE International Conference on Bioinformatics and Biomedicine (BIBM)*, 2018, pp. 2117–2124.
- [86] E. Vocaturo, E. Zumpano, and P. Veltri, “Image pre-processing in computer vision systems for melanoma detection,” in *2018 IEEE International Conference on Bioinformatics and Biomedicine (BIBM)*, 2018, pp. 2117–2124.
- [87] Y. Chen, T. Ogata, T. Ueyama, T. Takada, and J. Ota, “Automated design of the field-of-view, illumination, and image pre-processing parameters of an image recognition system,” in *2017 13th IEEE Conference on Automation Science and Engineering (CASE)*, 2017, pp. 1079–1084.
- [88] R. B. Jeyavathana, R. Balasubramanian, and A. A. Pandian, “A survey: analysis on pre-processing and segmentation techniques for medical images,” *International Journal of Research and Scientific Innovation (IJRSI)*, vol. 3, 2016.
- [89] M. S. Bahreini, S. H. Hosseini, M. Ghofrani-Jahromi, R. Shahriarirad, Y. Amirmoezzi *et al.*, “A machine learning-based system for detecting leishmaniasis in microscopic images,” *BMC infectious diseases*, vol. 22, no. 1, pp. 1–6, 2022.

- [90] J. N. Itri, R. R. Tappouni, R. O. McEachern, A. J. Pesch, and S. H. Patel, "Fundamentals of diagnostic error in imaging," *Radiographics*, vol. 38, no. 6, pp. 1845–1865, 2018.
- [91] F. H. Araújo, R. R. Silva, F. N. Medeiros, J. F. R. Neto, P. H. C. Oliveira, A. G. C. Bianchi, and D. Ushizima, "Active contours for overlapping cervical cell segmentation," *International Journal of Biomedical Engineering and Technology*, vol. 35, no. 1, pp. 70–92, 2021.
- [92] M. Aljabri and M. AlGhamdi, "A review on the use of deep learning for medical images segmentation," *Neurocomputing*, vol. 506, pp. 311–335, 2022.
- [93] M. H. Hesamian, W. Jia, X. He, and P. Kennedy, "Deep learning techniques for medical image segmentation: achievements and challenges," *Journal of digital imaging*, vol. 32, no. 4, pp. 582–596, 2019.
- [94] D. Liu and J. Yu, "Otsu method and K-means," in *Proceedings - 2009 9th International Conference on Hybrid Intelligent Systems, HIS 2009*, vol. 1, 2009, pp. 344–349.
- [95] L. Cai, J. Gao, and D. Zhao, "A review of the application of deep learning in medical image classification and segmentation," *Annals of translational medicine*, vol. 8, no. 11, 2020.
- [96] G. Litjens, T. Kooi, B. E. Bejnordi, A. A. A. Setio, F. Ciompi, M. Ghafoorian, J. A. Van Der Laak, B. Van Ginneken, and C. I. Sánchez, "A survey on deep learning in medical image analysis," *Medical image analysis*, vol. 42, pp. 60–88, 2017.
- [97] D. Shen, G. Wu, and H.-I. Suk, "Deep learning in medical image analysis," *Annual review of biomedical engineering*, vol. 19, pp. 221–248, 2017.
- [98] F. Xing, Y. Xie, H. Su, F. Liu, and L. Yang, "Deep learning in microscopy image analysis: A survey," *IEEE Transactions on Neural Networks and Learning Systems*, vol. 29, no. 10, pp. 4550–4568, 2018.
- [99] J. Rama, C. Nalini, and A. Kumaravel, "Image pre-processing: enhance the performance of medical image classification using various data augmentation technique," *ACCENTS Transactions on Image Processing and Computer Vision*, vol. 5, no. 14, p. 7, 2019.
- [100] TensorFlow, "Data augmentation." [Online]. Available: https://www.tensorflow.org/tutorials/images/data_augmentation (accessed Mai. 15, 2022).
- [101] P. Vieira, O. Sousa, D. Magalhães, R. Rabêlo, and R. Silva, "Detecting pulmonary diseases using deep features in x-ray images," *Pattern Recognition*, vol. 119, p. 108081, 2021.
- [102] Q. Li, W. Cai, X. Wang, Y. Zhou, D. D. Feng, and M. Chen, "Medical image classification with convolutional neural network," in *2014 13th international conference on control automation robotics & vision (ICARCV)*. IEEE, 2014, pp. 844–848.
- [103] S. M. Anwar, M. Majid, A. Qayyum, M. Awais, M. Alnowami, and M. K. Khan, "Medical image analysis using convolutional neural networks: a review," *Journal of medical systems*, vol. 42, no. 11, pp. 1–13, 2018.
- [104] T. Kaur and T. K. Gandhi, "Deep convolutional neural networks with transfer learning for automated brain image classification," *Machine Vision and Applications*, vol. 31, no. 3, pp. 1–16, 2020.
- [105] S. Liu and W. Deng, "Very deep convolutional neural network based image classification using small training sample size," in *2015 3rd IAPR Asian conference on pattern recognition (ACPR)*. IEEE, 2015, pp. 730–734.
- [106] I. Goodfellow, Y. Bengio, and A. Courville, *Deep Learning*. MIT Press, 2016. [Online]. Available: <http://www.deeplearningbook.org>
- [107] C. Shorten and T. M. Khoshgoftaar, "A survey on image data augmentation for deep learning," *Journal of big data*, vol. 6, no. 1, pp. 1–48, 2019.
- [108] A. Ojeda-Pat, A. Martin-Gonzalez, C. Brito-Loeza, H. Ruiz-Piña, and D. Ruz-Suarez, "Effective residual convolutional neural network for Chagas disease parasite segmentation," *Medical & Biological Engineering & Computing*, vol. 60, no. 4, pp. 1099–1110, 2022.
- [109] F. Yang, M. Poostchi, H. Yu, Z. Zhou, K. Silamut, J. Yu, R. J. Maude, S. Jaeger, and S. Antani, "Deep learning for smartphone-based malaria parasite detection in thick blood smears," *IEEE Journal of Biomedical and Health Informatics*, vol. 24, no. 5, pp. 1427–1438, 2020.
- [110] Vijayalakshmi A and Rajesh Kanna B, "Deep learning approach to detect malaria from microscopic images," *Multimedia Tools and Applications 2019 79:21*, vol. 79, no. 21, pp. 15 297–15 317, 2019.
- [111] H. K. Ragb, I. T. Dover, and R. Ali, "Deep convolutional neural network ensemble for improved malaria parasite detection," in *2020 IEEE Applied Imagery Pattern Recognition Workshop (AIPR)*, 2020, pp. 1–10.



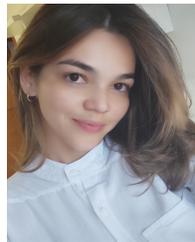
Clésio Gonçalves é mestrando em Engenharia Elétrica na Universidade Federal do Piauí (UFPI) e professor de informática do Instituto Federal do Sertão Pernambucano - Campus Ouricuri. Possui especialização em Redes de Computadores (ESAB) e Banco de Dados (ISEPRO) e possui graduação em Análise e Desenvolvimento de Sistemas pelo Instituto Federal do Piauí (IFPI). Suas pesquisas se concentram em visão computacional aplicado a imagens médicas.



Armando Luz é estudante do curso de Bacharelado em Sistemas de Informação pela Universidade Federal do Piauí (UFPI). Suas pesquisas se concentram em visão computacional aplicado a imagens médicas.



Anderson Rodrigues é estudante do curso de Bacharelado em Sistemas de Informação pela Universidade Federal do Piauí (UFPI). Suas pesquisas se concentram em visão computacional aplicado a imagens médicas.



Nathália Andrade possui graduação em Medicina Veterinária pela Universidade Federal do Piauí (2015). Tem experiência na área de Zoonoses, com ênfase em LV. Atualmente realiza projetos de pesquisa no Laboratório de Leishmaniose do Centro de Inteligência e Agravos Tropicais, Emergentes e Negligenciados (CIATEN/IDS), como "Criopreservação e clonagem de cepas de Leishmania" e "Classificação Automática de Leishmaniose".



Marvin Lemos é Auditor Fiscal de Controle Externo do Tribunal de Contas do Estado do Piauí, professor da Universidade Estadual do Piauí (UESPI) e pesquisador do Laboratório Aprendizado de Máquina e Big Data Analytics (Lambda). Mestre e Doutor em Informática Aplicada pela Universidade de Fortaleza (Unifor). Suas pesquisas se concentram em internet das coisas e inteligência computacional.



Bruno Guedes é professor da Universidade Federal do Piauí (UFPI) e coordenador científico do núcleo de pesquisas Centro de Inteligência em Agravos Tropicais Emergentes e Negligenciados (CIATEN). Possui graduação em Biomedicina, mestrado em Ciências e Saúde (UFPI) e doutorado em microbiologia-imunologia (Université Laval, Canadá). Atua nas áreas de Saúde Pública, Microbiologia, Parasitologia e Biologia Molecular.



Romuere Silva é professor da Universidade Federal do Piauí (UFPI) Campus Senador Helvídio Nunes de Barros, Picos. Doutor em Engenharia de Teleinformática pela Universidade Federal do Ceará, graduado e mestre em Ciência da Computação pela UFPI. Suas pesquisas se concentram em visão computacional aplicado a imagens médicas.