



INSTITUTO DE PESQUISAS ENERGÉTICAS E NUCLEARES

Autarquia Associada à Universidade de São Paulo

**Desenvolvimento de uma ferramenta mobile para teste Elisa em
microcircuitos e detecção de cores com inteligência artificial**

MARCELO JOSÉ VIGORITO CAMPARA

Tese apresentada como parte dos
requisitos para obtenção do Grau de
Doutor em Ciências na Área de
Tecnologia Nuclear - Materiais

Orientador:

Prof. Dr. Anderson Zanardi de Freitas

São Paulo

2021

INSTITUTO DE PESQUISAS ENERGÉTICAS E NUCLEARES
Autarquia Associada à Universidade de São Paulo

**Desenvolvimento de uma ferramenta mobile para teste Elisa em
microcircuitos e detecção de cores com inteligência artificial**

Versão Corrigida

Versão Original disponível no IPEN

MARCELO JOSÉ VIGORITO CAMPARA

Tese apresentada como parte dos
requisitos para obtenção do Grau de
Doutor em Ciências na Área de
Tecnologia Nuclear - Materiais

Orientador:

Prof. Dr. Anderson Zanardi de Freitas

São Paulo

2021

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

Como citar:

CAMPARA, M. J. V. *Desenvolvimento de uma ferramenta mobile para teste Elisa em microcircuitos e detecção de cores com inteligência artificial*. 2021. 114 f. Tese (Doutorado em Tecnologia Nuclear), Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, IPEN-CNEN, São Paulo. Disponível em: <<http://repositorio.ipen.br/>> (data de consulta no formato: dd/mm/aaaa)

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de geração automática da Biblioteca IPEN, com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

<p>Campara, Marcelo José Vigorito Desenvolvimento de uma ferramenta mobile para teste Elisa em microcircuitos e detecção de cores com inteligência artificial / Marcelo José Vigorito Campara; orientador Anderson Zanardi de Freitas. -- São Paulo, 2021. 114 f.</p> <p>Tese (Doutorado) - Programa de Pós-Graduação em Tecnologia Nuclear (Materiais) -- Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, São Paulo, 2021.</p> <p>1. Processamento de imagens. 2. Microcircuitos microfluídicos. 3. Clusters. 4. Desenvolvimento mobile. I. Freitas, Anderson Zanardi de , orient. II. Título.</p>

AGRADECIMENTOS

Este trabalho é a realização de um sonho de infância, que só se materializou devido à participação de várias pessoas.

Agradeço:

De forma muito especial, agradeço ao Dr. Anderson Zanardi de Freitas, por todos os ensinamentos, parceria e direcionamentos. Realmente me inseriu no mundo científico. Estará sempre entre as pessoas mais importantes que contribuíram para o meu crescimento intelectual.

Ao Dr. Fernando Moreira, pela ajuda durante o período do curso.

Ao Dr. Lucas de Pretto, pelas orientações tecnológicas.

Ao Dr. Cristhiano Herrera, pela ajuda na obtenção de amostras para os experimentos presentes neste estudo.

Ao Dr. Wagner de Rossi, por todo apoio durante a pesquisa.

À Dr^a. Monica Beatriz Mathor e à Dra. Fátima Klingbeil, pelo apoio nos testes ELISA.

A minha saudosa mãe, que infelizmente não está mais entre nós para ver a realização de um sonho que também foi dela.

A minha esposa e filha, que acompanharam minha caminhada de forma presente e esperançosa.

Ao Dr. Nicolau Esteves e Flávio Carvalho, pela oportunidade de mostrar meu trabalho, apostando em jovem no início de carreira, viabilizando a realização desse sonho.

Às técnicas de laboratório Nilza da Silva, Michelle Ferreira e Gislene Assis, pelo apoio na realização dos testes.

Ao Prof. Leonardo de Araújo, pela ajuda na farmacologia.

Ao amigo Thayrone Marques, pela ajuda nas linguagens que testamos.

À Gesilda de Sales Bicalho Silva, que sempre foi uma companheira de caminhada profissional, me orientando e auxiliando, por ter acreditado em um jovem a quem pouco conhecia.

Ao meu irmão Glauber da Rocha Baltazar, pelo apoio todos esses anos.

Ao professor Fabiano Moreira da Silva, pelo apoio ainda na dissertação.

A Elineia Santos e Sueli Martins pelo apoio durante tantos anos.

Suas conquistas são do mesmo
tamanho de seus esforços.

RESUMO

CAMPARA, M.J.V. **Desenvolvimento de uma ferramenta mobile para teste Elisa em microcircuitos e detecção de cores com inteligência artificial**. Tese (Doutorado em Tecnologia Nuclear – Materiais) – Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, Universidade de São Paulo, 2012. 114 f.

A análise de materiais é uma área na qual pesquisadores vem se esforçando cada vez mais na busca de ferramentas mais precisas, visando desvendar informações muitas vezes não evidentes sem ajuda de instrumentos. O objetivo principal foi desenvolver um protótipo analisador microfluídico móvel, capaz de avaliar variações de cores em amostras microfluídicas, visando diagnósticos baseados em exames *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* (ELISA). O mapeamento de cores em microcircuitos proporcionou quatro aplicações diferentes. Primeiramente, contribuindo para análises em exames ELISA executados dentro de microcircuitos microfluídicos. Posteriormente foi utilizada a mesma metodologia para estudar o comportamento do microfluido dentro do microcircuito, usando um aplicativo de celular, baseando-se no modelo *Red-Green-Blue* (RGB). Ainda foi desenvolvido um *software* capaz de mapear as cores usando o modelo conhecido como *Hue-Saturation-Value* (HSV). Por fim, foi desenvolvido um *software* baseado em uma técnica de inteligência artificial conhecida como agrupamento ou *clusters*. A base de todas as análises são fotos capturadas dos microcircuitos usando uma interface especialmente projetada em impressão tridimensional (3D). As análises proporcionaram uma nova forma de analisar amostras ELISA e também um novo meio de avaliar o desempenho dos microcircuitos de diferentes formatos, contribuindo de forma direta no *design* de sua fabricação.

Palavras-chave: Processamento de imagens. Microcircuitos microfluídicos. *Clusters*. Desenvolvimento *mobile*.

ABSTRACT

CAMPARA, M.J.V. **Development of a mobile tool for elisa tests in microcircuits and color detection with artificial intelligence.** Tese (Doutorado em Tecnologia Nuclear – Materiais) – Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, Universidade de São Paulo, 2012. 114 f.

Material analysis is an area in which there has been increasing effort in the search for more accurate tools, aiming to unveil information that is often not evident without the help of instruments. The main objective was to develop a mobile microfluidic analyzer prototype, capable of evaluating color variations in microfluidic samples, aiming at diagnosis based on Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay (ELISA) exams. Color mapping on microcircuits provided four different applications. Firstly, contributing to analysis in ELISA tests performed within microfluidic microcircuits. Subsequently, the same methodology was used to study the behavior of the microfluid inside the microcircuit, using a cell phone application, based on the Red-Green-Blue (RGB) model. A software capable of mapping the colors using the model known as Hue-Saturation-Value (HSV) was also developed. Finally, a software based on an artificial intelligence technique known as clustering or clusters was developed. The basis of all analyzes are captured photos of the microcircuits using a specially designed three-dimensional (3D) print interface. The analyzes provided a new way to analyze ELISA samples and also a new way to evaluate the performance of microcircuits of different formats, directly contributing to the design of their manufacture.

Keywords: Image processing. Microfluidic microcircuits. Clusters. Mobile development.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Aplicativos ligados à saúde	34
Tabela 2 - Representação da quantidade de pixels em cada resolução de câmeras em MPs.	40
Tabela 3 - Análise de desempenho comparando dois celulares	57
Tabela 4 - Campos utilizados no protótipo	60
Tabela 5 - Resultados obtidos variando o número de clusters, usando anilina azul e vermelha	91
Tabela 6 - Resultados obtidos variando o número de clusters, usando a amostra do trabalho de Herrera	94

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1: Protótipo analisador de glúten desenvolvido pelas empresas GreenTropism e Xpndbls	18
Figura 2: Esquema de montagem de um circuito microfluídico	24
Figura 3: Conjunto microfluídico montado sobre plataforma de alumínio	24
Figura 4: Mecanismo de acionamento das seringas que introduz os líquidos no circuito microfluídico.....	25
Figura 5: Estrutura genérica de um dispositivo optofluídico	26
Figura 6: Processos para realização do teste ELISA	36
Figura 7: Simulação de posicionamento inicial dos centroides em relação à disposição dos dados.....	40
Figura 8: Representação visual da primeira iteração em que os centroides se aproximam dos grupos de dados	40
Figura 9: Representação visual da segunda iteração em que os centroides se posicionam nos centros de cada grupo de dados	41
Figura 10: Representação visual da segunda iteração em que os centroides se posicionam nos centros de cada grupo de dados	42
Figura 11: Exemplo gráfico do comportamento da soma dos erros quadrados em busca do melhor valor de K.....	44
Figura 12: Diagrama de sequência do aplicativo	46
Figura 13: Passos para a análise das amostras	47
Figura 14: Teste de limiar de cores, usando parâmetros \geq e \leq	50
Figura 15: Comparativo RGB entre marrom e amarelo.....	50
Figura 16: Cubo de cores RGB.....	51
Figura 17: Teste de exibição de tons de amarelo	52
Figura 18: Tela do aplicativo: em destaque, fator AC	53
Figura 19: Detalhamento do projeto da interface 3D.....	55
Figura 20: Imagens da interface fabricada em impressora 3D.....	56
Figura 21: Esquema de funcionamento de um web service MySql.....	59
Figura 22: Tela de login do módulo de análise de dados.....	61
Figura 23: Tela dashboard do administrador dos dados	62
Figura 24: Detalhes de registros específicos	63

Figura 25: Exemplos de imagens obtidas usando a interface de conexão celular microchip.....	64
Figura 26: Amostra teste preto e branco de um elemento combustível	66
Figura 27: Captura de tons de cores evidenciando os níveis de cores	67
Figura 28: Simulação da foto do elemento combustível usando WEKA	68
Figura 29: Teste de concentração de anilina amarela com diferentes diluições ...	69
Figura 30: Fotografia da concentração de 0,25% de anilina em água destilada ...	70
Figura 31: Fotografia da concentração de 0,50% de anilina em água destilada ...	70
Figura 32: Fotografia da concentração de 1% de anilina em água destilada	71
Figura 33: Resultado da amostra de 0,50% com fator de aceitação em 33.....	72
Figura 34: Resultado da amostra de 0,50% com fator de aceitação em 32.....	72
Figura 35: Resultado da amostra de 1% com fator de aceitação em 30.....	73
Figura 36: Teste utilizando fator 34.....	74
Figura 37: Teste utilizando fator 28.....	75
Figura 38: Teste do coeficiente de variação RGB.....	76
Figura 39: Representação gráfica do modelo HSV de cores	78
Figura 40: Comparativo dos modelos HSV e RGB	78
Figura 41: Tabela de cores do modelo HSV - OpenCv	79
Figura 42: Teste usando água destilada e 0,25% de anilina amarela.....	80
Figura 43: Teste usando água destilada e 1% de anilina amarela.....	81
Figura 44: Teste em microcircuito IPEN buscando cor verde	81
Figura 45: Teste usando microcircuito e anilina marrom e verde.....	82
Figura 46: Simulação de tonalidades de cores	83
Figura 47: Módulo de captura e mapeamento de microcircuitos.....	84
Figura 48: Fluxo de processos do algoritmo para identificar pontos de interesse na imagem	85
Figura 49: Análise usando as cores vermelha e azul do quadro do vídeo do IPEN	86
Figura 50: Interface do software de análise de agrupamento de cores, usando amostra com anilina azul e vermelha	88
Figura 51: Gráfico de espaço de cores RGB da primeira amostra testada	88
Figura 52: Interface do software analisador de agrupamento de imagem utilizando amostra de teste ELISA do trabalho de Herrera	91
Figura 53: Espaço de cores da amostra do trabalho de Herrera.....	92

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

App	Aplicativo
ARRF	Attribute-Relation File Format
BI	Inteligência de negócios
CID10	Classificação Internacional de Doenças 10
DATASUS	Departamento de Informática do Sistema Único de Saúde
DIRI	<i>Darkfield Internal Reflection Illumination</i>
DPI	<i>Ddots per inch</i>
ELISA	<i>Enzyme-Linked ImmunonoSorbent Assay</i>
G	Grande
HSV	<i>Hue-Saturation-Value</i>
http	<i>Hypertext Transfer Protocol</i>
IA	Inteligência artificial
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IDC	International Data Corporation
IDM	<i>Image distortion model</i>
IFC	Citometria de fluxo por imagem
IOS	<i>Iphone operating system</i>
IPEN	Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares
LASER	<i>Light amplification by stimulated emission of radiation</i>
LED	<i>Light Emitting Diode</i>
LILACS	Literatura Latino-Americana e do Caribe em Ciências da Saúde
M	Médio
MEDLINE	<i>Medical Literature Analysis and Retrieval System On-line</i>
MEH-PPV	Metoxi etil-hexiloxi p-fenileno vinileno
Mf-Ms/OFM	Microscopia microfluídica/ optofluídica
ML	<i>Machine learning</i>
MP	Megapixel
NTIC	Novas tecnologias de informação e comunicação
P	Pequeno
PDI	Processamento digital de imagens
PHP	<i>Hypertext Preprocessor</i>

PPI	<i>Pixels per inch</i>
RGB	<i>Red-Green-Blue</i>
SAD	Sistemas de apoio à tomada de decisão
SBIS	Sociedade Brasileira de Informática na Saúde
SciELO	<i>Scientific Electronic Library Online</i>
SIS	Sistema de informação em saúde
SSE	<i>Sum of Square Errors</i>
SVH	Sistema visual humano
TI	Tecnologia da informação
TIC	Tecnologia de Informação e Comunicação
UML	<i>Unified Modeling Language</i>
URL	<i>Uniform Resource Locator</i>
WEKA	<i>Waikato Environment for Knowledge Analysis</i>

SUMÁRIO¹

1	INTRODUÇÃO	14
2	OBJETIVOS	19
2.1	Objetivos específicos	19
3	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	20
3.1	Microfluídica	20
3.2	Microcircuitos	22
3.3	Modelagem computacional baseada em imagens digitais	27
3.4	Uso de <i>softwares</i> na área da saúde	31
3.5	Exame ELISA	35
3.6	Inteligência artificial	36
3.6.1	Segmentação de imagens com <i>clusters</i>	37
3.6.2	O método <i>K-means</i>	39
3.6.2.1	O método do cotovelo	43
4	METODOLOGIA	45
4.1	Sequência de procedimentos	45
4.2	Sobre o algoritmo	48
4.2.1	Busca de cores específicas.....	49
4.2.2	Estratégia de captação da cor amarela.....	51
4.3	Criação da interface de conexão celular microcircuito	53
4.4	Requisitos e módulo de análise de dados	56
4.4.1	Requisitos de <i>hardware</i>	57
4.2.2	Módulo de análise	58
5	PARTE EXPERIMENTAL	63
5.1	Testando a interface de conexão celular microcircuito	63
5.2	Testes usando aplicativo <i>mobile</i> Android	65

¹ Este trabalho foi revisado com base nas novas regras ortográficas aprovadas pelo Acordo Ortográfico assinado entre os países que integram a Comunidade de Países de Língua Portuguesa (CPLP), em vigor no Brasil desde 2009. E foi formatado de acordo com o Guia para a Elaboração de Teses e Dissertações, do INEP, 2017.

5.2.1 Ensaio inicial usando computador: fase 1	66
5.2.2 Ensaio em laboratório: fase 2.....	68
5.2.3 Ensaio utilizando amostras obtidas pelo microcircuito: fase 3	73
5.2.4 Comportamento do coeficiente de variação	75
5.3 Mapeamento de cores em microcircuitos	77
5.3.1 Mapeamento usando computador.....	77
5.3.2 Módulo de mapeamento usando aplicativo	83
5.3.3 Detecção de cores usando inteligência artificial.....	87
6 DISCUSÃO E RESULTADOS	95
6.1 Sobre o aplicativo de celular.....	95
6.2 Sobre mapeamento de cores em microcircuitos	95
6.3 Sobre a detecção de cores utilizando inteligência artificial.....	96
7 CONCLUSÕES E TRABALHOS FUTUROS.....	98
REFERÊNCIAS	101
APÊNDICE.....	110

1 INTRODUÇÃO

A análise de materiais é uma área na qual a Engenharia vem se esforçando cada vez mais na busca de ferramentas mais precisas, visando desvendar informações muitas vezes não evidentes sem ajuda de instrumentos^{1,2}. Os avanços atuais em instrumentação analítica oferecem poderosas ferramentas para o estudo de biomateriais. Os processos de caracterização possibilitam analisar qualitativa e quantitativamente a composição dos materiais, bem como descrever seus aspectos morfológicos³.

A microscopia e a citometria de fluxo são ferramentas amplamente utilizadas nas Ciências Biomédicas⁴. A relação de custo efetivo dessas tecnologias para ambientes com recursos limitados poderia criar novas oportunidades, especialmente na Medicina⁴. O microscópio tem desempenhado papel central nos fundamentos da biologia celular. Tanto que o termo "célula" foi criado somente depois de ser observada por um dos primeiros microscópios. Nas últimas décadas, os microscópios têm demonstrado serem capazes de resolver estruturas de microescala e nanoescala. Os esforços de pesquisa no campo da microscopia têm se concentrado predominantemente na melhoria da resolução das imagens obtidas⁵.

As técnicas recentes de microscopia de alta *performance* podem ser classificadas em dois tipos: a) aumento de débito óptico; b) e técnicas de aumento de fluxo optofluídico/ microfluídico. O aumento de débito óptico emprega imagens usando iluminação não convencional óptica de imagens. Técnicas computacionais de recuperação de imagens são aplicadas para obter imagens de microscópio de alta resolução. Como um grande campo de visão pode ser contemplado de uma só vez, o número de células fotografadas também é bastante alto, permitindo assim aumento na produtividade⁵. Sobre as técnicas de aumento de fluxo optofluídico/ microfluídico em microscópios tradicionais, geralmente as células são fixas nas lâminas. Essa dependência da manipulação das amostras baseada em lâminas, porém, é o ponto central que causa baixo rendimento da microscopia convencional.

No passado recente, foram demonstradas várias técnicas que utilizam uma arquitetura baseada em células de fluxo (como a citometria de fluxo) para

permitir captação de imagens com elevada resolução espacial, aumentando o poder de análise em um nível mais detalhado⁵. De forma simplificada, a citometria de fluxo possibilita análises de células em suspensão. Esse tipo de análise é aplicada em vários estudos na área de Medicina, destacando-se como ferramenta de contagem de células marcadas por algum reagente⁶.

O emprego dessas unidades de manuseamento proporcionam duas vantagens, o manuseio de amostras é automatizado e a taxa de transferência é aprimorada. Na maioria dos casos, essas técnicas são conhecidas como citometria de fluxo por imagem (IFC) ou microscopia microfluídica/ optofluídica (Mf-Ms/OFM). A maioria dessas técnicas emprega uma mistura sinérgica, microfluídica e imagem computacional para melhorar a taxa de transferência de imagens de microscopia em campos brilhantes⁵.

Armazenar e manipular as amostras dependem de dispositivos adequados, na literatura é possível encontrar muitos estudos da topologia dos microcircuitos necessários para as análises microfluídicas. O Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (IPEN) está pesquisando modelos de microestruturas para aplicações microfluídicas diversas, utilizando *light amplification by stimulated emission of radiation* (LASER) de femtossegundos para produção de microcanais visando à aplicação microfluídica. Em trabalhos publicados, percebeu-se que, em particular, o poli [2-metoxi-5- (2-etil-hexiloxi) -p-fenileno vinileno] (MEH-PPV) é um polímero conjugado com excepcionais propriedades ópticas e elétricas, sendo utilizado no desenvolvimento de várias aplicações⁷. Segundo os autores, na última década tem havido crescimento de interesse em métodos para processar materiais para o desenvolvimento de dispositivos diversos, e a microusinagem com *laser* de femtossegundos tem sido uma abordagem potencial nessa direção. Na pesquisa é ressaltada, ainda, a possibilidade de produção de vários dispositivos ópticos, desde interferômetros a acopladores de guia de ondas. Essa técnica apresenta várias vantagens quando comparada a outras abordagens, sendo um método de processamento direto, de um único passo e sem máscara⁷. A utilização de laser de femtossegundos é defendida pela característica de não criar uma zona térmica no alvo, diminuindo a onda de choque, que pode ultrapassar a espessura do material^{7,8}.

Pode-se então aliar uma tecnologia que auxilie em sua interpretação, buscando mapear de forma precisa sua topologia. O uso do processamento digital

de imagens (PDI) tem por objetivo melhorar o aspecto visual e também estruturais para o analisador, visando fornecer outros subsídios para a sua interpretação, aplicando técnicas como aumento de contraste, correção *offset*, correção de não uniformidade, entre outros⁹.

A informação de interesse é caracterizada em função de suas propriedades ou padrões que a compõem. Portanto, extrair informação de imagens envolve a busca de reconhecimento de propriedades ou padrões. Grande parte dessa atividade requer capacidade de cognição por parte do pesquisador. A tecnologia tem sido meio para a construção imagética, bem como ferramenta para deflagrar interpretações e experiências em imagens digitais¹⁰.

Em muitos casos as quantidades de dados a serem analisados pode ser um fator impeditivo para a obtenção de resultados. Fatores como tempo de processamento e armazenamento de grandes volumes de dados estão entre os fatores mais comuns em relação a restrições de pesquisas. Contudo, com o advento dos computadores como ferramenta de apoio à pesquisa, o uso de métodos matemáticos passou a exercer papel de grande destaque. A velocidade na solução dos cálculos possibilitou o uso de amostras maiores e mais complexas, criando assim a possibilidade de aplicação de métodos de análise de dispersão e matrizes de localização de pontos de interesse¹¹. É muito comum em análise de imagens ser necessário o mapeamento detalhado de cada pixel, e dependendo do tamanho da imagem esse processo pode demorar longo tempo.

O uso dos *softwares* na área médica vem se mostrando de grande valia para todos, desde o paciente aos profissionais que integram esse grupo. Várias vantagens são citadas em várias fontes de pesquisas, o que demonstra a carência ou a constante atualização de pesquisas visando otimizar os procedimentos ligados à saúde. Conforme as pesquisas avançam, a complexidade dos experimentos, incluindo sistemas de apoio à saúde, também cresce, aumentando a velocidade dos processos, diminuindo a incidência de erros, diminuindo custos, entre várias outras vantagens¹²⁻¹⁵.

A modalidade móvel dos *softwares*, conhecidos como aplicativos, popularizou-se em várias áreas do conhecimento, e a área da saúde também vem sendo explorada pelos grandes desenvolvedores, criando versões *mobiles* de seus *softwares*, como por pessoas trabalhando autonomamente em pequenos aplicativos. Essa modalidade de desenvolvimento vem gerando significativa

quantidade de aplicativos, muitas vezes similares ou até iguais. Como não há regulamentação, torna-se difícil garantir a funcionalidade desses aplicativos^{16,17}.

Áreas ligadas a pesquisas também vêm fazendo uso desses aplicativos, visando, na maioria dos casos, otimizar processos ligados à saúde. Trabalhos científicos podem fugir um pouco da característica ligada à falta de documentação ou de garantias dos serviços prestados pelos aplicativos móveis, uma vez que os trabalhos dispõem de metodologias para seu desenvolvimento e também trabalhos escritos demonstrando como foram feitos. Esse fato é uma garantia de que o *software* condiz com a sua aplicação e que houve estudo para embasar seu desenvolvimento. A maioria dos aplicativos ligados à saúde presta serviços ligados à gerência ou organização de informações, por exemplo, bulas de remédios, gerenciamento de posologia, calendários de vacinação e consulta a códigos de procedimentos médicos¹⁶. Por outro lado, o meio científico já desenvolve várias pesquisas que utilizam *softwares* e aplicativos móveis aplicados a recursos mais complexos, como avaliação de mudança de coloração de imagens digitais obtidas de pacientes, fluxo sanguíneo, análises microscópicas, entre várias outras aplicações^{4,16,18}.

Aliar o uso dos aplicativos móveis a microescalas abre novas possibilidades de estudos e benefícios ainda pouco explorados. Os recursos cada vez mais poderosos dos *smartphones* facilitam o desenvolvimento de protótipos que aliam microestruturas e os aplicativos, visando, na maioria das vezes, análises impossíveis de serem feitas a olho nu. Exemplo disso é o protótipo das empresas GreenTropism e Xpndbls, que desenvolveram um detector de glúten em alimentos usando um *smartphone* e um aplicativo capaz de fazer a análise¹⁹. A parte física do protótipo é capaz de se acoplar a determinados modelos de aparelhos de celular, integrando melhores lentes ou *microhardwares* não presentes ou fabricados para casos específicos, conforme Figura 1.

Figura 1: Protótipo analisador de glúten desenvolvido pelas empresas GreenTropism e Xpndbls



Fonte: SAÏD (2017)¹⁹.

Com o crescimento das pesquisas e o aumento do número de *softwares* utilizados na saúde, a geração de dados coletados e analisados também cresce rapidamente. Esses dados carecem de cuidados como segurança, disponibilidade, acessibilidade e análise e seu gerenciamento está ligado ao conceito de *big data*, que se responsabiliza por gerenciar grandes volumes de dados. Já a parte de análise relaciona-se ao conceito de *data mining*, que por sua vez tem como objetivo transformar um grande volume de dados em uma informação que possa ser interpretada de forma definitiva para tomadas de decisões estratégicas por algum gestor²⁰⁻²².

Faz-se importante também o armazenamento dos resultados obtidos a fim de se criar uma base de conhecimento que possa ser alvo de estudos futuros e consultas ou estatísticas de apontamento de tendências patológicas. Com a mobilidade e facilidade de acesso a celulares atualmente, é possível uma popularização do método de análise microfluídica com redução de custos e, conseqüentemente, facilitação da obtenção dos resultados⁴.

2 OBJETIVOS

Desenvolver um protótipo analisador microfluídico móvel, capaz de avaliar variações de cores em amostras microfluídicas, visando diagnósticos baseados em exames *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* (ELISA).

2.1 Objetivos específicos

- a) Desenvolver um aplicativo móvel para a plataforma Android, que consiga analisar imagens de amostras de exames baseado em diferenciação de cor resultante de reações químicas ELISA.
- b) Construir uma interface de comunicação do microcircuito e o dispositivo móvel.
- c) Elaborar um relatório-diagnóstico das possíveis mudanças de cores das amostras.
- d) Fornecer um banco de dados para parametrização estatística.
- e) Estabelecer o uso de detecção de cores em imagens digitais para mapear microfluidos dentro de microcircuitos.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Com o intuito de associar a técnica de análises de imagens de microcircuitos usados como via para as amostras microfluídicas, pela variação de cor obtida pelo teste optofluídico, realizou-se revisão bibliográfica sobre os seguintes itens:

- a) Microfluídica;
- b) microcircuitos;
- c) modelagem computacional;
- d) uso de softwares na área da saúde;
- e) exame ELISA;
- f) inteligência artificial.

3.1 Microfluídica

A microfluídica foi eleita durante os últimos anos como um campo de pesquisa que pode transformar a maneira como a pesquisa é realizada nas áreas biológicas e químicas. Esse campo de pesquisa permite a manipulação precisa de fluidos em pequena escala, viabilizando o uso de pequenos volumes de amostra a custos reduzidos, aumentando a portabilidade em uma escala além daquela alcançável pela manipulação manual ou tradicional robótica²³, além de reduzir o impacto ambiental devido ao descarte de reagentes.

Sua aplicação é realmente muito ampla, passando por áreas como robótica, engenharia de materiais e biotecnologia, utilizando combinações de técnicas como fluorescência, mapeamento de imagens dinâmica dos fluidos e várias outras^{8,24-28}.

A microfluídica pode ser definida como sistema que processa ou manipula quantidades minúsculas de fluidos utilizando canais com dimensões de dezenas a centenas de micrômetros²⁹.

Em especial na ciência médica, apesar do progresso incluindo o desenvolvimento de terapias eficazes, as doenças infecciosas continuam a causar milhões de mortes em todo o mundo; e patógenos em alimentos, animais, água e

plantas causam danos e perdas de produção em bilhões de dólares. Até a presente data, os agentes patogênicos são detectados apenas depois de já terem causado consideráveis danos. Isso indica a urgência do desenvolvimento de métodos de diagnóstico melhorados para os agentes patogênicos infecciosos³⁰.

A microfluídica tem ainda o potencial de eliminar as deficiências associadas à preparação de amostras complexas. Os microfluídicos proporcionam relação superfície/ volume mais elevada e taxa de massa e transferência de calor mais rápidas e também a capacidade de manusear volumes muito pequenos de reagentes em microcanais com alta precisão. Além disso, a microfluídica abre a possibilidade de plataformas automatizadas com cartuchos microfluídicos integrados, reduzindo assim o risco de contaminação³⁰.

A microfluídica é vista como a tecnologia central usada em desenvolvimento de miniaturizados, destacando-se nas áreas químicas, biológicas e médicas devido à habilidade de executar rapidamente procedimentos analíticos complexos com mais eficiência do que as tradicionais abordagens na macroescala³¹. Podem-se ainda salientar outras vantagens do uso dessa tecnologia, tais como: a) baixo consumo de amostras e reagentes; b) redução de tempo de análise; c) separações e detecções mais efetivas; d) menores custos por ensaio, quando comparada com métodos em macroescala³².

Pesquisas recentes aplicam a microfluídica para explorar a diferença entre as propriedades celulares, tais como o tamanho, a forma, a deformabilidade, a suscetibilidade elétrica/ magnética e as propriedades hidrodinâmicas^{30,33-35}.

As plataformas químicas miniaturizadas fornecem transporte de fluido controlado, reações químicas rápidas e vantagens relacionadas a custos em relação aos métodos convencionais. A ideia por trás desse conceito é combinar métodos analíticos clássicos e elementos de detecção que poderiam ser colocados sequencialmente para constituir um dispositivo ideal que realizaria todas as operações necessárias para extrair a informação desejada sobre determinadas amostras, realizando conversões químicas, partições químicas e detecção de sinais²⁹.

Com métodos convencionais é difícil observar a geometria do canal e as partículas presentes na amostra simultaneamente. Para superar essa limitação, foi testado um sistema denominado *Darkfield Internal Reflection Illumination* (DIRI). O sistema desenvolvido pode visualizar claramente ambas as

microbolhas e a parede do canal, utilizando iluminação convencional e DIRI simultaneamente. A metodologia é útil não só para fenômenos estáticos, como entupimento, mas também para fenômenos dinâmicos, como a detecção de bolhas que fluem em um canal. Os pesquisadores obtiveram clara observação das esferas fluorescentes de determinado traçador e paredes do canal, o que pode ser uma vantagem para várias análises no campo da microfluídica³⁵.

A fotônica tem sido usada há muito tempo para estudar materiais não sólidos, como líquidos, gases e plasmas. O campo emergente da optofluídica procura criar novas formas de uso do sistema fotônico, cujas propriedades ópticas são tipicamente definidas pela componente fluídica³⁶.

Especificamente a optofluídica é a integração sinérgica da fotônica e a microfluídica. Trata-se de um campo analítico novo que realça o desempenho de detecção e simplificação de projetos microssistêmicos³⁷. Em particular, a optofluídica é adequada para a detecção e análise biológica/ química em volumes extremamente pequenos geralmente de femtolitros a nanolitros. E pode ainda ser definida como a integração da óptica e dos fluidos para fornecer capacidades que não podem ser alcançadas em qualquer um dos campos isoladamente. É mais que um sistema que explora a óptica e a fluídica, elas trabalham em conjunto para melhorar uma à outra³⁸.

O próximo item trata sobre os modelos de microcircuitos que são responsáveis por receber o fluido a ser analisado. Percebe-se na literatura que essa é uma parte muito estudada e com vários modelos testados.

3.2 Microcircuitos

Circuitos microfluídicos são estruturas diminutas compostas de canais, câmaras, conexões, microválvulas, microbombas e muitos outros componentes, nas quais reagentes são misturados de forma controlada a fim de promover determinada reação. Sua principal aplicação é em processos químicos e bioquímicos, em que quantidades mínimas de material (nanolitros a microlitros) são pré-requisitos para sua utilização³⁹. Muitos tipos de materiais têm sido utilizados como plataforma para fabricação desses microssistemas, indo de vidros e polímeros a materiais descartáveis como papel e filmes de transparência. Uma das melhores alternativas é a usinagem com laser de pulsos ultracurtos. Algumas

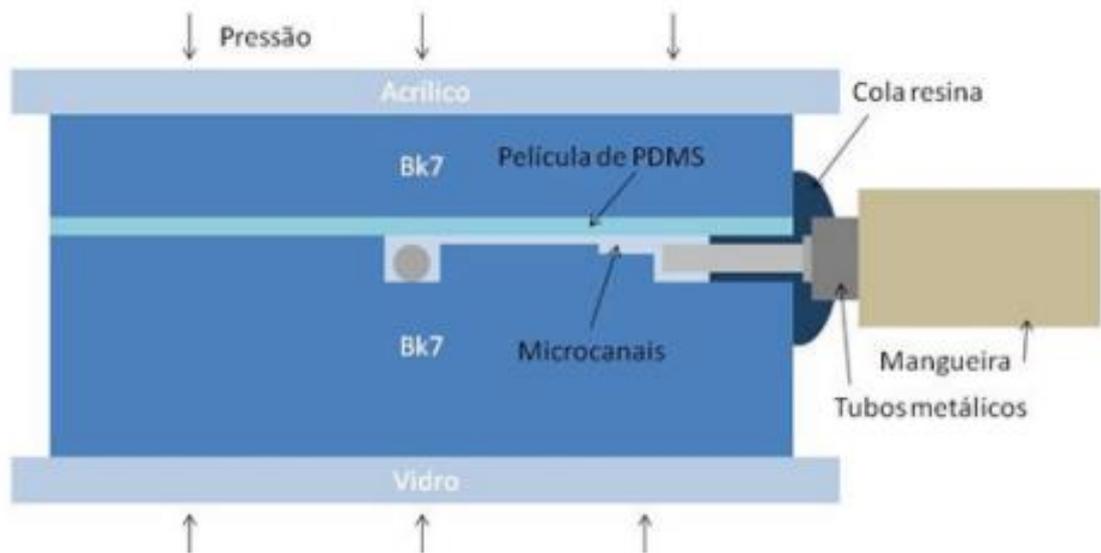
de suas vantagens são: pode ser utilizada sobre praticamente qualquer tipo de substrato; utiliza tecnologia simples e consolidada de usinagem assistida por computador; pode obter grande razão de aspecto; ao mesmo tempo em que é feita a usinagem, também pode modificar física e quimicamente as paredes usinadas; e ainda pode gerar estruturas submicrométricas³⁹.

O IPEN possui uma estação de trabalho versátil e completa, capaz de usinar estruturas com dimensões da ordem de poucos micrometros. Vários circuitos vêm sendo produzidos e testados em muitos estudos.

Essa estação possui um laser de Ti: safira de femtossegundos, amplificado pelo método de amplificação por varredura de frequência (*Femtopower Compact Pro CE-Phase HP/HR* da marca Femtolasers) que gera continuamente pulsos de 25 fs centrados em 785 nm com 40 nm de largura de banda, taxa de repetição máxima de 4 kHz e energia máxima por pulso de 800 μ J. Seu feixe é focalizado sobre a peça de trabalho por uma lente de comprimento focal curto, possibilitando a obtenção de uma região afetada com dimensão de até 3 μ m. O sistema conta com um estágio de deslocamento de três eixos, com precisão de 300 nm, controlado por computador³⁹.

No IPEN, alguns sistemas são usinados sobre a superfície de placas de vidro óptico tipo BK7 com 3 mm de espessura. Para fechamento dessa superfície, uma lâmina do polímero flexível dimetilpolisiloxano com espessura de aproximadamente 200 μ m é pressionada sobre ela por meio de outra placa de BK7 com espessura de 1 mm e uma lâmina de acrílico⁴⁰. O esquema desse microcircuito é mostrado na Figura 2.

Figura 2: Esquema de montagem de um circuito microfluídico

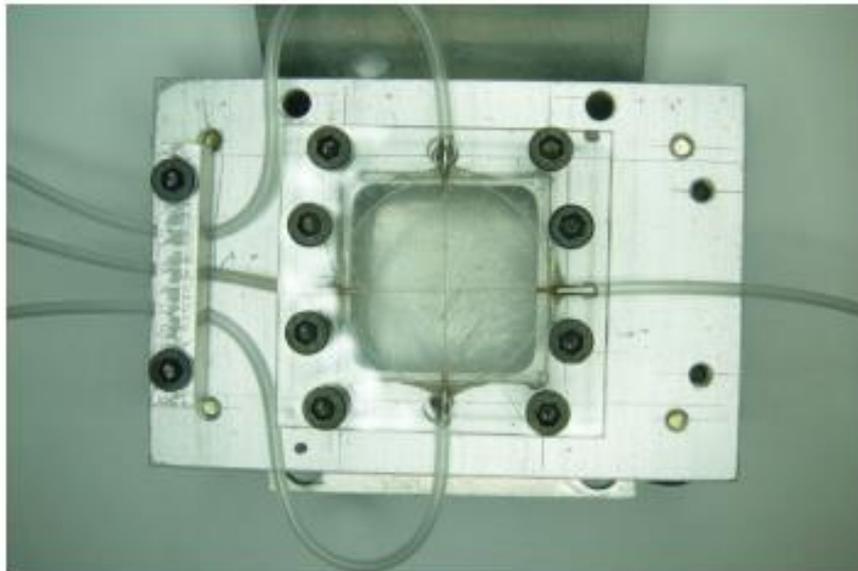


Fonte: DE ROSSI, W.; MACHADO, L.M.; SAMAD, R.E.; FREITAS, A.Z.; MIRIN, D.C.; VIEIRA JÚNIOR, N.D. (2013)³⁹.

Mangueiras são acopladas aos microcanais, que possuem seção de $100 \times 100 \mu\text{m}^2$ a partir de conectores feitos de tubos de aço inoxidável. Esses conectores são feitos com tubos de três diâmetros diferentes, cortados também com o laser de fs.

O conjunto completo ainda é montado sobre uma plataforma de alumínio, conforme mostrado na Figura 3.

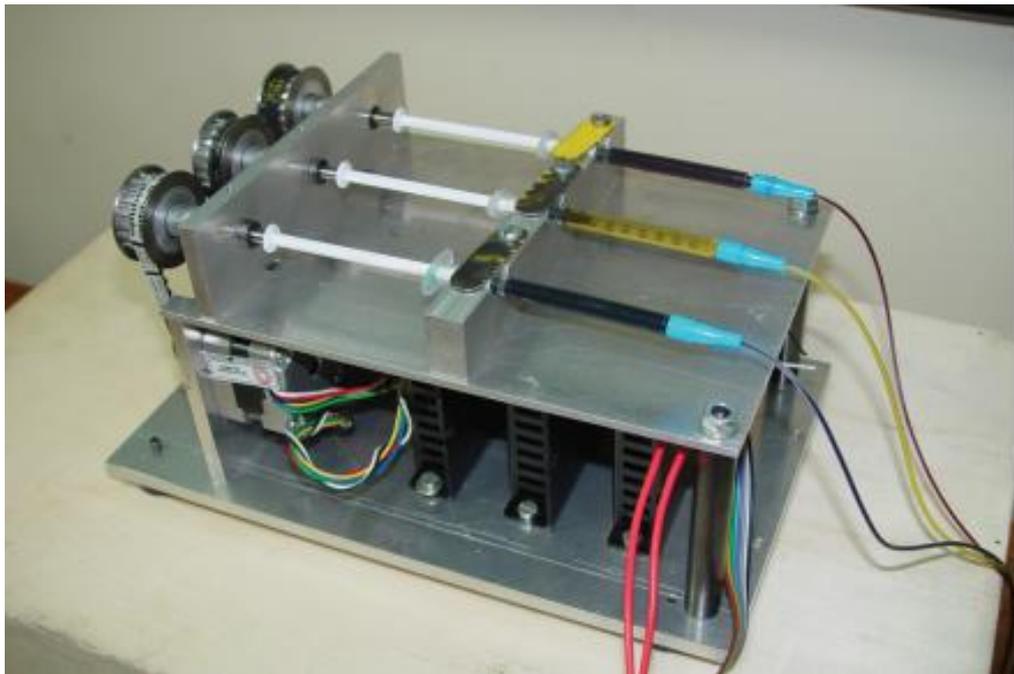
Figura 3: Conjunto microfluídico montado sobre plataforma de alumínio



Fonte: DE ROSSI, W.; MACHADO, L.M.; SAMAD, R.E.; FREITAS, A.Z.; MIRIN, D.C.; VIEIRA JÚNIOR, N.D. (2013)³⁹.

Por fim, as mangueiras são conectadas a seringas, que por sua vez são pressionadas por micrometros acoplados a motores de passo a partir de um sistema de polias e correias dentadas⁴⁰. Um sistema utilizado pelo IPEN para o acionamento é mostrado na Figura 4.

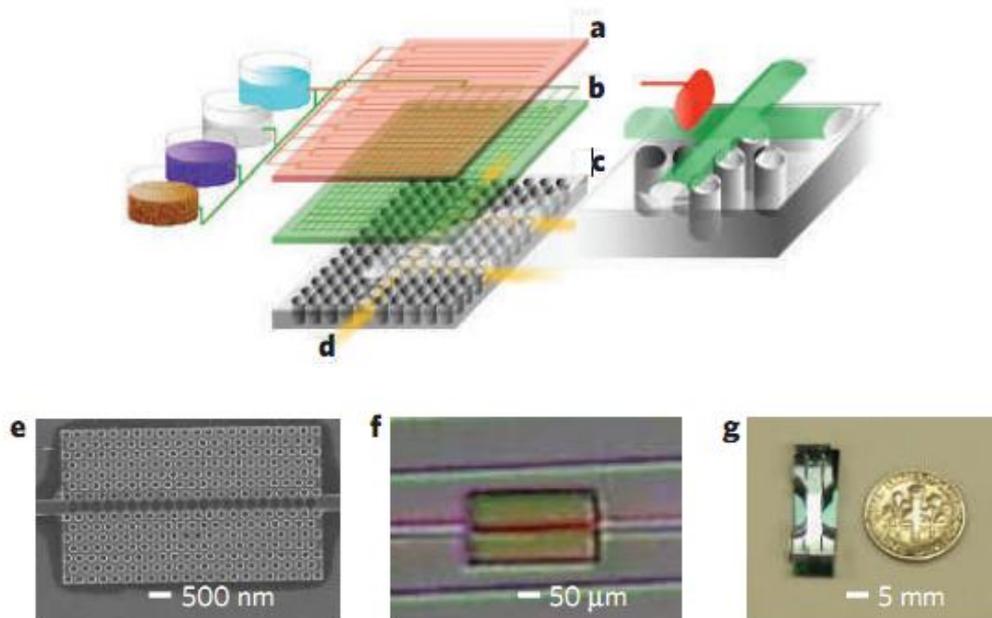
Figura 4: Mecanismo de acionamento das seringas que introduz os líquidos no circuito microfluídico



Fonte: DE ROSSI, W.; MACHADO, L.M.; SAMAD, R.E.; FREITAS, A.Z.; MIRIN, D.C.; VIEIRA JÚNIOR, N.D. (2013)³⁹

Um dispositivo optofluídico é formado tipicamente em três camadas, como visto na Figura 5. A, camada (a) ou camada superior consiste nos controles microfluídicos. Válvulas microfluídicas e bombas podem ser incorporadas nessa camada. A camada (b) ou intermediária contém os canais microfluídicos. A terceira camada (c) é a estrutura óptica e pode conter estruturas fotônicas, sensores, fontes e guias de onda. Na camada (d), a luz pode ser guiada dentro da terceira camada⁴¹.

Figura 5: Estrutura genérica de um dispositivo optofluídico



Fonte: PSALTIS, D.; QUAKE, S.R.; YANG, C. (2006)⁴¹.

A gama de escalas envolvidas no dispositivo fabricado, tipicamente, vai de subcomprimento de onda (dezenas a centenas de nanômetros) para as estruturas ópticas de dezenas a centenas de milímetros para as estruturas microfluídicas⁴¹.

Uma bomba de fluxo é definida como um dispositivo que transfere energia ao fluido, sob a forma de aumento de pressão, velocidade, elevação ou qualquer combinação dessas grandezas físicas e, conseqüentemente, possibilita o movimento da massa fluídica,²⁶ normalmente, vazões da ordem de 1 $\mu\text{L}/\text{min}$ a 1 mL/min . Essa tecnologia engloba atualmente, entre outras, a área de análises químicas e bioquímicas, em que dispositivos microfluídicos são usados para transportar e manipular quantidades ínfimas de fluidos ou entidades biológicas através de microcanais^{26,42-44}.

Apesar de haver alto número de trabalhos publicados na área de microfluídica destinados às microbombas, não há uma métrica estabelecida para efeitos comparativos reais. Assim, comparar a máxima taxa de fluxo desenvolvida ou a pressão estática na saída não é uma condição possível, pois para isso as bombas deveriam estar nas mesmas condições de teste e projeto. Portanto, cada trabalho tem sua contribuição relativamente à forma da manufatura, à inovação e à aplicação²⁶. O próximo capítulo aborda o uso de imagens como amostras a

serem avaliadas usando métodos computacionais que visam evidenciar características de difícil percepção a olho nu.

3.3 Modelagem computacional baseada em imagens digitais

O crescente número de dispositivos equipados com câmeras corrobora o crescimento da utilização de registro de dados a partir de imagens digitais. Sua utilização é muito variada, o que exige critério para sua interpretação. Isso pode ser exemplificado pelos experimentos realizados por vários trabalhos publicados nos últimos anos. Na área de sensoriamento⁴⁵, engenharia⁴⁶, química⁴⁷, produção agrícola⁴⁸, controle de qualidade⁴⁹, entre várias outras, sua aplicação pode trazer bons resultados.

O processamento de imagens é uma área em constante crescimento. Vários temas científicos são abordados e em diversos casos possuem caráter interdisciplinar. Entre eles se podem citar: a compreensão de imagens, a análise em multirresolução e em multifrequência, a análise estatística, a codificação e a transmissão de imagens. O processamento de imagens inicia-se pela obtenção de uma imagem contendo uma informação inicial, que é captada por uma câmera ou a partir de um conjunto de imagens para se obter a informação que servirá de base de processamento. Assim, o processamento de imagens e a computação gráfica são ferramentas diferentes, mas isso não quer dizer que as técnicas envolvidas em cada caso não possam ser as mesmas ou pelo menos complementares⁵⁰.

A interpretação de uma imagem pelo ser humano é algo que depende do conhecimento tácito ou explícito do indivíduo e também da aplicação dessa análise com base no sistema visual humano (SVH). As características biológicas do SVH são bastante complexas, então, realizar as mesmas tarefas que o SVH com a ajuda de máquinas exige por antecedência a compreensão do contexto e dos conhecimentos humanos^{18,51,52}.

A análise e a interpretação de imagens atualmente representam importante ponto de apoio em diversas disciplinas científicas. Isso pode ser exemplificado pelo seu uso nas áreas de Ciência dos Materiais, Biofísica, Medicina, Física da Matéria Condensada, etc. Essa diversidade de aplicações do processamento de imagens está associada diretamente à análise da informação e

em sua maioria é a busca de informações quantitativas que representem um fenômeno estudado.

O termo análise está relacionado à parte do tratamento em que existe uma descrição da informação presente na imagem. Essa parte é chamada de parametrização e é nela que várias medidas quantitativas ou parâmetros são utilizados para descrever diferentes informações dentro de uma imagem. Algumas aplicações típicas são: a determinação do número de células presentes em um tecido biológico; o cálculo das formas dos contornos de uma célula; ou ainda a determinação da distribuição de uma população específica de um conjunto de células⁵¹. No caso deste estudo, tais parâmetros terão características mais voltadas para contornos, pigmentações, dispersão e filtros, buscando melhor visibilização da imagem. As técnicas utilizadas para a interpretação dos dados podem variar de acordo com o objetivo a ser alcançado, e assim se podem encontrar vários níveis de complexidade e tempo necessário ao processamento dos dados.

A origem do processo é a captação da imagem a ser utilizada, por esse motivo é evidente que algumas características da amostra possuem grande importância no resultado da análise. Fatores como qualidade, tamanho da amostra e pontos a serem avaliados são citados como indispensáveis à obtenção de um bom resultado. Por essa preocupação, o termo *enhancement* (melhoramento) é de vital importância em trabalhos cuja origem dos dados sejam as imagens. O objetivo principal do *enhancement* é realçar e melhorar a visibilidade dos detalhes da imagem sem a introdução de aparências visuais realistas e artefatos indesejáveis. Embora as técnicas globais de realce tendam a aumentar o contraste geral, suas dependências sobre o conteúdo global da imagem podem limitar a sua capacidade para melhorar detalhes locais, resultando em significativa mudança no brilho da imagem, e introduzir artefatos de saturação. Métodos de melhoramento locais na imagem, por outro lado, apuram os detalhes, mas podem produzir descontinuidades em blocos da imagem, amplificação de ruído e modificações não naturais.

Como visto, a calibração da imagem é um fator importante no processo proposto, pois tem o poder de alterar detalhes de visibilização. Com a utilização desse procedimento, criam-se novas perspectivas e até áreas anteriormente pouco visíveis passam a ficar mais evidentes.

Percebe-se que, ao alterar a calibração, partes da imagem antes quase invisíveis a olho nu passam a ser visíveis. O excesso ou má calibração, porém, pode prejudicar a análise. Nesse caso, o algoritmo proposto neste trabalho desempenha importante papel, afinal, mesmo com níveis de cores diferentes, as áreas de interesse a serem analisadas continuaram a serem destacadas.

A evolução da fotografia tem aumentado o interesse em imagens a cores e, conseqüentemente, nos métodos de realce de cor⁵³. Muitas métricas de qualidade foram desenvolvidas para estimar a distorção da imagem, mas até o momento não há métrica adequada para a medida objetiva de desempenho. No entanto, podem-se classificar as imagens melhoradas, de forma não objetiva, de acordo com a sua qualidade visual e seu aprimoramento de detalhes⁵³.

Algoritmos de realce de contraste podem alcançar diferentes quantidades de preservação de detalhes, porém o realce de contraste pode ocasionar mudança de cor, aparência desbotada e saturação de artefatos em regiões com alta atividade de sinal ou texturas. Tais regiões devem receber peso menor, enquanto as áreas com mais detalhes ou com baixa atividade de sinal devem receber peso maior durante a fusão⁵³.

O acesso aos dados de uma imagem é feita por meio do pixel, que é a unidade formadora da imagem digital e está relacionado à resolução que esta possui⁵⁴. Uma imagem digital corresponde a uma matriz cujas linhas e colunas identificam um respectivo ponto na imagem. Depois de realizada a captura da imagem, é preciso digitalizá-la para ser processada computacionalmente.

O pixel representa somente uma intensidade de cor. Por esse motivo, para cada pixel será determinada uma cor específica. Dessa forma, para que uma imagem tenha alta qualidade além da quantidade suficiente de pixels, esta deve conter amplo espectro de cores⁵⁴⁻⁵⁶. Seu tamanho está relacionado com o conceito de resolução, ou seja, se uma imagem possuir o tamanho de 1920 x 1080 pixels e uma resolução de 1000 pixels por centímetro, seu tamanho em centímetros seria 1,92 x 1,08 cm. Porém se a imagem tiver os mesmos 1920 x 1080 pixels, já com uma resolução de 100 pixels por centímetro, seu tamanho seria 19,2 x 10,8 cm.

É muito recorrente a necessidade de ajustes no tamanho da imagem, mas ao se redimensionar uma imagem, as propriedades dos pixels ou coordenadas x,y são alteradas e isso pode acarretar perda de definição ou

qualidade da imagem. Por esse motivo, métodos que evitam esse cenário são amplamente utilizados⁵⁷. Um exemplo é o *image distortion model* (IDM), cuja essência baseia-se em ignorar todas as dependências entre os deslocamentos de pixel e é, portanto, um modelo de distorção de ordem zero⁵⁷. Para cada pixel na imagem de teste, o método determina a melhor correspondência de pixels dentro de uma região de tamanho dada por $w \times w$, na posição correspondente da imagem. Para as atividades de melhoria ou ajustes de imagens antes da sua utilização, existem vários *softwares* que já aplicam uma série de algoritmos que modificam os pixels visando melhorar sua visibilidade. Vários métodos de melhoria podem ser utilizados, ressaltando-se o conjunto de níveis, região de crescimento, interpolação, remoção de manchas e suavização, existindo a necessidade de avaliar caso a caso de acordo com as imagens qual escolher⁵⁸.

A resolução das imagens digitais tem relação direta com a qualidade que esta apresenta, ou seja, quanto maior a resolução da imagem, melhor a definição de detalhes e, conseqüentemente, melhor reprodução de cores, brilho e contraste. A resolução da imagem é diretamente proporcional à quantidade de pixels. Ou seja, quanto maior a quantidade de pixels, que define a quantidade de pontos na imagem, melhor será a qualidade da imagem.

Outra forma de medir a resolução de uma imagem é pelo número de *dots per inch* ou pontos por polegada (DPI), usado por impressoras, sendo correto dizer que tal imagem foi impressa em DPI. Por outro lado, toda imagem, quando capturada digitalmente, é formada por *pixels per inch* ou pixels por polegada (PPI), se estiver na tela de um computador deve ser definida como PPI⁵⁹.

Após essas definições, faz-se necessária a busca por uma estratégia de mapeamento das imagens a serem analisadas. Para tal, propõe-se a utilização da técnica de mapeamento das cores baseada nos pixels da imagem. Como a imagem obtida por câmeras digitais evidencia as tonalidades das cores de forma microscópica, o mapeamento pixel a pixel pode descobrir a tonalidade de cada cor, facilitando a análise da topologia da imagem.

Espera-se, com a aplicação do método proposto, uma grande geração de dados que precisarão ser interpretados para tornarem-se informação⁶⁰. Esse processo é tratado na área de Ciência da Computação por intermédio de técnicas de *data mining*. A mineração de dados, ou *data mining*, pode ser definida como o conjunto de técnicas e/ou algoritmos baseados em análise de padrões para a

extração de informação em banco de dados. Sua implementação divide-se em uma sequência de fases, entre as quais se têm: a seleção, o pré-processamento, a transformação, a interpretação e avaliação e a mineração propriamente dita²¹. A aplicação de *data mining* traz muito mais facilidade na interpretação ou transformação dos dados em informação, possibilitando às pessoas de interesse informações importantes de forma mais rápida²².

Com os avanços em tecnologias de computação ao longo dos últimas décadas, técnicas de modelagem numérica tornaram-se mais populares, abrangentes e confiáveis. Métodos numéricos também são geralmente mais econômicos e mais rápidos do que as técnicas de modelagem física, oferecendo um perfil baseado em números⁶¹.

Atualmente, existem algumas ferramentas disponíveis que auxiliam na aplicação de vários modelos matemáticos de análise de grandes volumes de dados. Pode-se citar como um dos *softwares* mais utilizados para esse fim em pesquisas acadêmicas o *Waikato Environment for Knowledge Analysis* (WEKA). Trata-se de um *software* livre que possui a capacidade de analisar os dados nele incluídos⁶². Seu modelo-padrão de dados é o formato Attribute-Relation File Format (ARFF), porém se podem importar os dados ou, como na sugestão deste trabalho, obter-se os dados via outros sistemas, usando-se o WEKA para auxiliar nas análises dos dados. No início da elaboração deste trabalho, o WEKA serviu para simulações antes do desenvolvimento do aplicativo.

3.4 Uso de *softwares* na área da saúde

Desde a evolução dos computadores, muitos conhecimentos, tecnologias e experimentações científicas buscam contribuir de forma significativa na área da saúde, na ampliação do potencial diagnóstico de doenças, na melhoria da qualidade de vida da população e na possibilidade das pessoas acessarem bens e serviços de saúde estruturados, capazes de oferecer respostas a demandas que lhes são cotidianamente apresentadas⁶³.

Os *softwares*, além de serem ferramentas auxiliaadoras do conhecimento, oferecem mais abrangência para as diversas áreas da saúde, desde o diagnóstico de doenças até o auxílio no tratamento de pacientes. Podem-se citar várias melhorias trazidas pelos *softwares* aos seus usuários, por exemplo:

agilidade, organização, segurança dos dados, que especialmente no caso da área da saúde são benefícios importantes. O fato de poder auxiliar algum tratamento de forma rápida tem grande valia para as pessoas que se encontram em um momento de emergência médica⁶³.

Vários trabalhos registram muitos avanços alcançados pela tecnologia da informação (TI) na área da saúde, como, por exemplo: diagnósticos e equipamentos precisos e menos evasivos; equipamentos e resultados de laboratórios conectados a *softwares* de computadores, diminuindo a porcentagem de erro; a telemedicina, que permite intervenções cirúrgicas a distância; a nanotecnologia, que em uma velocidade inimaginável traz os possíveis resultados e tratamentos de doenças; a biotecnologia com células traz a promessa de reparação de órgãos humanos e tecidos danificados^{14,15,17,64}.

A área acadêmica também corrobora a avaliação positiva do uso dos sistemas de informação na saúde, reconhecendo que os dados de sistemas informatizados auxiliam no suporte à decisão clínica, diminuindo a chance de erros e acelerando a tomada de decisão por parte dos profissionais. Como as bases de dados convergem para o Departamento de Informática do Sistema Único de Saúde (DATASUS), com importantes indicadores, cabem aos gestores acompanhar e aconselhar o profissional de saúde que alimenta e utiliza os sistemas implementados, evitando que os sistemas de informação em saúde (SIS) funcionem apenas como repositório, sem refletir o cuidado prestado em determinado local¹².

Assim, os sistemas de informação voltados para a saúde contemplam um campo de rápido desenvolvimento científico que lida com armazenamento, recuperação e uso da informação e dados e conhecimentos biomédicos para a resolução de problemas e tomada de decisão¹³. As principais áreas de atuação da informática médica ou informática em saúde passam por sistemas de informação em saúde; prontuário eletrônico do paciente; telemedicina; sistemas de apoio à decisão; processamento de sinais biológicos; processamento de imagens médicas; internet em saúde; e padronização da informação em saúde^{13,18}.

É possível perceber que os resultados com o uso dos *softwares* estão cada vez mais surpreendentemente complexos; exames que antes eram complicados, demorados e caros vêm perdendo espaço para o uso dos *softwares*. Similarmente a este trabalho, existem métodos capazes de captar pequenas

alterações de cores invisíveis a olho nu e sugerir pequenas movimentações de fluxo de sangue em vídeos¹⁸.

Todo esse histórico de análise de uma infinidade de dados gera outro fenômeno conhecido e que já traz bastante preocupação aos administradores de sistemas, que é o *big data*. Esse elemento se traduz em manipular expressivo volume de dados estruturados e não estruturados. O procedimento não é trivial e torna-se difícil processar os dados usando-se meios tradicionais de banco de dados, *softwares* e técnicas, pois excedem toda a capacidade de processamento tradicional²⁰. Estima-se que a cada 20 meses a quantidade de dados armazenada em todas as bases de dados do mundo se duplique. Esses dados são agregados de várias áreas, gerados por atividades como transações financeiras, monitorização ambiental, obtenção de dados clínicos e genéticos, captura de imagens, tráfego na internet, entre muitas outras fontes. Os dados podem, ainda, assumir vários formatos diferentes, como séries temporais, transações, grafos ou redes sociais, textos, páginas *web*, imagens (vídeos) e áudios (músicas).

Com o crescente aumento da quantidade de dados gerada, a diferença entre a quantidade de dados existente e a porção de dados que é analisada e compreendida tem se acentuado de forma significativa ao longo do tempo⁶⁵. Por outro lado, a quantidade de dados oferece oportunidades de análises que, associadas aos sistemas de informação em saúde, podem gerar padrões e análises que apoiam novas tomadas de decisão, ajudando a gerar significativo interesse na inteligência e análise de negócios, muitas vezes referida como técnicas, tecnologias, sistemas, práticas, metodologias e aplicativos para analisar dados críticos de negócios para ajudar uma empresa²⁰.

No entanto, desde a popularização dos *smartphones*, o uso de aplicativos (Apps) vem crescendo em praticamente todas as áreas. Na saúde esse fenômeno também vem se destacando por sua facilidade de acesso e sua abrangência. A quantidade desses aplicativos aumenta de forma rápida, às vezes fazendo a mesma coisa ou realmente alterando a forma de analisar ou processar os dados. Existem milhares desses Apps disponíveis para o uso, alguns gratuitos e outros com licenças que variam desde um pagamento único até licenças de concessão de uso por tempo ou função do aplicativo. Existem Apps que acessam bases de dados importantes, melhorando o processamento e divulgação dos

dados a fim de facilitar o uso por parte dos usuários. Exemplo disso é o App que promete gerenciar o calendário de vacinas do Ministério da Saúde⁶⁶.

A lista não para por aí e se expande por diversos fins, como bulas de remédios *online*, agendas de consumo de remédios, marcações de consultas em planos de saúde, entre muitos outros. Existem ainda aplicativos na área da saúde com fim educacional, que vêm conquistando muito espaço devido a praticidade e disponibilidade dos dados. Não existe um *ranking* de melhores, mas existe uma tabela com 25 fontes de algumas opções de aplicativos que se encaixam na área de saúde e educação em saúde.

Tabela 1 - Aplicativos ligados à saúde

Título	Breve descrição
BMJ <i>OnExamination</i>	Quiz de perguntas, respostas de conhecimentos médicos
Bulário Digital	Banco de dados de bulas de remédio
Bulário veterinário	Banco de dados de bulas veterinárias
<i>Calculate by QxMD</i>	Calculadora médica
CID10	Consulta rápida e inteligente aos códigos e descrições completas da Classificação Internacional de Doenças (CID10)
<i>Clinical Key</i>	Pesquisa clínica baseada em evidências
<i>Clinical Sense</i>	Jogo interativo para tomada de decisões clínicas
<i>DailyRounds - Doctor's App</i>	Compartilhamento e testes de casos clínicos
<i>Epocrates Plus</i>	Referência em informação clínica
Figura 1 - Imagens médicas	Compartilhamento de casos clínicos por fotografias
<i>Human Anatomy Atlas</i>	Periódico em vídeo revisado por pares
<i>JoVE - Journal of Visualized Experiments</i>	Periódico em vídeo revisado por pares
Leia por QxMD	Revista digital de literatura médica
<i>Medical News Online</i>	Notícias médicas
<i>Medscape</i>	Referência em informação clínica
<i>MedQuiz</i> Residência Médica	Questões de prova de Residência Médica
<i>Prognosis: Your Diagnosis</i>	Jogo interativo de simulação de casos clínicos
<i>PubMed Mobile</i>	Referência em publicações científicas
<i>Sobotta Anatomy Atlas</i>	Atlas de anatomia humana
Terminologia médica	Dicionário médico
<i>The Lancet</i>	Periódico científico
<i>Touch Surgery</i>	Simulador de cirurgia
<i>UpToDate</i>	Decisões médicas baseadas em evidência
<i>WebMD</i>	Informação em saúde, apoio à tomada de decisão clínica
<i>WhiteBook: clinical decision</i>	Guia de prescrições médicas e condutas clínicas e tomadas de decisão

Fonte: OLIVEIRA, A.R.F.; ALENCAR, M.S.M. (2017)¹⁶.

Os Apps integram as chamadas novas tecnologias de informação e comunicação (NTIC) e são ferramentas tecnológicas emergentes que tiraram proveito dos artifícios da internet para capturar, armazenar, recuperar, analisar, receber e compartilhar informação. Por serem tecnologias desenvolvidas para uso

em aparelhos móveis, trazem consigo a possibilidade de serem personalizadas e individualizadas¹⁶.

Em geral, os Apps para a área da saúde são desenvolvidos ao longo de muitas pesquisas acadêmicas, o que lhes dá a credibilidade necessária. No entanto, a chamada área de *mobile health*, principalmente no Brasil, ainda está desprovida de mecanismos regulatórios que legitimem o uso dessa tecnologia para a área de saúde¹⁶. O controle do desenvolvimento desses Apps torna-se difícil principalmente pelo fato do elevado número de profissionais de TI que acreditam ser possível criar um App e vender muitas cópias nas lojas *online* dos aparelhos dos consumidores.

O uso dos aparelhos de celulares no Brasil chega a números impressionantes. Em maio de 2018, o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) informou que 138 milhões de brasileiros possuem o aparelho no Brasil. Isso representa 77,1% da população com idade acima de 10 anos⁶⁷:

- a) O percentual de 94% declarou que é seu principal meio de acesso à internet;
- b) celular está presente em 46,7 milhões de domicílios, sendo o único meio utilizado para acesso à internet em 38,6% das residências com acesso.

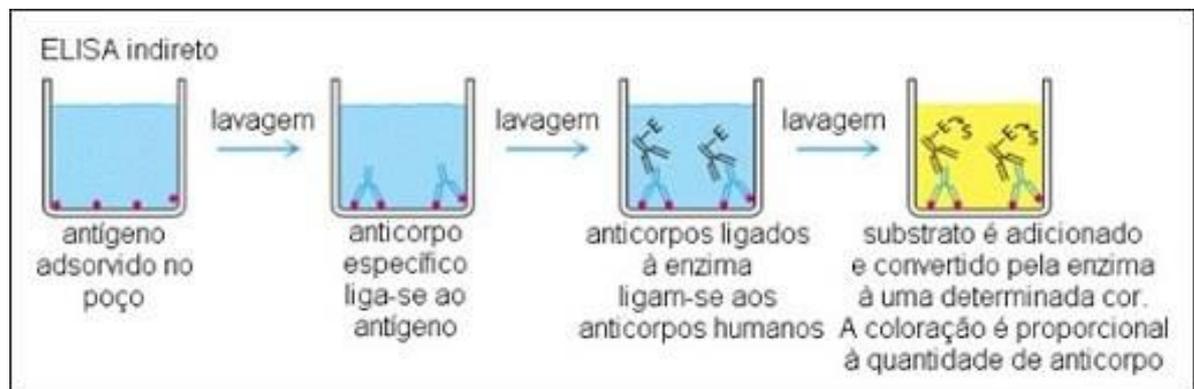
No Brasil existe uma organização que visa auxiliar no controle de sistemas de informação na saúde, a Sociedade Brasileira de Informática na Saúde (SBIS). Essa Sociedade entende informática na saúde como a área do conhecimento que trata da aplicação de conceitos e tecnologias de informação e comunicação (TIC) para a melhoria e transformação de sistemas, serviços e processos de saúde. O termo eSaúde (tradução do inglês – *eHealth*) pode ser entendido na mesma definição de informática em saúde e tem sido bastante utilizado recentemente⁶⁸.

3.5 Exame ELISA

O ensaio de imunoabsorção enzimática, conhecido como ELISA, é um dos métodos de diagnóstico mais populares entre os ensaios imunológicos

existentes para a detecção de doenças, devido à sua simplicidade e alta sensibilidade. O ELISA emprega um marcador enzimático para a detecção de anticorpo-antígeno formados em uma fase sólida. A detecção é baseada na atividade catalítica da enzima de um substrato incolor apropriado para dar um produto colorido, cuja intensidade é medida pela densidade óptica. O processo é trabalhoso e requer operadores experientes para ser realizado. A detecção de doenças costuma ser demorada e a execução de todo o processo geralmente leva várias horas. O teste realizado em laboratório possui várias etapas como pode ser observado na Figura 6^{69,70}.

Figura 6: Processos para realização do teste ELISA



Fonte: KINDT, T.J.; GOLDSBY, R.A.; OSBORNE, B.A. (2008)⁷¹.

Primeiramente, o antígeno é absorvido pelo poço onde será realizado o exame. O anticorpo específico do teste em questão liga-se ao antígeno e os anticorpos ligados à enzima ligam-se aos anticorpos humanos. O substrato finalmente é adicionado e reage com a enzima alterando sua cor. Em cada fase do teste é necessário fazer a lavagem do poço para a retirada de anticorpos que não se ligaram^{69,71}.

3.6 Inteligência artificial

A inteligência artificial (IA) vem ganhando notoriedade nos métodos de pesquisa em muitas áreas do conhecimento. A possibilidade de processar muitos dados baseando-se em um modelo predefinido de resultados gera uma análise de probabilidade que, quando alta, pode ser um bom método de solução de problemas. A IA é uma divisão da Ciência da Computação, que pesquisa como as

máquinas podem imitar a inteligência humana⁷². O termo IA surgiu pela primeira vez em 1955, com o professor de Matemática do *Dartmouth College*, John McCarthy, em sua proposta de pesquisa⁷².

Já em 1997, Mitchell citou outro conceito importante chamado aprendizagem de máquina (*machine learning* - ML), como a base para a composição de algoritmos de computador que evoluem automaticamente com a experiência. Afirmou também que o desenvolvimento da tecnologia de ML pode levar à melhor compreensão das habilidades de aprendizagem humana e, mais ainda, das deficiências^{72,73}. As aplicações atuais dentro da ML tem se concentrado em algoritmos e na análise de grandes volumes de dados⁷². O aprendizado de máquina é um campo multidisciplinar, baseando-se nos resultados da inteligência artificial, probabilidade e estatística, teoria da complexidade computacional, teoria do controle, teoria da informação, Filosofia, Psicologia, Neurobiologia e outros campos⁷³. Em se tratando de análise de imagens digitais, a segmentação aparece em vários estudos, principalmente na Medicina, relacionada a diagnósticos por imagem⁷⁴.

3.6.1 Segmentação de imagens com *clusters*

Quando se trata de análise de imagens, o processo de segmentação visa separar os objetos de imagem do fundo da imagem, ou seja, particionar a imagem em regiões. Esse processo evidencia regiões que facilitam a sua interpretação e que são conhecidas como regiões de interesse⁷⁵.

Métodos de segmentação podem, por exemplo, fazer classificação de acordo com a estratégia de representação dos objetos a serem segmentados: métodos orientados a bordas^{76,77} e métodos orientados a regiões^{74,78}. Orientados a bordas procuram detectar as bordas de cada objeto de interesse na imagem. Como métodos orientados a regiões, procuram identificar todos os pixels que pertencem ao interior de cada objeto de interesse. O agrupamento de dados é um método muito difundido em muitas áreas, como aprendizado de máquina, reconhecimento de padrões, visão computacional e compactação de dados. O principal objetivo do *clustering* é categorizar dados semelhantes com base em medidas de similaridade⁷⁹. *Clustering* ou agrupamento é definido como

aprendizado de máquina não supervisionado e permite explorar a estrutura dos conjuntos de dados identificando informações antes difíceis de se interpretar⁸⁰.

A aprendizagem de máquina é dividida em dois tipos:

- a) **Aprendizagem supervisionada** - nesse tipo as características dos objetos analisados são agrupadas. Problemas de classificação pertencem a essa categoria. Existem vários modelos de aprendizado supervisionado disponíveis, incluindo árvores de decisão, redes neurais, máquinas de vetores, entre outros;
- b) **aprendizagem não supervisionada** - em que as características das classes são desconhecidas. Aqui também há vários modelos disponíveis, incluindo k-vizinho mais próximo (*K-means*), algoritmos de agrupamento baseados em gráficos, algoritmos de particionamento⁸¹.

A grande preocupação para aplicação desses métodos é encontrar a solução que melhor se ajusta ao tipo de aprendizagem e também ao tipo de modelo. A aplicabilidade do modelo depende puramente da estrutura e da solução esperada⁸¹.

Em se tratando de mapeamento de imagens, outro conceito que pode ser associado é a mineração de dados ou *data mining*, que está ligado à extração de conhecimento oculto de um grande conjunto de dados⁸¹. As imagens digitais exercem papel fundamental atualmente em análises de dados. Por meio delas muitas características, conceitos e formas podem ser extraídos com o intuito de identificar informações em um conjunto que pode conter milhares de pixels. Com o avanço das câmeras digitais presentes nos celulares, existe a tendência a que a quantidade de pixels cresça bastante. Já é possível encontrar com certa facilidade aparelhos de celular com câmeras com qualidade de imagem ou resolução bastante altas. Ao comprar um aparelho, a medida usada para indicar a qualidade das fotografias é o megapixel (MP). Para se descobrir quantos MPs uma imagem tem, basta multiplicar o número de pixels da altura pelo da largura. Por exemplo, uma imagem com 3.456 pixels de altura X 2.304 pixels de largura = 7.962.624. Ficar sempre pronunciando ou citando um número tão grande dificulta a comunicação, assim, o número costuma ser arredondado, representando 8 MPs.

Para exemplificar melhor, a Tabela 2 mostra o comparativo das resoluções mais presentes nos aparelhos atuais.

Tabela 2 - Representação da quantidade de pixels em cada resolução de câmeras em MPs

Pixels	Quantidade de pixels	Mega pixels
1600x1200	1.920.000	2 MP
3072x2304	7.077.888	7 MP
3648x2736	9.980.928	10 MP
4288x3216	13.790.208	14 MP

Fonte: autor da tese.

Percebe-se então que, quanto maior for a resolução em MP da câmera, mais pixels precisarão ser analisados por qualquer método que se proponha a estudar uma imagem. Com a constante evolução dos celulares, é praticamente impossível prever a quanto pode chegar a quantidade dos pixels de imagens futuramente, sugerindo que a capacidade de análise da mineração de dados precisa acompanhar esse crescimento.

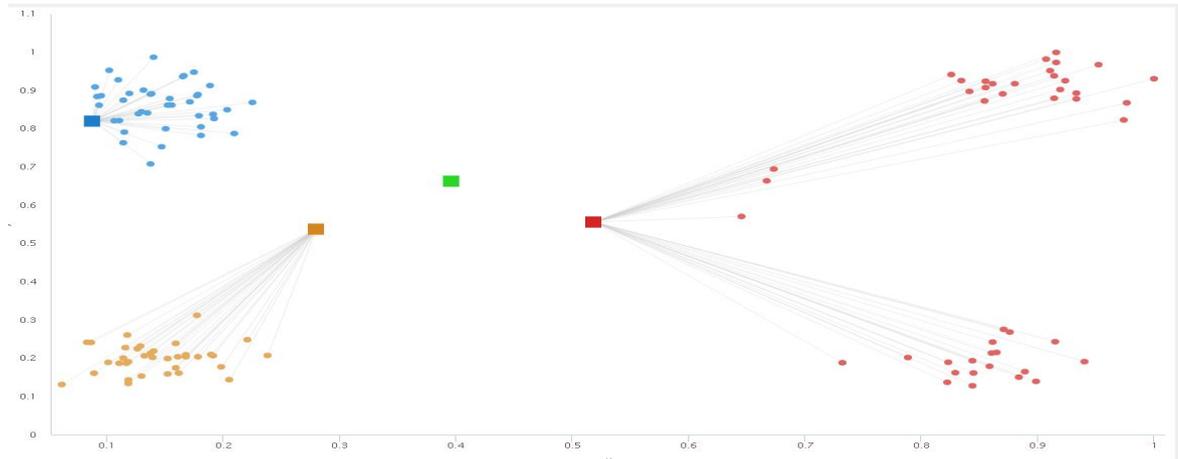
3.6.2 O método *K-means*

O algoritmo *K-means* desenvolvido por HARTIGAN e WONG é um dos meios mais conhecidos para segmentação de imagens em diferentes subconjuntos, evidenciando partes mais significativas ou pontos de interesse das imagens⁸². Na região, o agrupamento é realizado por meio de critérios predefinidos, como intensidade, cor e textura semelhantes⁸³. Os aglomerados de pixels semelhantes são formados fornecendo o grau de similaridade. O *K-mean clustering* é uma técnica que divide a imagem em diferentes *clusters* iterativamente. Os pixels são agrupados de forma exclusiva, pertencendo a determinado *cluster*, de forma que ele não pertencerá a outro *cluster*⁸³. O algoritmo cria pontos de centro, também conhecidos como centroides. Esses pontos são responsáveis por criar os *clusters*.

A letra K representa o número de *clusters* que será utilizado pelo algoritmo⁸⁴. A estratégia consiste em dois estágios independentes. Primeiro, são calculados K-centros aleatoriamente, depois suas posições são recalculadas aproximando os centros dos dados de cada cluster. Na Figura 7 percebem-se

pontos alocados em várias disposições no gráfico. Notam-se também quatro centroides: um vermelho, um azul, um laranja e outro verde.

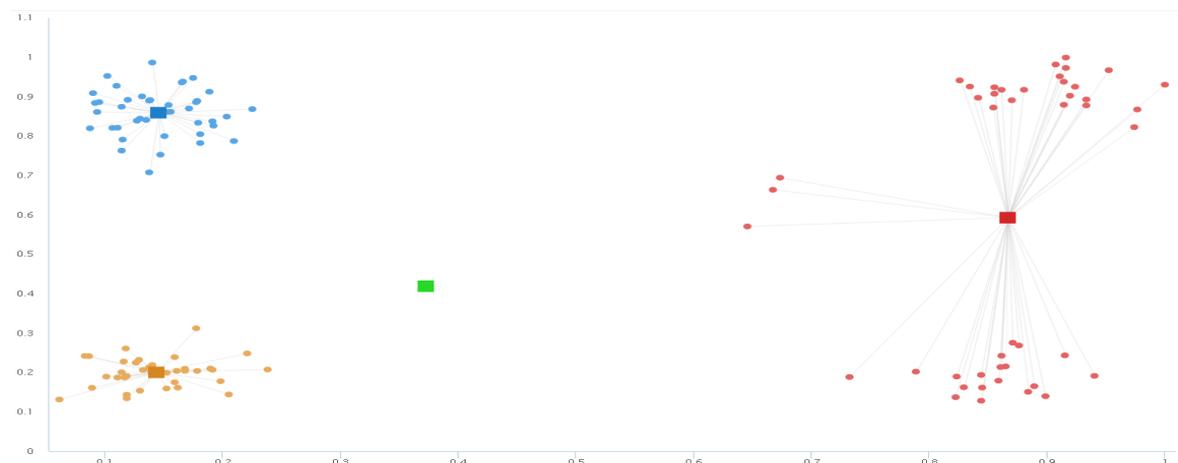
Figura 7: Simulação de posicionamento inicial dos centroides em relação à disposição dos dados



Fonte: autor da tese.

A posição inicial desses centroides pode ser melhorada se forem deslocados para próximo dos dados que mais se aproximam deles. Na próxima iteração suas posições são aproximadas de seus respectivos grupos Figura 8.

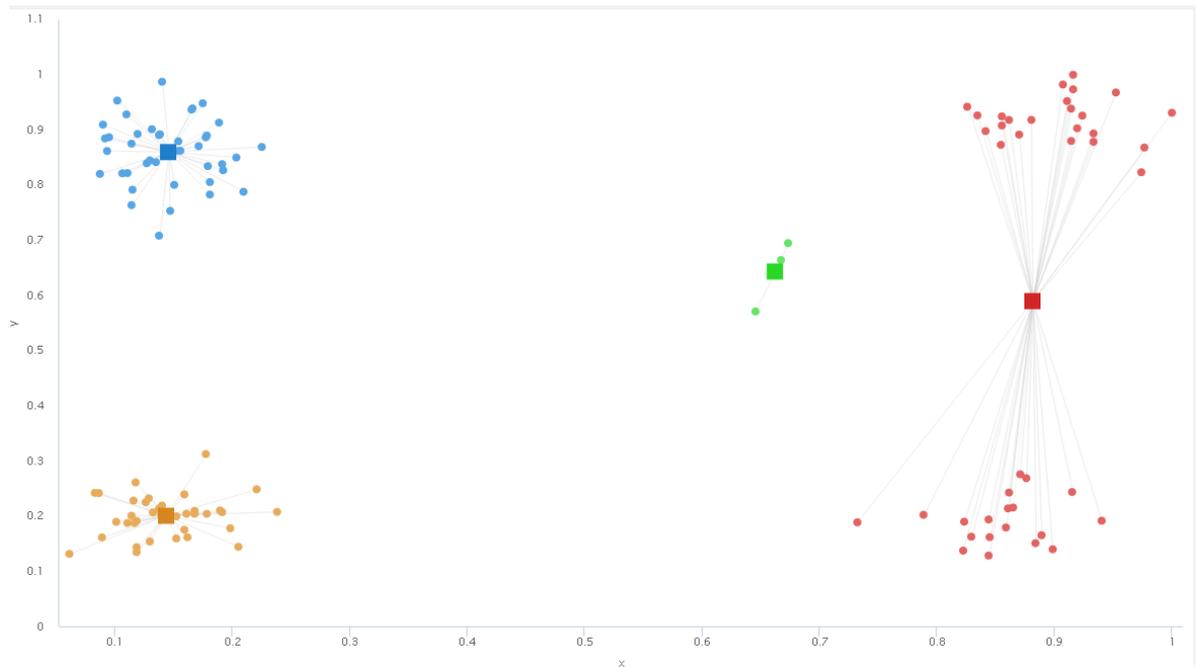
Figura 8: Representação visual da primeira iteração em que os centroides se aproximam dos grupos de dados



Fonte: autor da tese.

No caso do exemplo da Figura 8, na próxima iteração vista na Figura 9, os centroides se reposicionaram o mais próximo possível de seus respectivos grupos de dados.

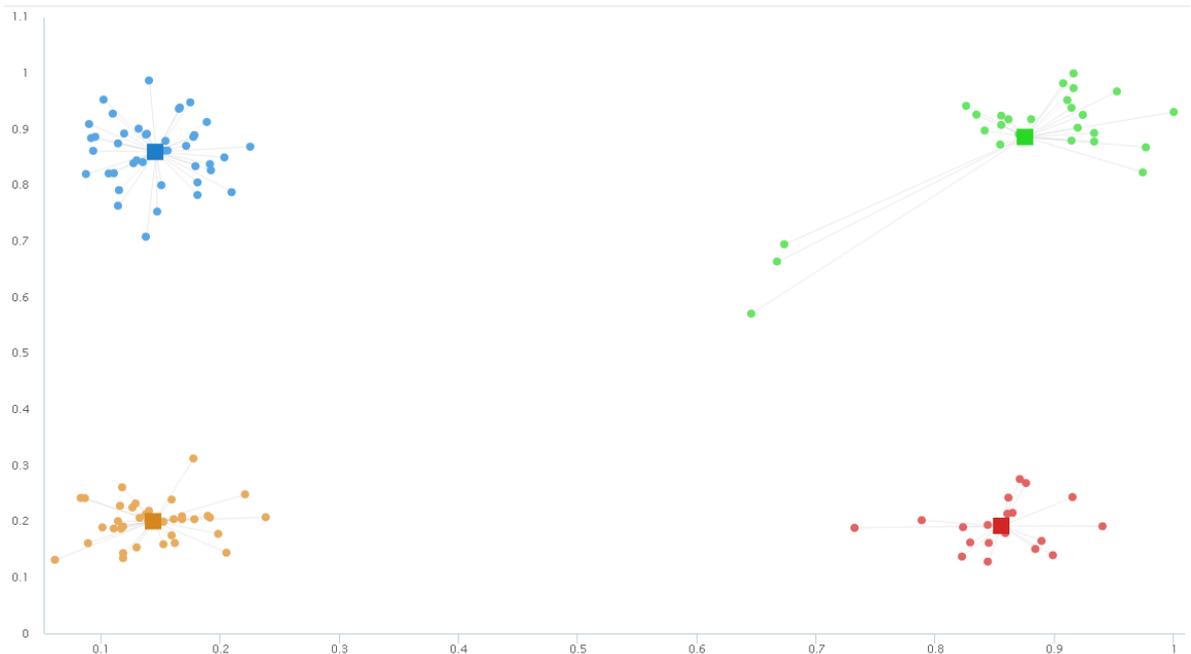
Figura 9: Representação visual da segunda iteração em que os centroides se posicionam nos centros de cada grupo de dados



Fonte: autor da tese.

Na terceira iteração, os pontos já estão posicionados em seus pontos ótimos, ou seja, sua mudança de posição não representa mais alterações baseado nas distâncias dos pontos. A Figura 10, mostra o posicionamento final dos centroides formando quatro grupos.

Figura 10: Representação visual da segunda iteração em que os centroides se posicionam nos centros de cada grupo de dados



Fonte: autor da tese.

A forma mais comum de posicionar esses centroides é utilizando o método conhecido como distância euclidiana. Com base nesse centro, é calculada a nova distância euclidiana entre cada centro e cada ponto de dados. O centro de cada *cluster* é o ponto onde a soma das distâncias entre todos os objetos no *cluster* é a menor. Portanto, o algoritmo minimiza a soma das distâncias de cada objeto do *cluster* até seu núcleo^{82,83}.

Algoritmo detalhado⁸⁵:

- a) Definir o número K de *clusters* e determinar os centros aleatoriamente;
- b) calcular a distância mais curta entre cada amostra e os centros do *cluster* existentes.

$$d(x, y) = \sqrt{\sum_{i=1}^n (x_i - y_i)^2} \quad (1)$$

- a) Para cada amostra x_i do conjunto de dados, a sua distância em relação aos K centros é calculada e, em seguida, é atribuída nas classes correspondentes de menor distância do agrupamento;
- b) calcular os novos centroides tomando a média de todos os pontos de dados que pertencem ao *cluster*;
- c) repetir as etapas b e c até que não haja mudança na posição do centroide.

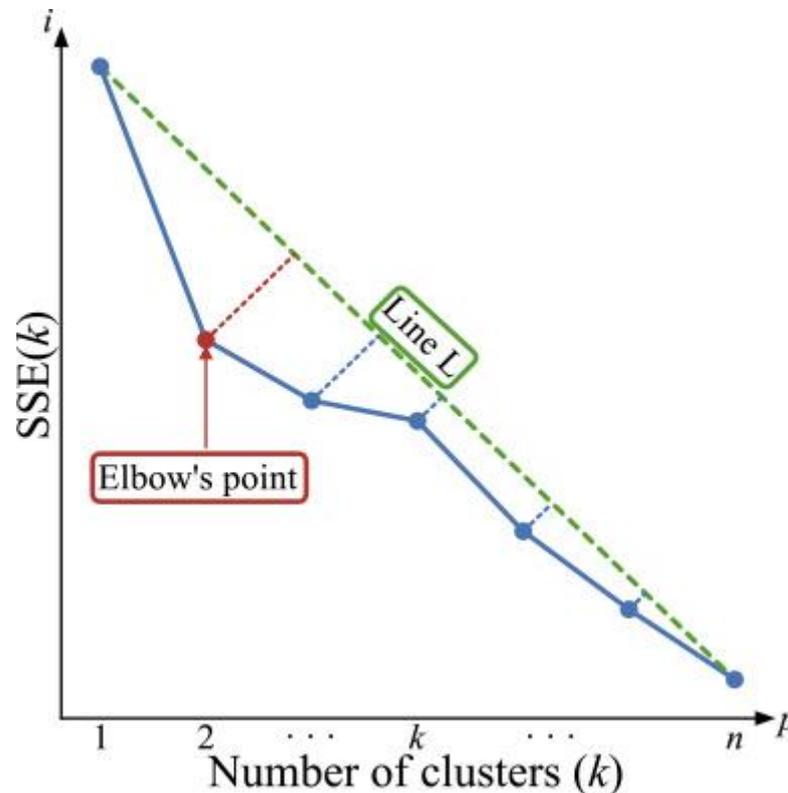
Em problemas de classificação não supervisionada, a definição do número de *clusters* pode ser uma tarefa difícil, devido à falta de conhecimento prévio dos dados. Por exemplo, em uma base de dados que contém medidas de camisas e é preciso agrupar os registros com medidas similares. Podem-se definir *clusters* referentes aos tamanhos pequeno, médio e grande (P, M e G). Em se tratando de imagens, porém, não fica clara a variação de cores, podendo conter milhares de variações de tonalidades de cores.

Esse fato justifica a busca de um meio para determinar o melhor número K usado no algoritmo *K-means*. Podem ser citados pelo menos dois métodos para encontrar o melhor parâmetro para cada problema estudado. São conhecidos como método do cotovelo e método da silhueta, sendo o primeiro um dos mais clássicos, sendo empregado em diversos estudos⁸⁶. O próximo subcapítulo tratará a descrição do funcionamento desse método.

3.6.2.1 O método do cotovelo

O método do cotovelo (em inglês *Elbow*) é usado para determinar o número ideal de *clusters* em um conjunto de dados. Baseia-se na interpretação da soma dos erros quadrados (*Sum of Square Errors* - SSE) em função do número de *clusters*. É considerado um valor ideal de K quando o aumento no número de *clusters* não representa um valor significativo de ganho^{87,82}. Na Figura 11 é possível observar o comportamento da SSE; o valor mínimo de K representa o número de *clusters* ideal.

Figura 11: Exemplo gráfico do comportamento da soma dos erros quadrados em busca do melhor valor de K



Fonte: GONZÁLEZ-CABRERA. N.; ORTIZ-BEJAR. J.; ZAMORA-MENDEZ. A.; GONZ, N.; PATERMINA, A.M.R (2021)⁸⁷.

Primeiro, o algoritmo determina a linha reta (L) entre os pontos [1,SSE(1)] e [7,SSE(7)], depois é localizado o ponto K mais distante da linha para SSE(k)⁸⁷. Para calcular a SSE, a seguinte fórmula é aplicada:

$$\sum_i^n = 0 \min (|| x_i - \mu_j ||^2) \quad (2)$$

Sendo:

x_i refere-se à i -ésima instância no *cluster* j .

μ_j é a média das amostras ou centroide do *cluster* j .

O comportamento da queda desse valor também é chamado de “inércia”⁸⁸.

4 METODOLOGIA

Para a execução da pesquisa, fez-se necessário o uso de um conjunto de ações, ferramentas e procedimentos. As próximas seções buscam elucidar a metodologia experimental aplicada, começando pela obtenção das amostras de imagens e posteriormente a aplicação do algoritmo. Para simular as alterações de cores nas imagens, foram utilizados corantes em diferentes concentrações. A diluição em água destilada minimiza possíveis erros de deturpação dos dados. Para simular o início do processo de aparecimento de cores, pretendeu-se utilizar pequenas quantidades de corantes. Em contrapartida, para cores mais fortes aumentou-se a concentração de corantes na água.

Foi utilizada uma foto de um microcircuito testado com o método ELISA para verificar seu comportamento em comparação aos corantes. Aproveitando o estudo de detecção de cores, o método foi aplicado para buscar uma forma de analisar os microcircuitos. Usando técnicas diferentes, vários testes foram executados.

4.1 Sequência de procedimentos

O *software* precisa ter primeiramente a capacidade de extrair as curvas de níveis de cores da imagem a ser analisada. Para que o sistema de avaliação como um todo funcione, existem alguns passos necessários a serem seguidos. Tais passos são interdependentes, ou seja, para que o próximo aconteça é necessária a execução do passo anterior.

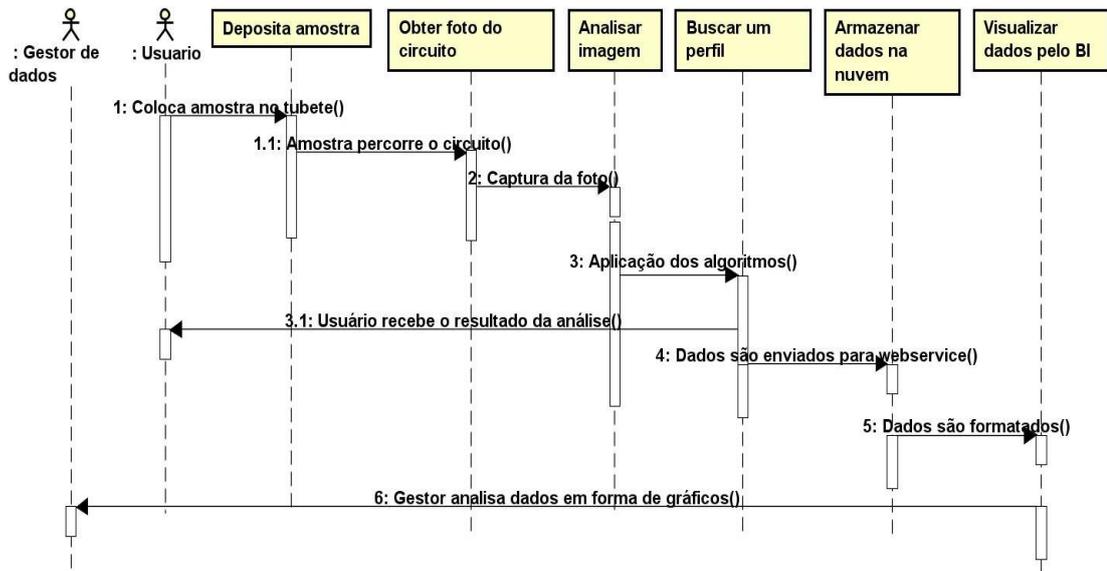
A seguir apresenta-se a ordem dos procedimentos executados para a avaliação das imagens:

- a) Obter a amostra a ser analisada;
- b) bombear a amostra pelo microcircuito;
- c) obter a imagem digital ampliada pelo celular;
- d) executar a função de mapeamento dos níveis de tons de cores: nessa fase, obtém-se um mapa que representa as posições dos níveis das cores em relação à imagem analisada;
- e) executar do algoritmo para analisar os perfis topológicos da imagem;

- f) analisar os resultados em busca de padrões patológicos;
- g) armazenar os dados em um servidor;
- h) gerar meio de análise dos dados.

Para exemplificar melhor a sequência de processos, o diagrama da Figura 12 descreve a forma como as tarefas precisam ser executadas.

Figura 12: Diagrama de sequência do aplicativo



Fonte: autor da tese.

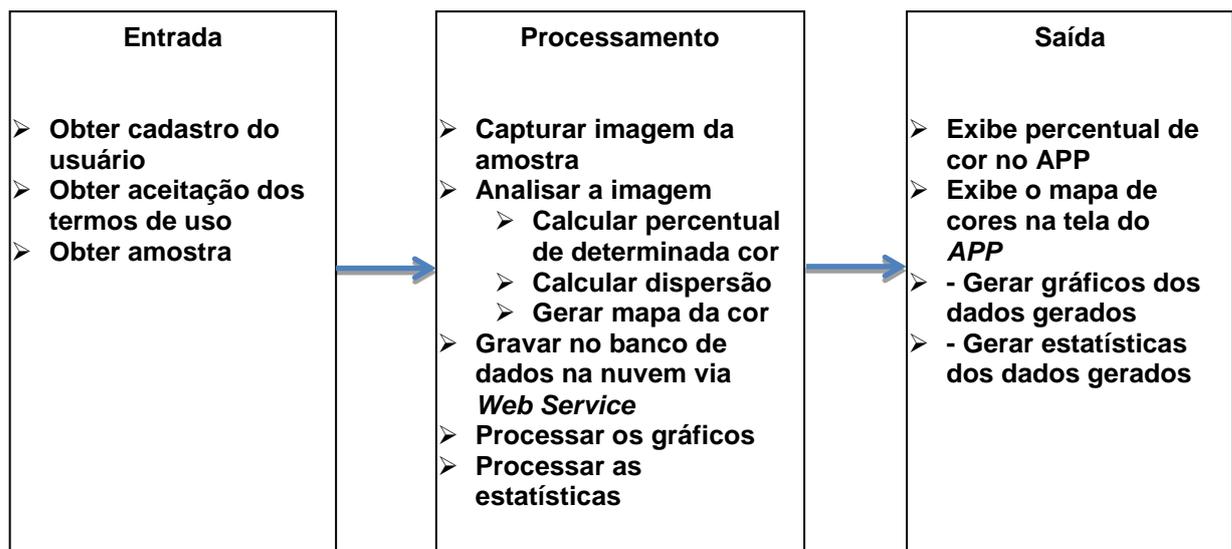
A Figura 12, evidencia os dados desde o início do processo até a fase final de análise dos dados via recursos gráficos. O “usuário” inicia as entradas e, após todo o processo, o “gestor de dados” consegue interpretar a totalidade dos registros gerados pelo usuário, ocasionando uma saída.

Entre a entrada e a saída dos dados, acontecem os seguintes procedimentos:

- a) Amostra percorre o circuito;
- b) celular captura a foto;
- c) aplicativo avalia a imagem;
- d) retorna para o usuário o resultado;
- e) envia os dados para a nuvem;
- f) formata os dados em forma de gráfico.

Para entender e planejar o aparato tecnológico relacionado ao *software*, o uso da *Unified Modeling Language* (UML) se apresenta como uma boa ferramenta de documentação voltada para projetos de tecnologia da informação. Trata-se de uma linguagem padrão para a elaboração da estrutura de projetos de *software*. Ela pode ser usada para a visualização, a especificação, a construção e a documentação de artefatos que façam uso de sistemas complexos de *software*⁸⁹. Na computação é muito comum separar em camadas os processos principais ligados às atividades tecnológicas. Essa visão facilita o entendimento relacionado a partes específicas das atividades realizadas pelos dispositivos computacionais. As camadas: Entrada => Processamento => Saída visam classificar as atividades por seu fim e assim destacar a modelagem do processo em uma visão de alto nível⁹⁰.

Figura 13: Passos para a análise das amostras



Fonte: autor da tese.

A **Erro! Autoreferência de indicador não válida.** é uma adaptação da clássica demonstração computacional para o fluxo de dados em um sistema computacional. Aqui foi adaptada visando detalhar mais o processo utilizado pelo protótipo, baseando-se no fluxo computacional mais utilizado para exemplificar resolução de sistemas de informação. O fluxo evidencia a complexidade dentro de cada passo necessário para a solução final do algoritmo proposto neste trabalho.

4.2 Sobre o algoritmo

A estratégia utilizada pelo algoritmo é analisar a tonalidade da cor de cada pixel. Tal tonalidade recebe um número referente às suas características, o que possibilita verificar as diferenças topológicas da imagem.

Após a obtenção do mapeamento dos níveis de cor, busca-se a aplicação de técnicas para avaliar a topologia da imagem, indicando áreas com maiores concentrações de cores.

A partir da matriz de obtenção de cores gerada na etapa de mapeamento da imagem, pretende-se aplicar um modelo de cálculo para verificar se os valores apresentados em um conjunto de dados apresentam acúmulo ou destaque de cores específicas.

Outra característica importante a ser verificada é a obtenção do grau de dispersão, por meio do cálculo de variância e desvio-padrão.

A variância é uma medida de dispersão que mostra o quão distante cada valor desse conjunto está do valor central (médio) de um dado conjunto de valores. Quanto menor é a variância, mais próximos os valores estão da média; e quanto maior ela é, mais os valores estão distantes da média. Já o desvio-padrão é um parâmetro bastante utilizado na estatística, que indica o grau de variação de um conjunto de elementos.

Para o cálculo da dispersão, a fórmula proposta é:

$$Cv = 100 \cdot \frac{S}{\bar{X}} \quad (3)$$

Sendo:

CV o coeficiente de variação.

S o desvio-padrão.

\bar{X} a média dos dados analisados.

Para cálculo do desvio-padrão, a equação proposta é:

1º) Encontra-se a variância amostral

$$\text{Var. amostral} = \frac{1}{n-1} \sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2 \quad (4)$$

Sendo:

X_i os valores dos pixels da imagem.

\bar{X} a média aritmética da amostra.

n o número de elementos da amostra.

2º) Calcula-se a raiz da variância encontrada da amostra para encontrar o desvio-padrão:

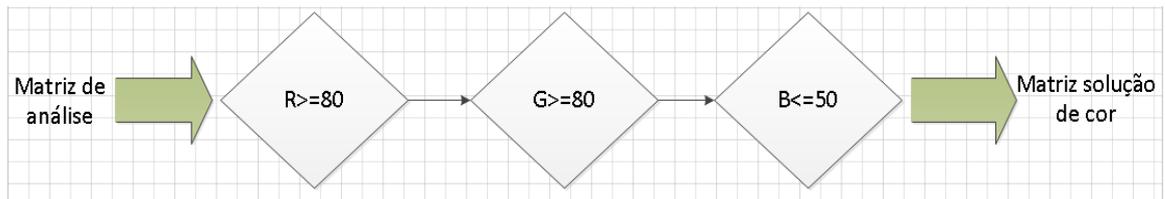
$$S = \sqrt{\text{Var. amostral}} \quad (5)$$

Espera-se encontrar diferenças nos valores das dispersões referentes a imagens de amostras positivas e negativas.

4.2.1 Busca de cores específicas

Para alguns experimentos, pode ser necessária a busca de alguma tonalidade específica. Para tal, o *software* precisa ter a capacidade de calibração da pesquisa da cor. Como o padrão de cores *Red-Green-Blue* (RGB) é formado por diferentes combinações para a criação de uma cor específica, o *software* precisa disponibilizar parâmetros que serão utilizados como base de testes. Uma estrutura condicional aliada a variáveis de representação de RGB pode servir como teste lógico Figura 14.

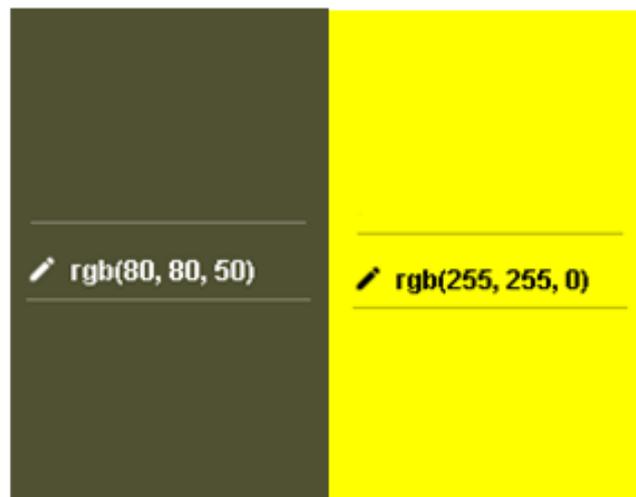
Figura 14: Teste de limiar de cores, usando parâmetros \geq e \leq



Fonte: autor da tese.

A utilização desse limiar de cores pode ser interessante no caso de testes em amostras que mudam de cor gradativamente com o tempo, como em experimentos baseados em mudanças de cores. Acredita-se que essa solução pode acelerar a análise, pois pode detectar a cor mesmo que ainda esteja em processo de formação da combinação RGB final. Por exemplo, ao analisar alguma amostra, pode ser necessário ajustar os valores limites de RGB para captar tons de cores entre marrom e amarelo Figura 15.

Figura 15: Comparativo RGB entre marrom e amarelo



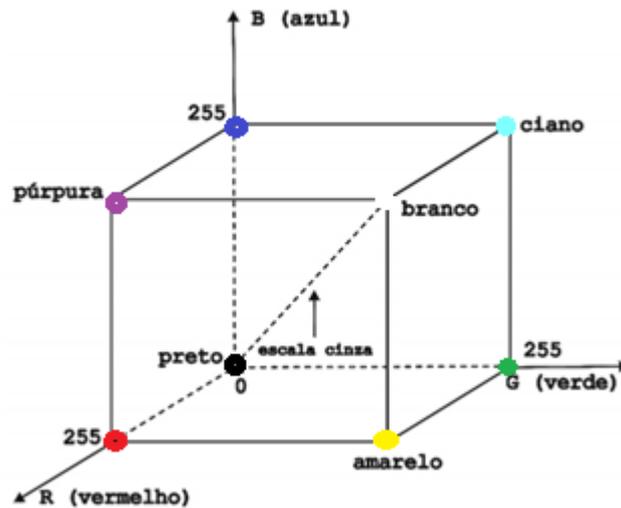
Fonte: autor da tese.

Considerando que a formação final da cor passa por um processo de transformação RGB, o mapeamento da alteração pode acelerar a análise, detectando os primeiros estágios da formação da futura cor.

4.2.2 Estratégia de captação da cor amarela

A busca pela cor amarela segue a definição da tabela RGB, na qual a cor amarela “pura” possui a seguinte combinação de valores: $R=255$ $G=255$ $B=0$. Percebe-se no cubo RGB representado na Figura 16 que, minimizando o valor do “B” e aumentando os valores de “R” e “G”, obtêm-se tons da cor amarela⁹¹.

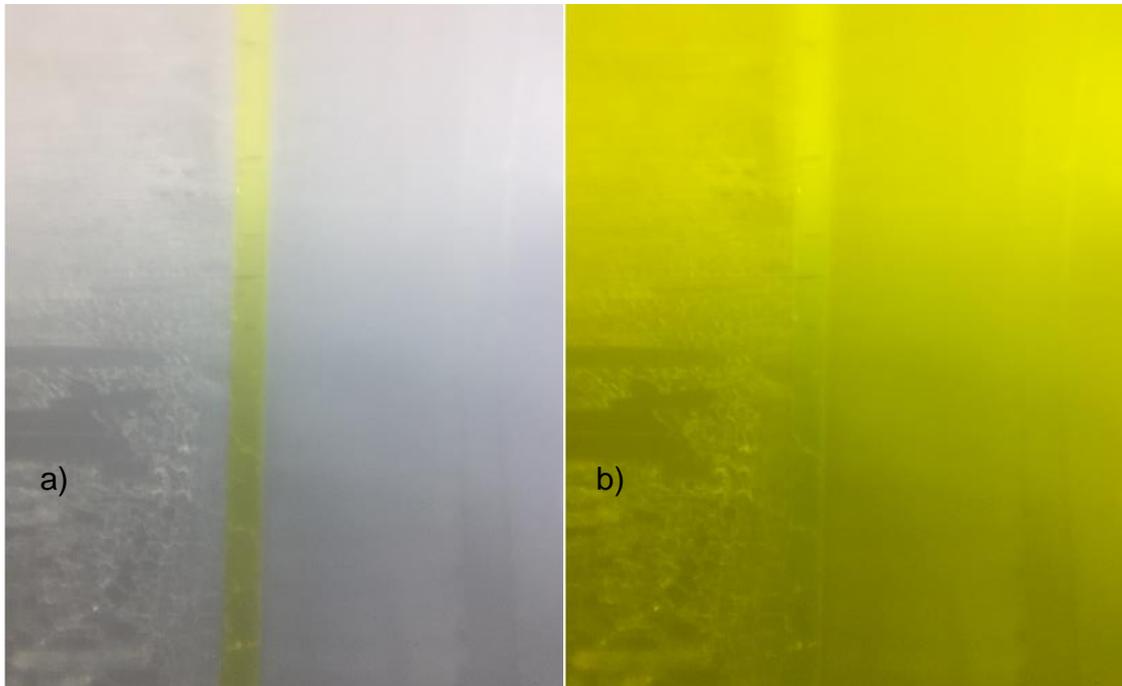
Figura 16: Cubo de cores RGB



Fonte: autor da tese.

Para validar essa teoria, foi utilizado o *software MultiSpec* para isolar o canal “B” e verificar a existência da cor amarela. Aplicando a técnica em uma das imagens do ensaio inicial, exibindo somente os canais “R” e “G”, a Figura 17 exhibe vários tons de amarelo. A parte “a” da Figura 17 representa a imagem original e da parte “b” foi retirado o canal azul.

Figura 17: Teste de exibição de tons de amarelo. A parte “a” representa a imagem original e da parte “b” foi retirado o canal azul.



Fonte: autor da tese.

Essa estratégia possibilitou a criação do fator de aceitação do canal azul. Os valores de ajustes possíveis para o parâmetro vão de zero a 35 (em testes iniciais valores acima de 35 apresentaram muitos pontos fora da área de interesse): zero é a ausência total de azul e 35 é o percentual máximo do canal azul (B) em relação aos demais. Se a equação (6) for atendida, o valor é plotado no gráfico; se não, esse ponto é ignorado. Portanto, esse fator pode ser testado na mesma imagem várias vezes usando várias combinações até que seja possível identificar melhor os tons de amarelo.

$$PP[x,y]=((B[x,y])/(B[x,y]+G[x,y]+R[x,y]))*100 < FA \quad (6)$$

Sendo:

PP = pixel plotado.

[x,y] = coordenadas do pixel.

B = valor azul do modelo RGB.

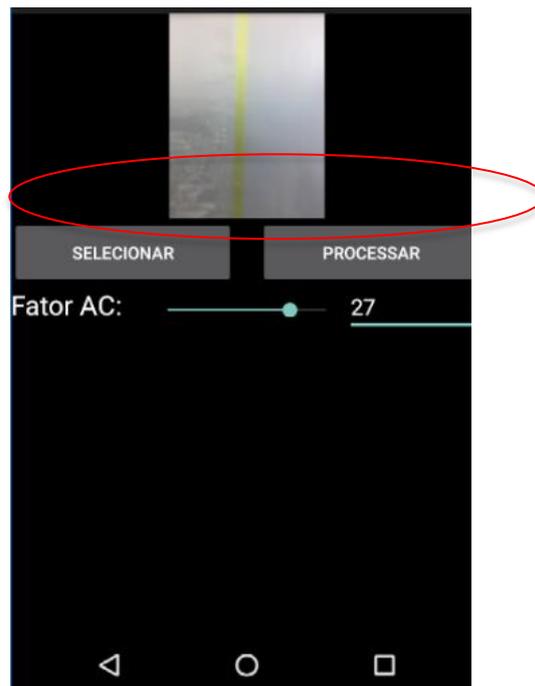
G = valor verde do modelo RGB.

R = valor vermelho do modelo RGB.

FA = fator de aceitação.

Na Figura 18 foi circulado de vermelho o local onde esse parâmetro pode ser alterado no aplicativo no momento de realização do teste.

Figura 18: Tela do aplicativo: em destaque, fator AC



Fonte: dados da pesquisa.

Para se obter as imagens dos microcircuitos, foi necessária a criação de uma interface para unir o celular e os microcircuitos, garantindo condições para que houvesse o mínimo possível de interferências de posicionamento da câmera, deficiência ou excesso de luz ambiente e foco no ponto de interesse da amostra. O próximo item trata dos detalhes de criação do protótipo.

4.3 Criação da interface de conexão celular microcircuito

Para garantir a obtenção das imagens das amostras de forma a evidenciar ao máximo suas características, foram percebidos vários fatores que influenciavam nos resultados dos testes. Muitos desses fatores estavam relacionados ao ambiente em que os testes foram executados e à iluminação da

amostra. Surgiu então a possibilidade de fabricação de um protótipo que pudesse minimizar fatores como iluminação, ângulos de câmeras, ajustes de posicionamento físico e lentes de aumento. Esse protótipo foi desenhado seguindo um modelo que se acoplasse em um celular específico, no caso um *Samsung Galaxy S7*. Sua fabricação contou com o uso de uma impressora tridimensional (3D), possibilitando vários ajustes até a obtenção do projeto ideal.

a) Iluminação

Para solucionar o problema de iluminação das amostras, foi utilizado um pequeno circuito eletrônico com um *light emitting diode* (LED) branco, cabos, chave liga e desliga e case para bateria de 3v. O uso do LED como iluminação indireta trouxe benefícios como controle de locais de incidência de luz, paralaxe e reflexo.

b) Ajustes de posicionamento físico e da lente de aumento

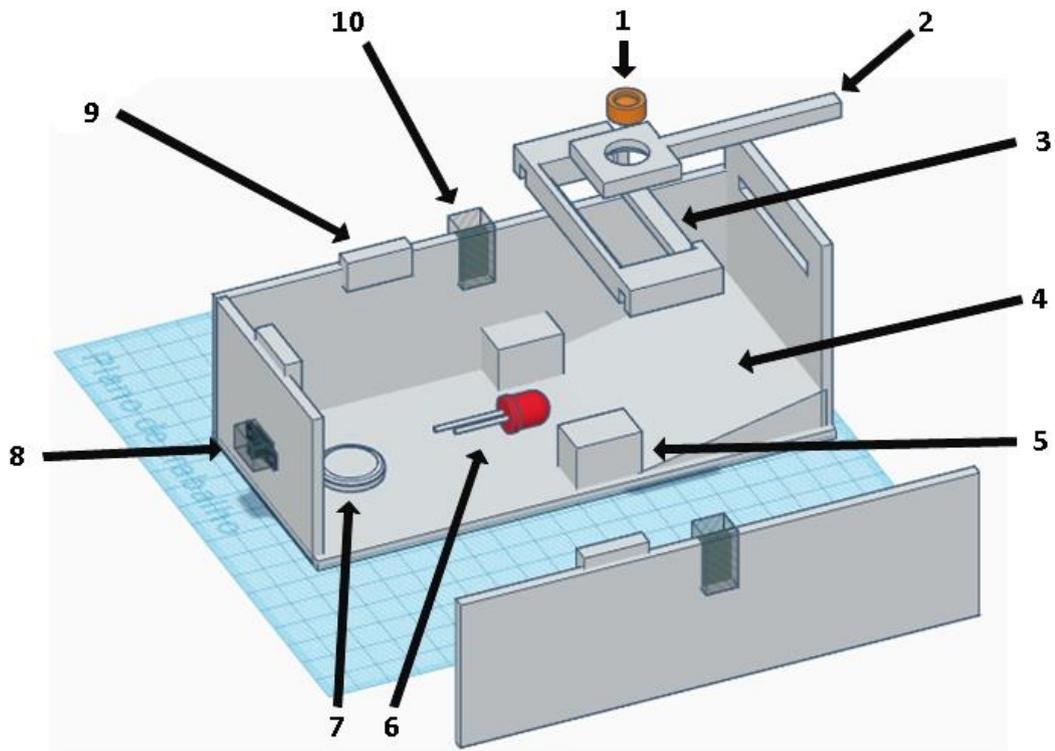
O posicionamento físico conta com ajustes de altura da placa usando parafusos. Esse ajuste é importante para obter um nível de detalhes do circuito, uma vez que seu tamanho reduzido dificulta a detecção de cores.

Existem também ajustes verticais e horizontais usando um suporte onde a lente é acoplada. Esse ajuste ajuda no posicionamento da câmera.

c) Detalhamento físico

O modelo 3D teve participação muito importante, pois auxiliou na produção de várias versões da peça. Vários testes foram necessários até ajustar todas as medidas em relação ao celular utilizado, à posição da parte elétrica e às dimensões da placa com o circuito. A Figura 19 detalha a versão que obteve melhor resultado nos testes com o circuito.

Figura 19: Detalhamento do projeto da interface 3D



Fonte: autor da tese.

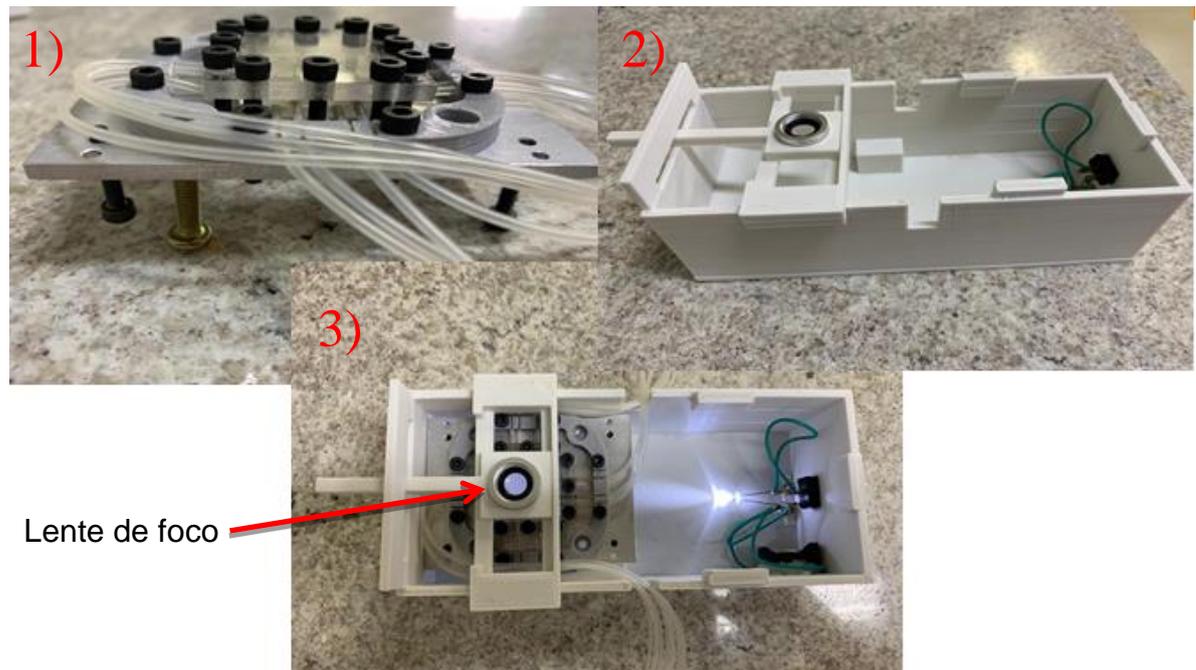
- 1 – Lente de focalização: auxilia na visibilização de objetos pequenos. Tipo convergente com dimensões: 15.8x6.5 mm; zoom 10X.
 - 2 – Ajuste lateral e suporte: além de receber a lente, possibilita ajustar sua posição para a direita e para a esquerda.
 - 3 – Suporte do ajuste lateral: além de receber o suporte lateral, possibilita ajustes verticais.
 - 4 – Rampa de difusão de luz: tem como objetivo redirecionar a luz para o microcircuito.
 - 5 – Suporte do microcircuito: nivela a rampa com a parte inferior da placa do microcircuito.
 - 6 – LED: tem o papel de iluminar o microcircuito.
 - a) Especificações: cor da iluminação - branco frio – 6.000 a 7.000 Kelvins;
 - b) lente - transparente;
 - c) ângulo de iluminação - 25°~30° graus;
 - d) tensão de entrada - de 3,2 a 3,4 Volts;
 - e) potência: De 18.000 a 20.000 MCD.
 - 7 – Bateria de 3v: gera energia para o LED.
 - 8 – Interruptor: liga e desliga a luz do LED.
 - 9 – Suporte para celular: mantém o celular no ângulo de ajuste da lente.
 - 10 – Canal: espaço onde as mangueiras do microcircuito serão passadas.
- Fonte: autor da tese.

Um fato importante que foi notado relaciona-se à cor do recipiente. Foram testadas várias cores. Nos testes em que o recipiente era colorido ou com cor escura, ao ligar o LED houve interferência na coloração do microcircuito. Por outro lado, ao testar com a impressão usando a cor branca, o problema de distorção das cores foi minimizado. Isso vai ao encontro da teoria do RGB, no qual o branco é tido como ausência de cores, e como o microcircuito também é

claro entende-se que a opção pela cor branca é a mais indicada para esse protótipo.

Após os testes de fabricação, o melhor resultado pode ser visibilizado na Figura 20 a parte 1 representa o modelo de microcircuito testado, a parte 2 é a interface entre o microcircuito e o celular e a parte 3 mostra o microcircuito já inserido na interface.

Figura 20: Imagens da interface fabricada em impressora 3D



Fonte: autor da tese.

O celular é apoiado em cima da interface, com a câmera sobre o orifício da lente de foco. É possível ajustar vertical e horizontalmente sua posição ajustando o foco da área de interesse do microcircuito.

4.4 Requisitos e módulo de análise de dados

Este item dedica-se a evidenciar a estrutura geral do sistema, passando pelas partes físicas e lógicas. Por essa perspectiva é possível entender o funcionamento geral do sistema e suas dependências.

4.4.1 Requisitos de *hardware*

Mesmo antes do início do desenvolvimento do aplicativo, era previsível que a tarefa de analisar imagens de alta resolução pixel a pixel exigiria grande poder de processamento. Visando encontrar a configuração mínima de *hardware* necessária ao bom desempenho do *software*, foram feitos testes em equipamentos de baixa e alta capacidade de processamento e versão de sistemas operacionais.

Tabela 3 - Análise de desempenho comparando dois celulares

Aparelho	
<i>Galaxy S7</i>	<i>Positivo First</i>
Processador <i>Quad Core</i> de 2,2 Ghz	Processador 1 Ghz <i>Dual-Core</i>
4 GB de memória RAM	1 GB de memória RAM
64 GB de memória interna	8 GB (4GB acessível pelo usuário)
<i>Display</i> 5,1 polegadas com 577 ppi	<i>Display</i> 5,1 polegadas
Câmera de 12 Megapixels	Câmera 3.1 megapixels
Sistema operacional	
Android 7.0	Android 5.1
Teste de velocidade	
2 minutos	21 minutos
Problemas encontrados	
Leve aquecimento do aparelho	Lentidão nas análises Travamentos Reinicialização do App Forte aquecimento do aparelho

Fonte: dados da pesquisa.

Na Tabela 3 evidencia-se o fenômeno previsto anteriormente. No início das simulações ainda utilizando o WEKA como apoio, percebeu-se que até mesmo nos computadores mais modernos trata-se de uma tarefa computacionalmente cara. Isso, porém, tende a diminuir com o passar do tempo, devido à renovação tecnológica dos aparelhos de celular, cada vez possuindo um poder computacional equiparável ao dos computadores^{92,93}.

Apesar da dificuldade imposta pela grande variedade de *hardwares* e sistemas operacionais presentes nos celulares atualmente, a tentativa de avaliar o desempenho de um aparelho com configuração baixa e outro mais atualmente tecnológico salienta possíveis comparações com outros modelos de aparelhos. O aplicativo foi instalado nos dois aparelhos e foram feitas várias simulações em cada aparelho. O grande fator negativo percebido foi a demora na apresentação

do resultado da análise. Enquanto o melhor aparelho demorou dois minutos, o pior demorou 21 minutos. Esse problema ainda é agravado pelos possíveis “travamentos” e finalização precoce do sistema, pois todo o poder de processamento do aparelho é voltado para a execução do aplicativo. Situações como aquecimento leve no aparelho melhor e muito elevado no aparelho pior também foram detectadas nos testes. Este estudo sugere que quanto mais próximo for a configuração do aparelho utilizado em relação ao “positivo *first*”, os resultados podem ser prejudicados pela falta de poder de processamento.

A opção por iniciar o desenvolvimento pelo sistema operacional Android se dá pela sua abrangência. Segundo a pesquisa realizada pelo International Data Corporation (IDC) *Worldwide Mobile Phone Tracker* em agosto de 2013, o sistema operacional Android respondia por 79,3% do mercado global, enquanto os aparelhos da *Apple*, com sistema *Iphone operating system* (iOs), representavam apenas 13,2%. A pesquisa baseou-se em encomendas e *market share* no segundo trimestre de 2013⁹².

4.2.2 Módulo de análise

Após as etapas de coleta e análise das amostras, os dados gerados foram armazenados em uma base de dados hospedada na nuvem usando um *web service*. *Web service* pode ser definido como um sistema de *software* projetado para suportar interações interoperáveis máquina a máquina sobre uma rede⁹⁴. Por meio dessa tecnologia é possível promover a interoperabilidade entre aplicações mesmo que tenham sido desenvolvidos em plataformas diferentes tornando-as compatíveis e permitindo que as aplicações enviem e recebam dados em formatos variados⁹⁴.

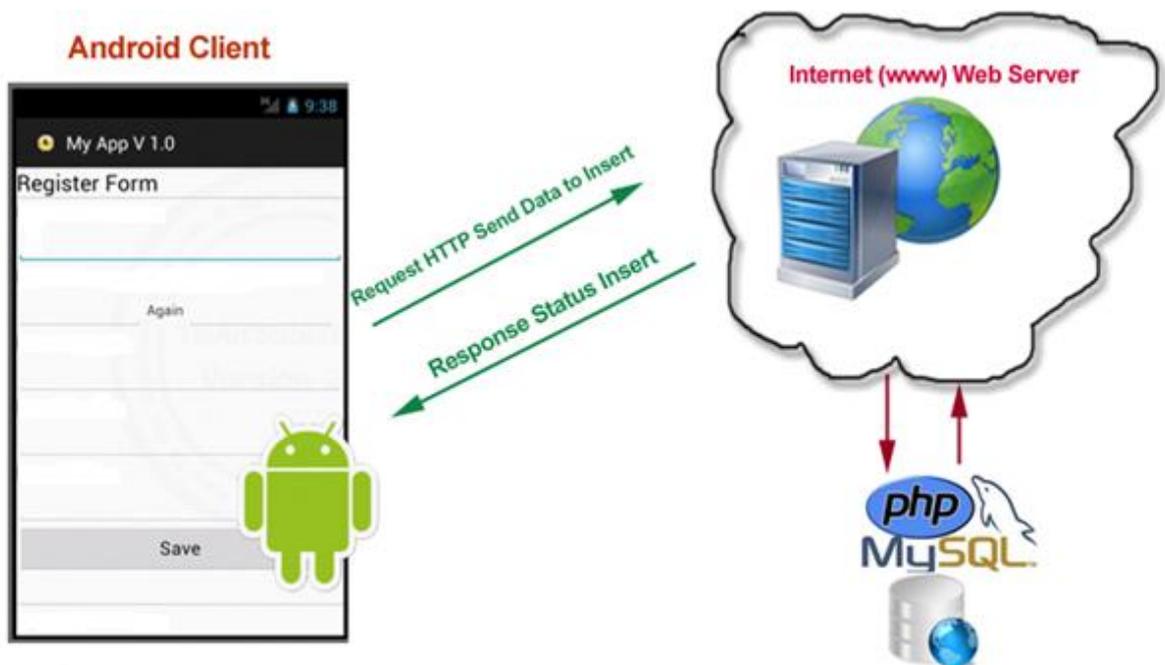
A necessidade da integração entre aplicações, a utilização unificada de processos encontrados em diferentes sistemas e escritos em diferentes linguagens são alguns exemplos de carências encontradas no cenário de desenvolvimento de *softwares* atualmente. No caso deste estudo, a utilização de *web service* se justifica pela necessidade de integração entre a linguagem utilizada no desenvolvimento do aplicativo responsável para avaliar as imagens das amostras e o armazenamento dos dados em um banco de dados. Posteriormente, esses dados ainda serão utilizados pelo módulo de análise

gerencial, criando consultas que alimentarão gráficos para facilitar a análise das informações.

Existem muitos modelos de integração de dados usando várias tecnologias de *web services*. Neste trabalho foi utilizado um *web service* desenvolvido especialmente para o formato de dados utilizados pelo aplicativo usando a linguagem *hypertext preprocessor* (PHP). O objetivo principal foi receber os dados do aplicativo (Android), tratá-los e armazená-los em uma base de dados PHP.

O aplicativo envia uma solicitação *hypertext transfer protocol* (HTTP) (*http request* – requisição de atividade a ser executada pelo *web service*) de inserção de dados por meio de um *uniform resource locator* (URL) para o *web service*. O URL processa os dados e retorna um *response status*, indicando se a solicitação foi aceita ou não e o motivo. Se aceita, a tarefa é executada e os dados são armazenados no banco de dados (*data base*) MySQL⁹⁵. Um esquema de funcionamento de um *web service* nos formatos utilizados neste trabalho é ilustrado na Figura 21.

Figura 21: Esquema de funcionamento de um web service MySQL



Fonte: autor da tese.

Os dados a serem armazenados foram modelados visando o controle das informações de forma parecida com os dados gerados pelo IBGE. Após consulta ao *site*, foi percebido que dados como faixa etária, cidade, estado e sexo são as variáveis mais utilizadas nas estatísticas, sendo também os dados que são disponibilizados de forma pública⁹⁶. Além desses registros, foi necessária a criação de mais quatro campos: *login* (identificação do usuário para acessar o aplicativo); senha (credencial de acesso visando garantir a integridade dos dados do aplicativo); percentual de amarelo (cálculo da quantidade de amarelo presente na imagem); dispersão (medida de distância do valor médio da cor). Mais detalhes dos dados podem ser vistos na Tabela 4. A coluna “enviado para DB *WEB*” indica se o campo será enviado para o banco de dados na *WEB*, porém por força de garantia de privacidade do usuário. Sendo assim, somente os dados referentes a modelos estatísticos serão enviados ao banco de dados para futuras análises.

Tabela 4 - Campos utilizados no protótipo

Nome do campo	Tipo	Enviado para DB <i>WEB</i>
Nome	Texto	Sim
Senha	Alfanumérico	Não
Data de nascimento	Data	Sim
Cidade	Texto	Sim
Estado	Texto	Sim
Sexo	Texto	Sim
Percentual de amarelo	Números	Sim
Dispersão	Números	Sim

Fonte: dados da pesquisa.

A falta de conectividade com a internet não impede o aplicativo de fazer a análise. O banco de dados citado primeiramente é armazenado localmente no celular do usuário, usando uma tecnologia chamada SQLite. Trata-se de um banco de dados simples de usar e operar multiplataforma, flexível e independente de plataforma⁹⁷. Após o registro feito pelo usuário, se a conexão com a internet estiver disponível, os dados são sincronizados na *WEB*, se não, os dados ficam armazenados até que o usuário tenha acesso à internet e faça uma nova operação, sincronizando os dados com o banco na *WEB*.

Visando à transparência no que diz respeito à privacidade dos dados do usuário, existe no aplicativo um botão com os “termos de uso”. Esse

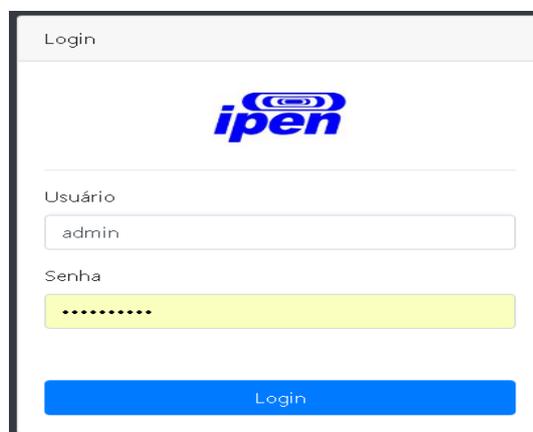
documento contém as informações referentes à utilização dos dados, garantindo a confidencialidade dos participantes dos testes e as regras de seu uso.

O módulo de análise de dados relaciona-se aos conceitos de sistemas de apoio à tomada de decisão (SAD) e inteligência de negócios (BI), visto que o processo de mudança tecnológica é o resultado do esforço das empresas em investir em atividades de pesquisa e desenvolvimento e na incorporação posterior dos resultados em novos processos, produtos e formas organizacionais⁹⁸. A análise das características presentes num conjunto de dados permite a descoberta de padrões e tendências que podem fornecer informações valiosas que ajudem a compreender o processo que gera os dados⁶⁵.

O termo BI está relacionado ao processo de obtenção, organização, análise, compartilhamento e monitoramento de informações e tem o objetivo de dar suporte à gestão de negócios. SAD e BI, a partir de dados do ambiente organizacional, seja interno e/ou externo, os transformam em informações na forma de relatórios, gráficos, tabela e indicadores, permitindo a análise e diagnóstico do ambiente e dos processos e proporcionando aos gestores condições de antecipar o futuro e reduzir riscos e incertezas na tomada de decisão⁹⁸.

As semelhanças são facilmente percebidas pelas telas do sistema e pela forma como as informações são apresentadas para o usuário do sistema. A tela inicial do sistema exige a credencial de um usuário para garantir a privacidade dos dados Figura 22.

Figura 22: Tela de login do módulo de análise de dados

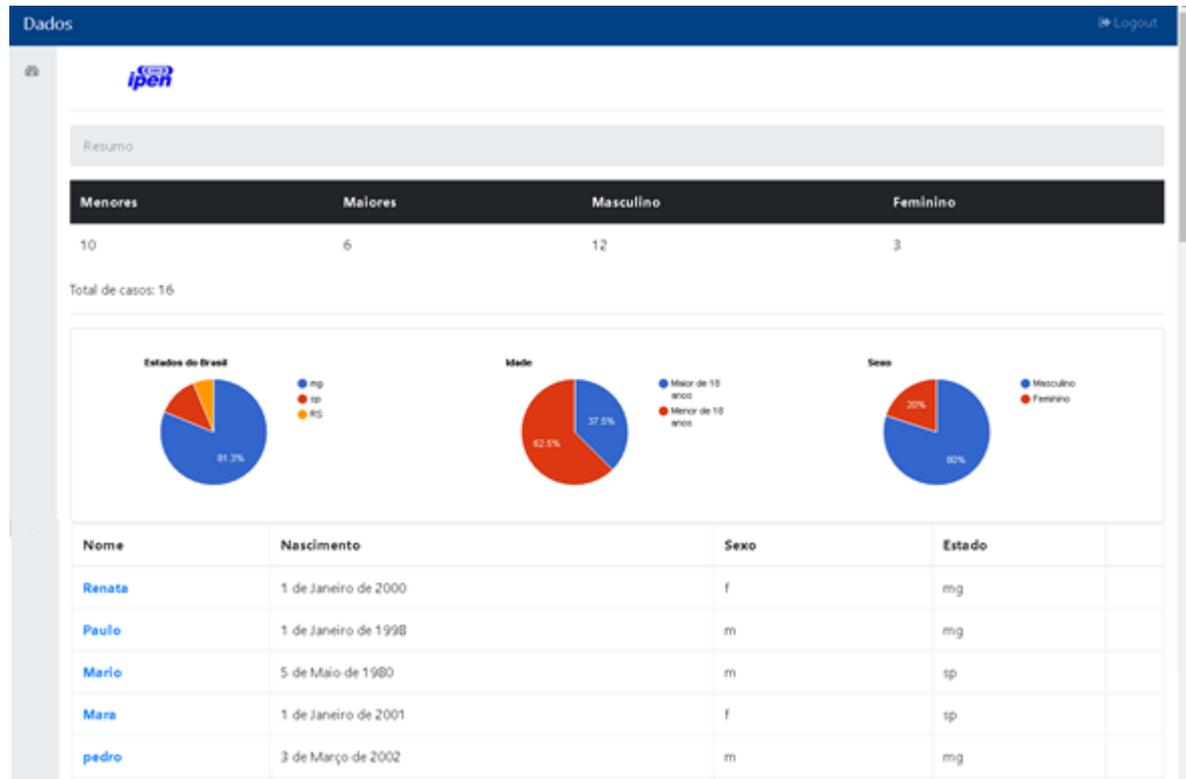


A imagem mostra a interface de login de um sistema. No topo, há o título "Login". Abaixo dele, o logotipo "ipen" em azul. Seguem dois campos de entrada: "Usuário" com o texto "admin" e "Senha" com pontos para ocultar o conteúdo. Um botão azul "Login" está na base da interface.

Fonte: autor da tese.

Se as credenciais forem aceitas, a *dashboard* do sistema será apresentada. Nela é possível a visibilização dos dados de forma agrupada por idade, sexo e estado de residência, como ilustra a Figura 23.

Figura 23: Tela dashboard do administrador dos dados



Fonte: autor da tese.

Os gráficos facilitam a avaliação quantitativa dos dados, evidenciando padrões de ocorrências dos registros. Essa característica está diretamente relacionada ao BI, melhorando a qualidade da informação a ser entregue ao gestor dos dados.

Existe ainda a possibilidade de visibilização dos dados específicos de um registro qualquer, como pode ser verificado na Figura 24.

Figura 24: Detalhes de registros específicos



The screenshot shows a web interface with a dark blue header labeled 'Dados'. Below the header is a table with a dark header and a light body. The table has six columns: 'Nome', 'Nascimento', 'Cidade', 'Estado', 'Sexo', and 'Perc. Amarelo'. The data row contains the following values: 'Renata', '1 de Janeiro de 2000', 'Belo Horizonte', 'mg', 'f', and '7'. To the left of the table is a vertical sidebar with a search icon and a profile picture icon.

Nome	Nascimento	Cidade	Estado	Sexo	Perc. Amarelo
Renata	1 de Janeiro de 2000	Belo Horizonte	mg	f	7

Fonte: autor da tese.

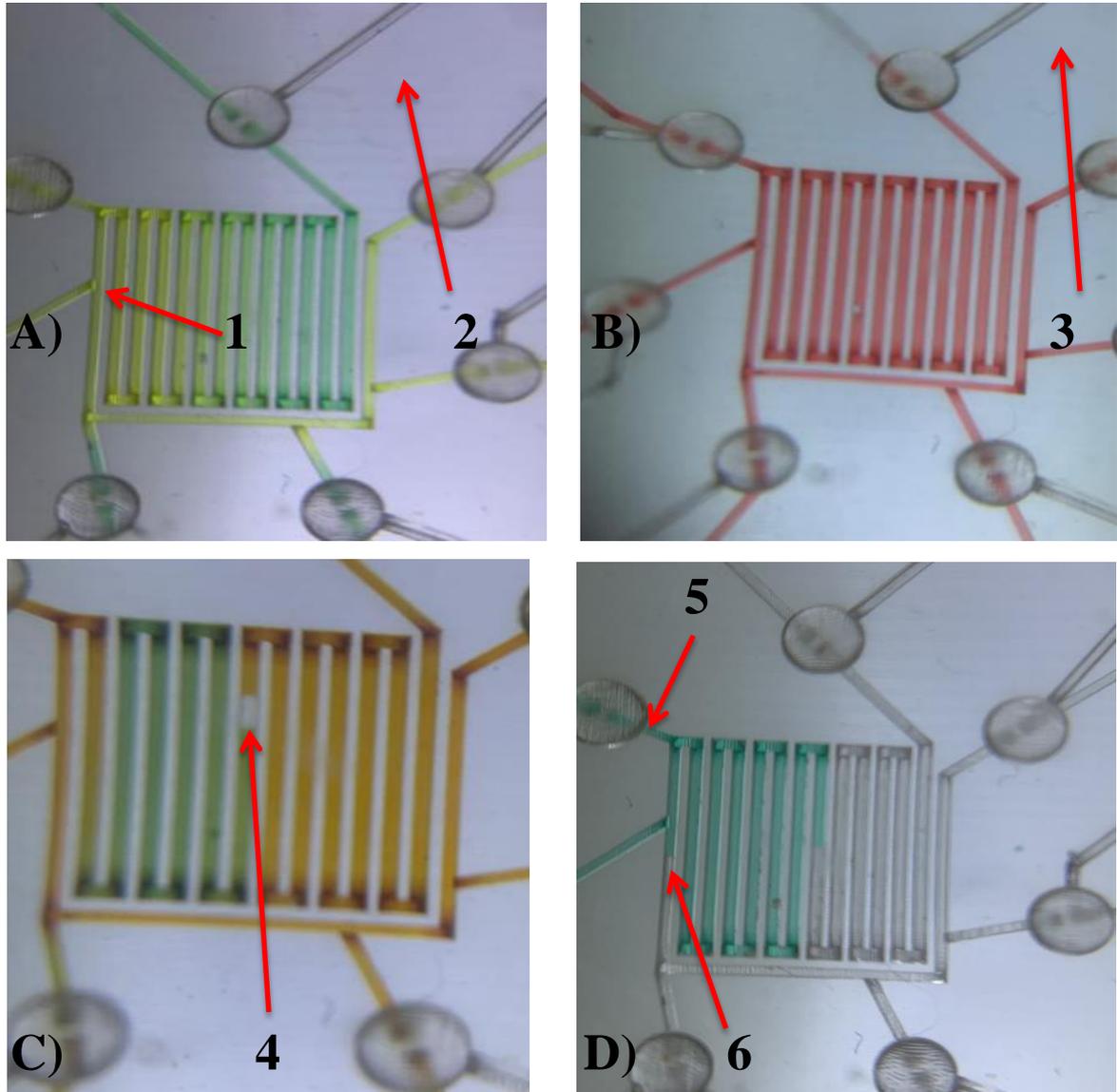
É importante ressaltar que o módulo de análise dos dados não é um aplicativo *mobile*, mas um sistema *web* multiplataforma. Isso significa que ele pode ser usado em computadores ou dispositivos móveis e, por possuir o recurso conhecido como responsividade, pode se ajustar aos diferentes tamanhos e configurações de telas de vários dispositivos.

5 PARTE EXPERIMENTAL

5.1 Testando a interface de conexão celular microcircuito

Como discorrido na seção 4.3 Criação da interface de conexão celular microcircuito, houve a necessidade de criação de uma interface entre o celular e os microcircuitos. Essa interface possibilitou a obtenção das imagens com alta resolução e com efeito macro dos microcircuitos. Várias simulações de coloração usando anilina foram testadas, visando verificar os ajustes necessários para a obtenção das fotos. Na Figura 25 percebe-se o nível de detalhamento que o protótipo consegue proporcionar.

Figura 25: Exemplos de imagens obtidas usando a interface de conexão celular microchip



Fonte: autor da tese.

Na parte “A” da Figura 25 foi injetada anilina nas cores verde e amarela por dois microcanais diferentes, indicados por 1 e 2 na figura. Ficam visíveis os pontos onde as cores se encontram e que o centro foi a área onde houve a maior concentração de mistura entre elas. Na parte “B” foi usada somente a cor vermelha injetando-se no microcanal 3. Percebeu-se que o microfluido conseguiu ultrapassar a barreira das microválvulas, criando possíveis pontos de vazamento. Na parte “C” foram utilizadas as cores marrom e verde, com um ponto sem

alguma das cores, indicado pelo número 4, sugerindo a possível existência de ar separando as duas cores. Já na parte “D” foi capturada a foto no momento em que o microfluido verde era bombeado para dentro do microcircuito. Injetando pelo microcanal 5, percebeu-se que o além do percurso programado, uma parte do microfluido tomou o caminho inverso do programado, indicado pelo número 6. No trabalho de HERRERA⁹⁹, o problema da microválvula foi resolvido usando um arduino que controlava a injeção de ar para evitar o “vazamento” dos microfluidos, enfatizando a importância desse dispositivo no controle do fluxo das amostras.

A próxima parte do trabalho relaciona-se às análises utilizando *softwares*, aplicativos e sistemas *desktops* e, inclusive, modelos de cores diferentes - RGB para o aplicativo móvel, como já citado, e *Hue-Saturation-Value* (HSV) para o sistema, em computadores pessoais.

5.2 Testes usando aplicativo *mobile* Android

O processo de testes e concepção da metodologia utilizada foi composto de três fases:

- a) Fase 1 – visão computacional: utilizou-se o *software* WEKA para apoiar os testes de viabilidade do desenvolvimento e estratégia de obtenção de cores. Foram testadas imagens de vários formatos preto e branco, visando uma possível detecção dos pixels, formando um gráfico que ressaltasse diferentes níveis de cores. Essa fase mostrou problemas relacionados aos requisitos de *hardware*, bem como modelagem dos dados e meios de obtenção dos cálculos matemáticos propostos.
- b) Fase 2 – teste com o aplicativo usando simulação de cores criadas em laboratório. Usou-se o aplicativo já em fase de detecção das cores amarelas e foram criadas diferentes tonalidades de amarelo em tubos de ensaio com anilina amarela. Nessa fase confirmou-se a viabilidade do uso do aplicativo para a detecção. Foram encontrados vários problemas referentes à linguagem, aos aparelhos, às câmeras, posicionamento do *flash*, luminosidade e limitações tecnológicas.
- c) Fase 3 – teste usando imagens cedidas pelo IPEN. Foi procedido o teste final, já com o aplicativo desenvolvendo todas as atividades propostas

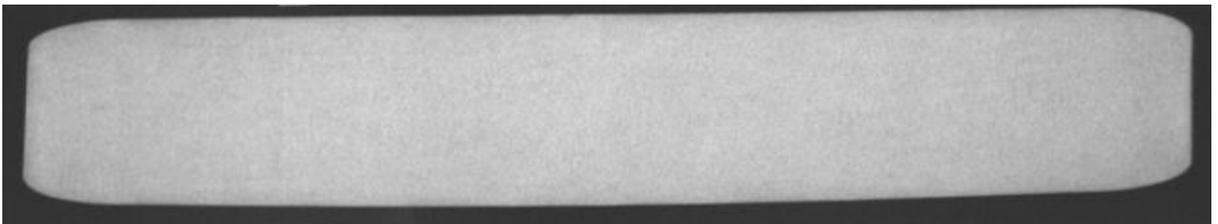
neste trabalho. Essa fase contou com amostras reais de um teste do tipo ELISA usando o mesmo modelo do microcircuito utilizado na interface 3D desenvolvida no trabalho. Foi possível analisar os dados e testar as funcionalidades mais avançadas do sistema, como armazenamento na nuvem, credenciais e testes do sistema *business intelligence*. Foi empregado o recipiente que alojou o microcircuito cedido pelo IPEN.

5.2.1 Ensaio inicial usando computador: fase 1

A fase 1 desempenhou papel primordial para o desenvolvimento deste trabalho, pois foi possível simular a parte principal da pesquisa relacionada à diferenciação de níveis de tons de cores em imagens digitais. Nessa parte foi possível também entender a dificuldade computacional da tarefa. Percebeu-se que as imagens digitais com resoluções muito elevadas ou com dimensões muito grandes custariam muito para serem processadas. Esse fato motivou o capítulo de testes de *hardware* dos celulares, visando entender as limitações da arquitetura *mobile*. Para avaliar se a teoria de captura do tons de cor seria viável, foi utilizado o *software* WEKA, que possui nativamente o recurso de plotagem de gráficos.

Usando o algoritmo e uma imagem-teste, foi possível obter uma matriz das cores de cada pixel, que foi utilizada no WEKA a fim de testar a visibilização gráfica dos níveis de cores. Para facilitar o teste, foi escolhida uma imagem com tons de preto e branco obtido pelos Raios-X de um elemento combustível utilizado no reator do IPEN. A amostra utilizada pode ser consultada na Figura 26.

Figura 26: Amostra teste preto e branco de um elemento combustível

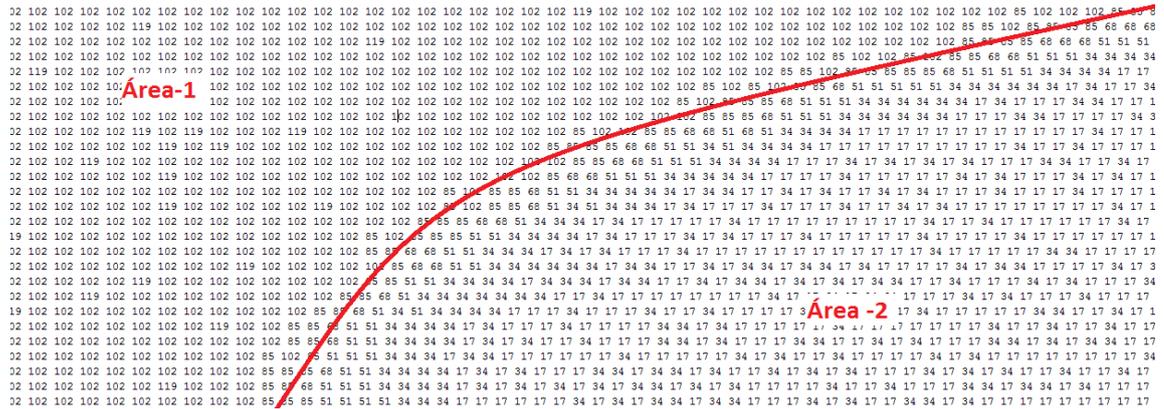


Fonte: autor da tese.

O algoritmo conseguiu mapear a imagem e diferenciar diferentes tons de cores conforme mostrado na Figura 27. Como para cada cor obtêm-se três

valores no formato RGB e nessa fase o teste foi feito com imagem com cores preta e branca, foi calculada a média dos valores RGB de cada pixel. O resultado foi um arquivo “.txt” com uma matriz que tinha uma topologia similar à da imagem utilizada no teste. Percebem-se claramente as diferenças das tonalidades das cores entre a área – 1 e a área – 2.

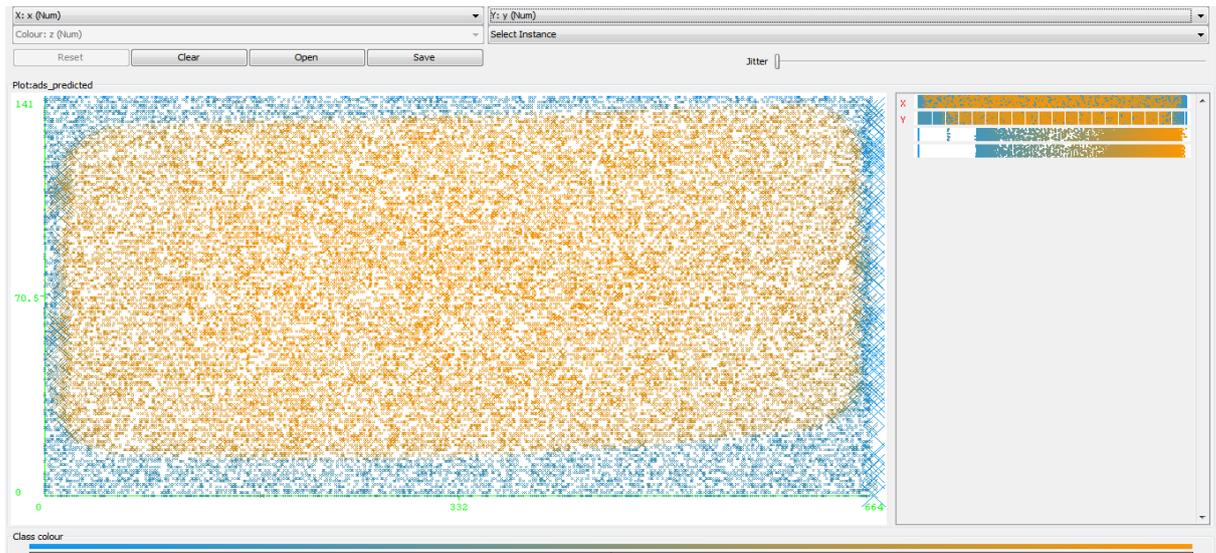
Figura 27: Captura de tons de cores evidenciando os níveis de cores



Fonte: autor da tese.

Esperava-se que após a aplicação dos dados no WEKA fosse possível perceber mais claramente o formato da imagem a partir das diferenças das cores. Assim, aplicando os dados no WEKA, foi gerada a Figura 28. A cor amarela foi utilizada para representar a cor com tons de cinza e a azul os tons mais próximos de preto. A imagem encontrada conseguiu diferenciar as cores, confirmando que a teoria vinculada ao algoritmo era válida.

Figura 28: Simulação da foto do elemento combustível usando WEKA



Fonte: autor da tese.

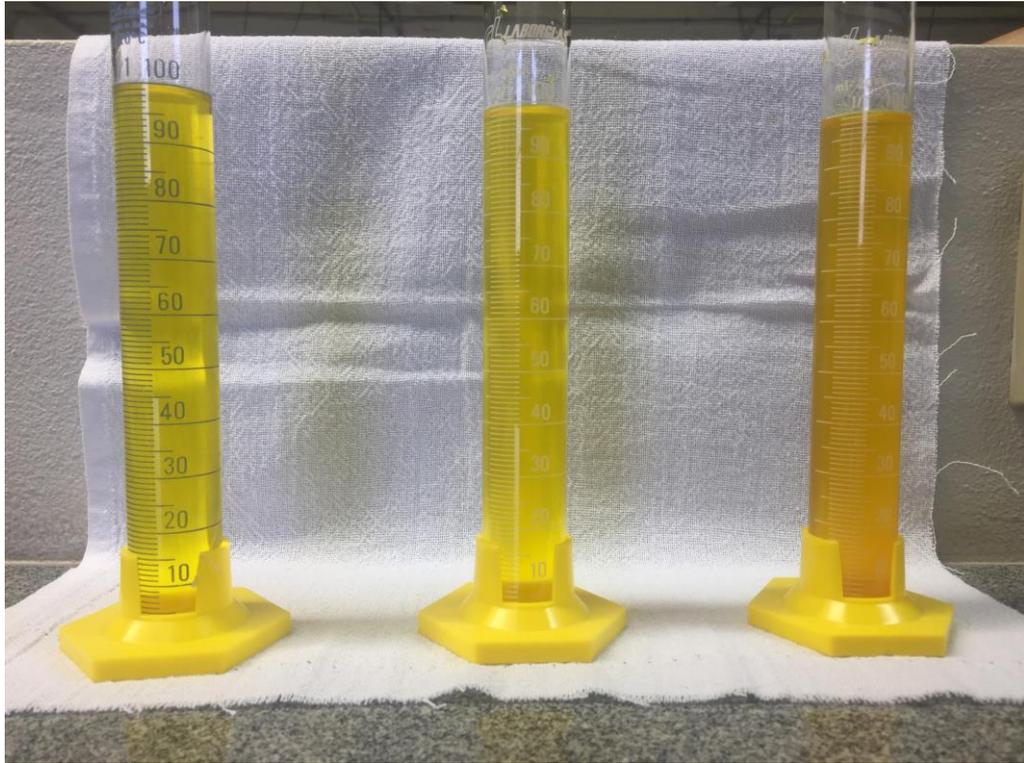
A próxima etapa consiste em simular os resultados usando dados mais próximos dos reais, especialmente empregando a cor amarela, que é o alvo deste trabalho, e também já usando um dispositivo móvel.

5.2.2 Ensaio em laboratório: fase 2

Para início de testes, foi feito um ensaio utilizando corantes para simular a detecção de cores. A amostra contou com a utilização de água destilada com o intuito de minimizar possíveis impurezas contidas na água misturada com anilina amarela.

Esse primeiro ensaio foi executado nas dependências do Laboratório da Faculdade de Medicina de Ipatinga-MG. Para a fabricação das amostras, foram utilizadas três concentrações diferentes de anilina, visando obter níveis de amarelo que pudessem ser analisados no *software*.

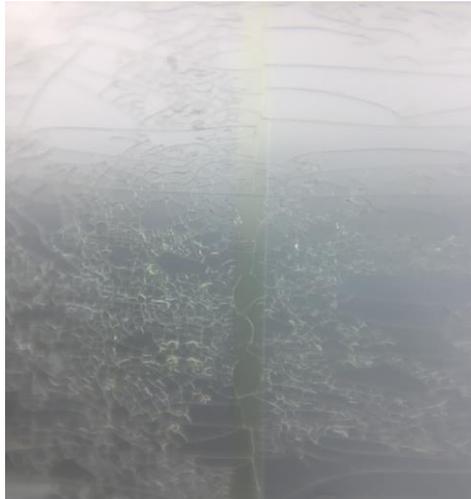
Figura 29: Teste de concentração de anilina amarela com diferentes diluições



Fonte: autor da tese.

A Figura 29 foi obtida após a mistura de anilina amarela com água destilada nas concentrações de 0,25% de anilina em relação a 100 mL de água, 0,5% e, por fim, 1%, respectivamente. Obtiveram-se imagens com tonalidades de cores diferentes, desde uma mais clara até uma mais escura. As amostras foram inseridas no microcircuito produzido pela equipe do IPEN. E logo após foram fotografadas para serem testadas no *software* analisador. Mesmo a tonalidade mais clara sendo visível a olho nu no tubo de ensaio, quando foi inserida a quantidade referente ao microcircuito, o qual utiliza uma unidade microfluídica, sua cor se tornou quase imperceptível, como comprova a Figura 30.

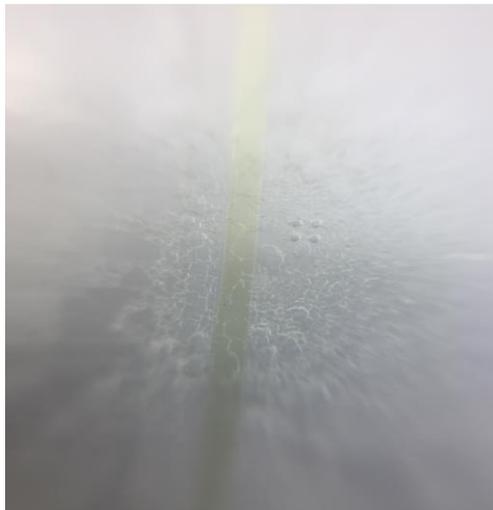
Figura 30: Fotografia da concentração de 0,25% de anilina em água destilada



Fonte: autor da tese.

Já na Figura 31 percebe-se com mais facilidade a cor amarela.

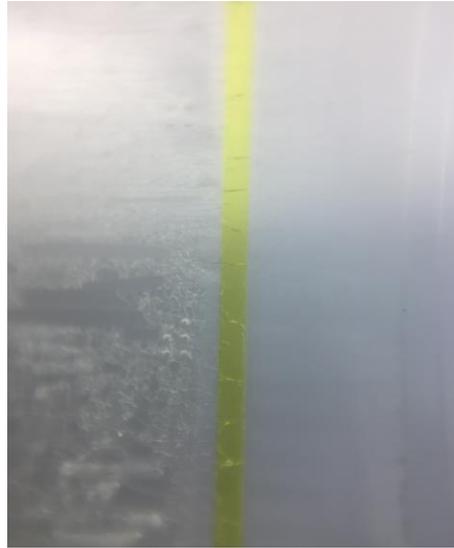
Figura 31: Fotografia da concentração de 0,50% de anilina em água destilada



Fonte: autor da tese.

Finalmente na Figura 32 nota-se a anilina de forma muito clara. É importante ressaltar que neste experimento não foi levada em conta a questão do ambiente de iluminação das amostras. Posteriormente isso foi constatado como um fator que pode influenciar no resultado devido à alteração das cores dos pixels. Em todas as imagens isso está claro, porém, na Figura 33, onde o amarelo é mais visível, visibiliza-se a alteração da cor amarela devido à falta de controle de iluminação do ambiente. Há diferença de luminosidade entre a parte superior e a inferior da imagem.

Figura 32: Fotografia da concentração de 1% de anilina em água destilada

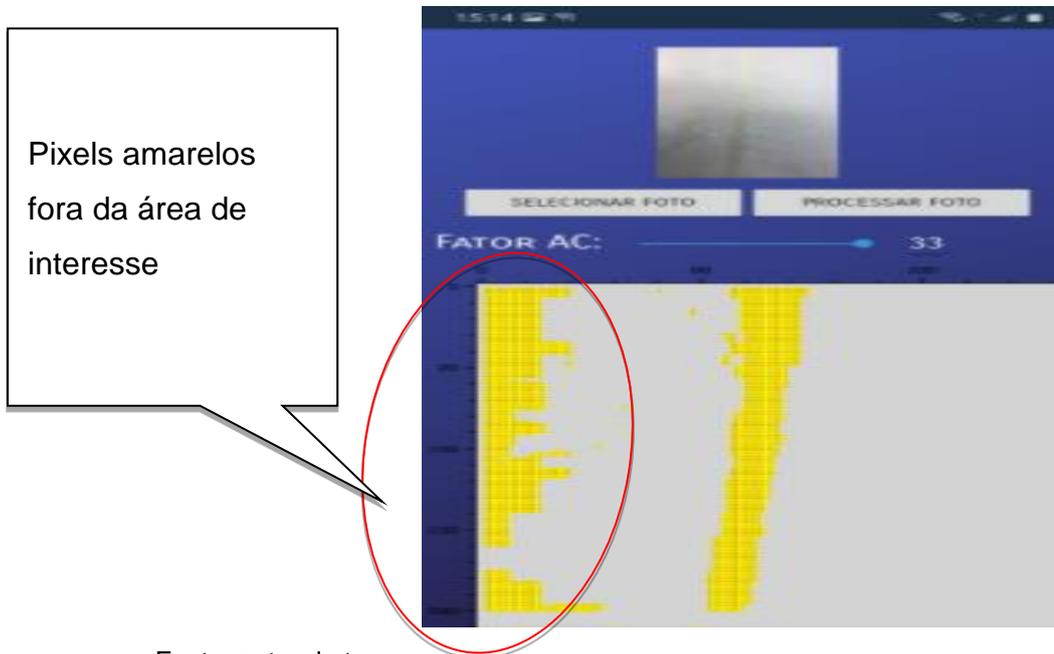


Fonte: autor da tese.

O próximo passo foi testar a foto obtida no *software* e então buscar avaliar a capacidade de detecção da cor amarela em partes específicas da imagem. Surgiu então a necessidade de se criar um fator que pudesse alterar a sensibilidade do *software* em relação à detecção do amarelo. O motivo é a grande variação dos valores de RGB possíveis que formam várias tonalidades de amarelo. Quanto maior o fator de aceitação, mais há possibilidade de detecção de cores com tonalidades saindo do amarelo e formando outras cores.

Analisando a primeira imagem (Figura 30), na qual a tonalidade de amarelo é mais clara, foi preciso ajustar o fator de aceitação para 33, o que resultou na captação não só da área com amarelo, mas também outras tonalidades de amarelo em seu lado esquerdo. Diminuindo o fator de aceitação, o *software* não conseguiu detectar algum pixel amarelo, ao passo que aumentando o fator de aceitação apareceram ainda mais pixels com tonalidades indesejadas.

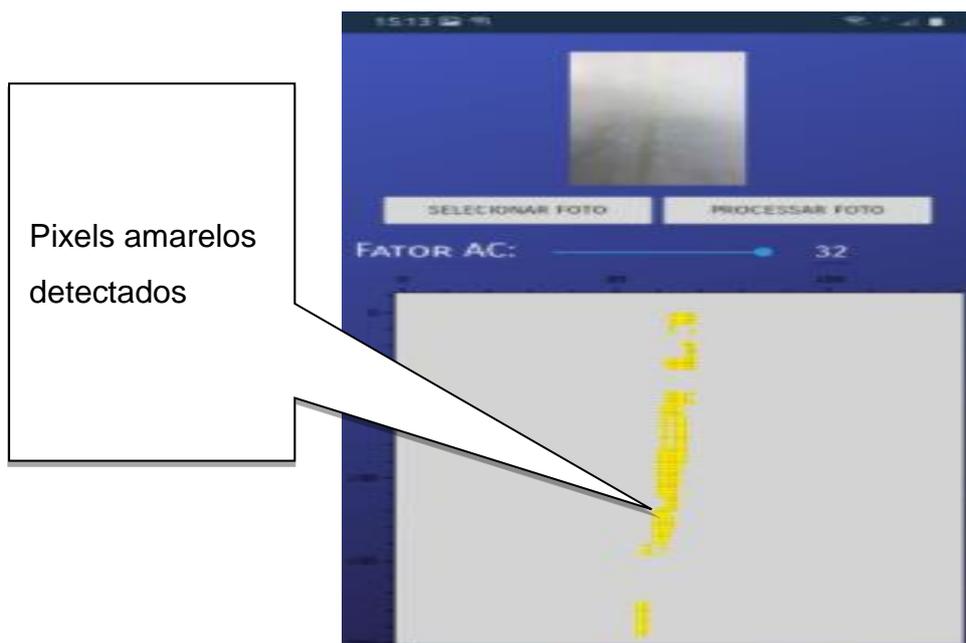
Figura 33: Resultado da amostra de 0,50% com fator de aceitação em 33



Fonte: autor da tese.

Visando diminuir as distorções nas análises, foi feito um teste com o fator de aceitação em 32. Todas as distorções foram suprimidas e a área de interesse foi detectada, como mostra a Figura 34.

Figura 34: Resultado da amostra de 0,50% com fator de aceitação em 32



Fonte: autor da tese.

O melhor resultado foi obtido na amostra que representa 1% de anilina e na qual o amarelo foi mais visível na Figura 35. Nesta análise, não houve pixels indesejados fora da área de interesse. O fator de aceitação pôde ser diminuído para 30, o que resultou na eliminação de distorções de amarelo fora da área de interesse.

Figura 35: Resultado da amostra de 1% com fator de aceitação em 30



Fonte: autor da tese.

Após os testes com corantes finalizados, o próximo ensaio usou uma amostra real com um modelo de microcircuito diferente. A abordagem será descrita no próximo subitem.

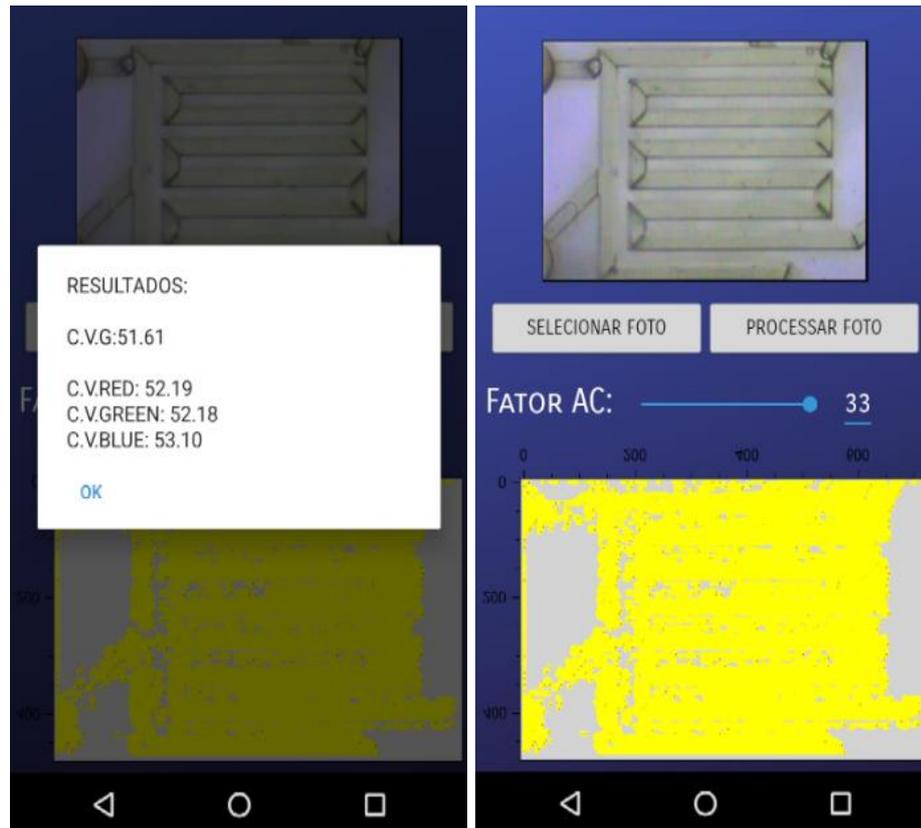
5.2.3 Ensaio utilizando amostras obtidas pelo microcircuito: fase 3

Avançando nos testes, foram utilizadas fotos obtidas em um ensaio do tipo ELISA realizado no laboratório do IPEN. A ideia ao executar esse tipo de teste foi aproximar a simulação das amostras mais reais a serem adotadas futuramente. Esse ensaio contou com um protótipo de microcircuito fabricado no IPEN e desenvolvido por HERRERA⁹⁹. O exame visou identificar veneno de cobra pelo método ELISA.

Executado o teste, as amostras foram fotografadas e as imagens foram testadas no aplicativo. O objetivo foi testar a capacidade do *software* de detectar a

cor amarela das imagens, conforme a Figura 36. O coeficiente de variação geral foi 51.61 (esse coeficiente está relacionado a variação da cor de toda a imagem) e o coeficiente RGB (é o coeficiente de variação de cada canal, RGB) encontrado foi, respectivamente, de 52.19, 52.18 e 53.10.

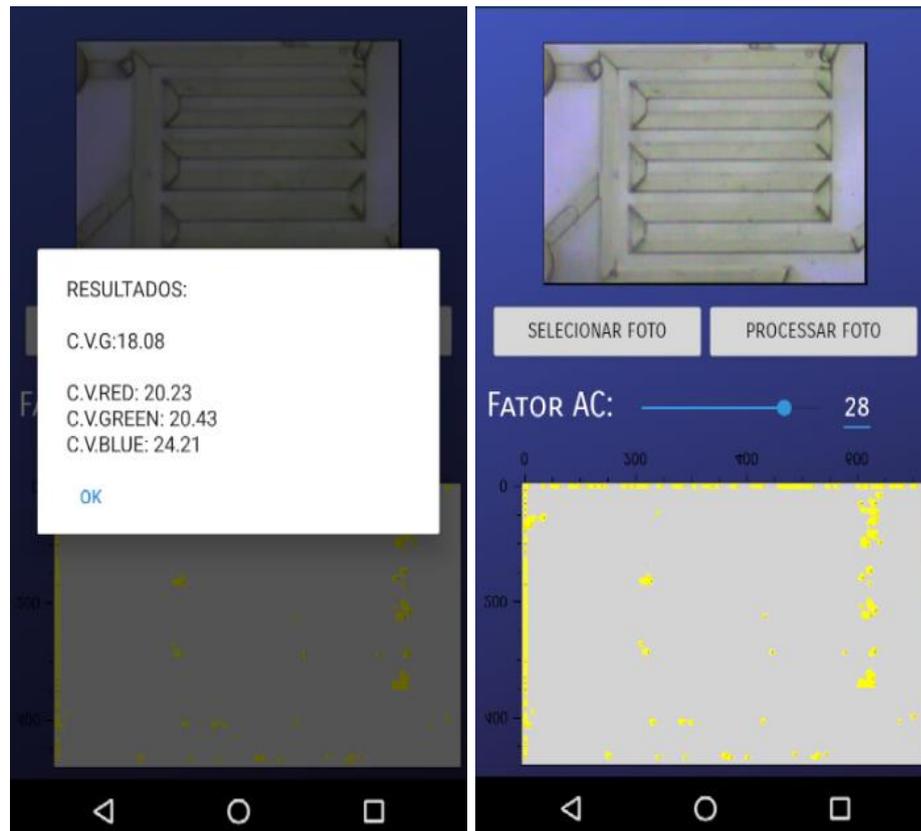
Figura 36: Teste utilizando fator 34



Fonte: autor da tese.

No segundo teste foi aplicado o fator de aceitação 28, detectando-se pontos amarelos, porém em poucas áreas. Isso sugere que houve aceitação abaixo da necessária para esse teste Figura 37. O coeficiente de variação geral foi 51.61 e o coeficiente RGB encontrado foi, respectivamente, de 18.08, 20.23 e 24.21. Existiu diminuição da variação tanto geral quanto de cada canal no segundo teste.

Figura 37: Teste utilizando fator 28



Fonte: autor da tese.

Os resultados do primeiro ensaio revelaram a possibilidade de ajustar o nível desejado de amarelo a ser buscado. E que quanto mais visível for a cor procurada, no caso, o amarelo, melhor será o desempenho. Assim, para experimentos cuja cor passe por um processo de escurecimento, saindo de uma tonalidade mais clara até chegar ao código RGB final da cor, existe um ponto em que o sistema começa a detectar a mudança do pixel.

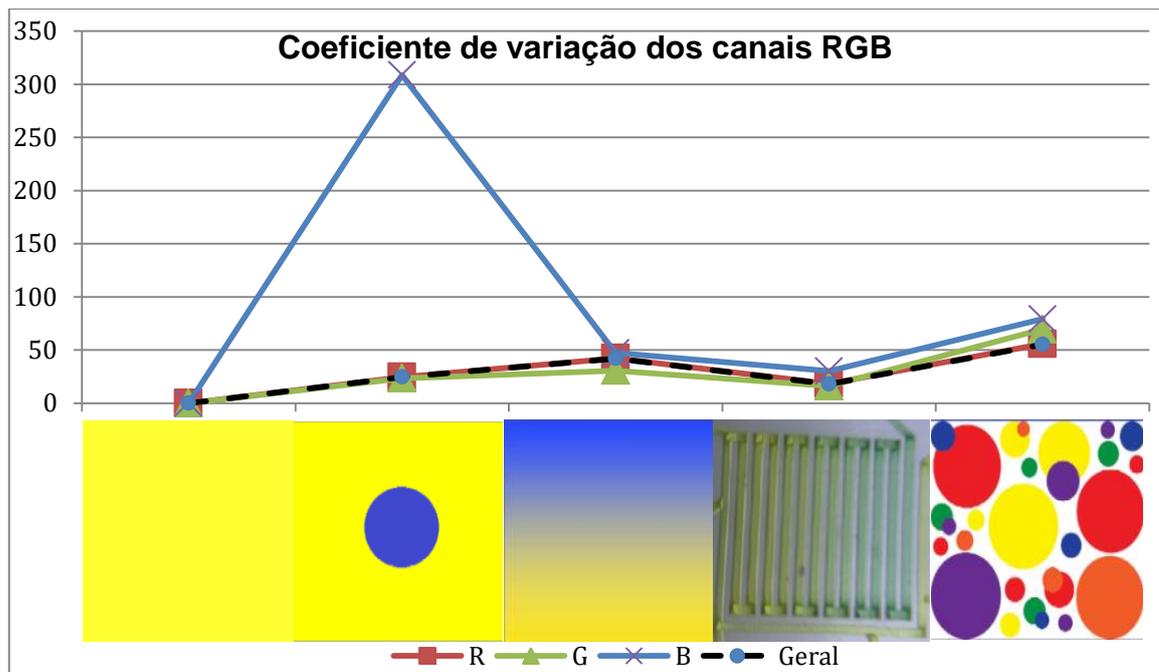
A próxima fase teve como base o uso dos dados reais, já utilizando o repositório final (o *microchip*) e o processo de mudança de cor oficial (teste ELISA).

5.2.4 Comportamento do coeficiente de variação

O coeficiente de variação é uma medida que busca auxiliar de forma estatística como a cor pode variar nas amostras utilizadas. Quantificar a variação de uma cor pode ser mais um meio de análise dos líquidos coloridos presentes nos microcircuitos. Para entender o comportamento dessa medida, foram

utilizadas algumas imagens com variações de cores, com o intuito de medir como cada cor primária do sistema RGB se comporta. Como as cores amarela e azul tem representatividade mais elevada nos testes executados anteriormente, foram as cores preferenciais no teste da Figura 38.

Figura 38: Teste do coeficiente de variação RGB



Fonte: autor da tese.

Na primeira simulação, uma imagem totalmente amarela foi submetida ao teste. O algoritmo não localizou variação em qualquer das variáveis RGB, sugerindo a homogeneidade da cor em toda a amostra. Já no segundo teste, foi inserida uma bola azul no centro da mesma imagem testada anteriormente. O algoritmo conseguiu detectar grande variação do canal “B” da imagem testada, sugerindo que o algoritmo consegue facilmente detectar a cor sólida azul. O teste com imagem *dégradé* de azul e amarelo demonstrou variação das três cores, alertando que houve composição das cores RGB para formarem o efeito de troca de cores das extremidades superior e inferior da imagem.

Testando em um *microchip* com tons de amarelo e verde, constatou-se pequena variação das cores, porém mais uma vez a cor azul foi a com maior variação. Finalmente, em um teste de várias bolas coloridas, a variação aumentou para as três cores, sendo que as cores azul e verde obtiveram mais variação. O

coeficiente “geral” se comportou de forma muito similar ao coeficiente “red” em ambos os casos.

5.3 Mapeamento de cores em microcircuitos

O uso de microcircuitos em várias áreas da ciência vem avançando, principalmente os microfluídicos. Em vários trabalhos os circuitos têm como objetivo promover a mistura de líquidos dentro dos canais do microcircuito. Esse aspecto é importante, inclusive para este trabalho, afinal, o resultado do experimento depende da mudança de cor, que por sua vez precisa de melhor mistura das amostras com os reagentes-base do teste ELISA. É necessário buscar uma forma de mapear o que ocorre dentro do microcircuito. Essa parte da pesquisa pode se mostrar importante não só para os exames ELISA, mas para qualquer mistura que precise acontecer dentro de um microcircuito. Pode ser útil também como forma de avaliar o *design* do microcircuito. A estratégia sugerida para mapear esses líquidos dentro do microcircuito é a identificação das cores de cada líquido.

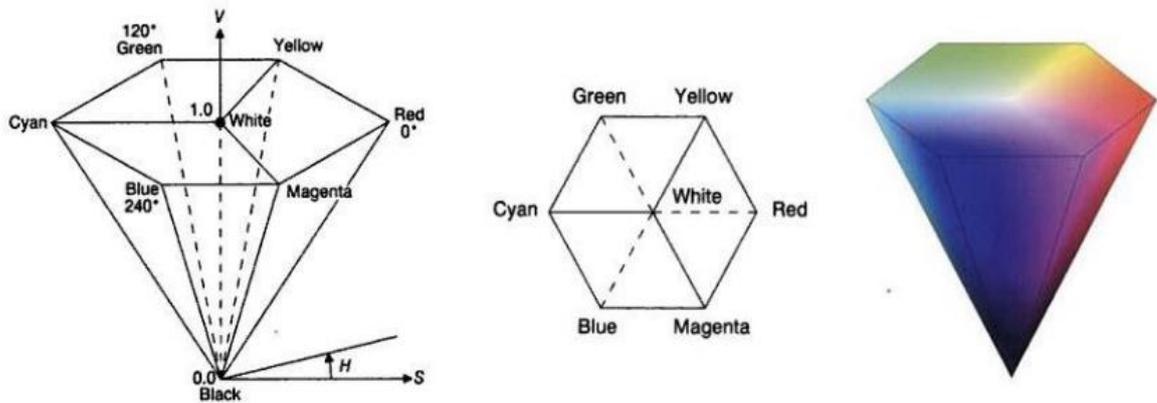
5.2.1 Mapeamento usando computador

Diferentemente da estratégia anterior, via aplicativo, esta parte do trabalho propõe um *software* desenvolvido em uma das linguagens que mais avançam na área de inteligência artificial, conhecida como *python*. Essa linguagem possui grande biblioteca de recursos voltados para várias análises matemáticas e computacionais. Uma das bibliotecas que se mostraram aplicáveis na detecção das cores utiliza um modelo de cores conhecido como HSV.

O valor no modelo HSV relaciona-se à luminância da cor, que só possui informações de brilho de uma imagem. Seu valor varia de zero (preto) a um (branco) ao longo do eixo V do cone, onde se encontra a escala de cinza. Esse modelo baseia-se na ideia de matiz ou H de *hue*, saturação ou S de *saturation* e valor ou brilho, sendo V de *value*. A matiz é relacionada à cor em si e define a tonalidade dominante de uma área, diferenciando as cores. A saturação mede a pureza da cor da área. O sistema HSV usa um molde em formato de cone

hexagonal. A parte mais alta do cone corresponde a $V = 1$, sendo as cores com mais brilho¹⁰⁰. Vejam-se tais características na Figura 39.

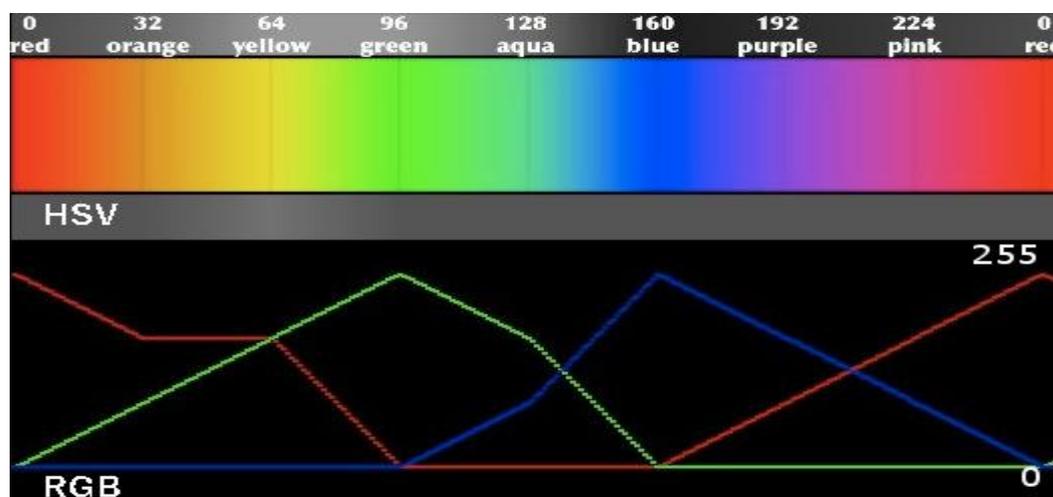
Figura 39: Representação gráfica do modelo HSV de cores



Fonte: ALVES, D.R. (2010)¹⁰⁰.

Uma das diferenças entre os dois modelos de cores é a forma de encontrar uma cor específica. Como visto anteriormente, o modelo RGB não possui intervalo de valores para referenciar cores, mas sim a combinação dos canais RGB. Isso dificulta a maneira de procurar por diferentes tonalidades de cores. Já o modelo HSV consegue, por meio de um intervalo, localizar tonalidades de cores. A **Figura 40**, fruto de um projeto conhecido como *FastLed*, exemplifica a diferença entre os dois modelos.

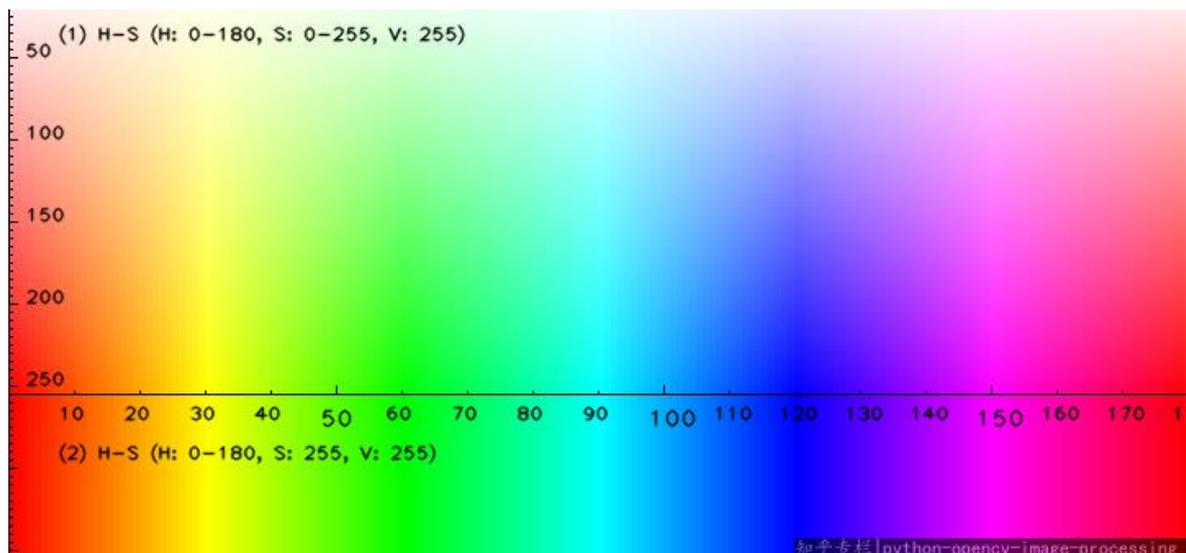
Figura 40: Comparativo dos modelos HSV e RGB



Fonte: KRIEGSMAN, A. (2014)¹⁰¹.

A biblioteca *OpenCV* do *Python* possui funcionalidade que consegue resolver o problema de segmentação de cores de maneira bastante fácil, usando a tabela de referência Figura 41. Distinguem-se cores usando-se intervalos do modelo HSV. Por esse esquema, usando um valor inicial e final de referência, é possível encontrar todas as tonalidades de uma cor específica.

Figura 41: Tabela de cores do modelo HSV - OpenCv

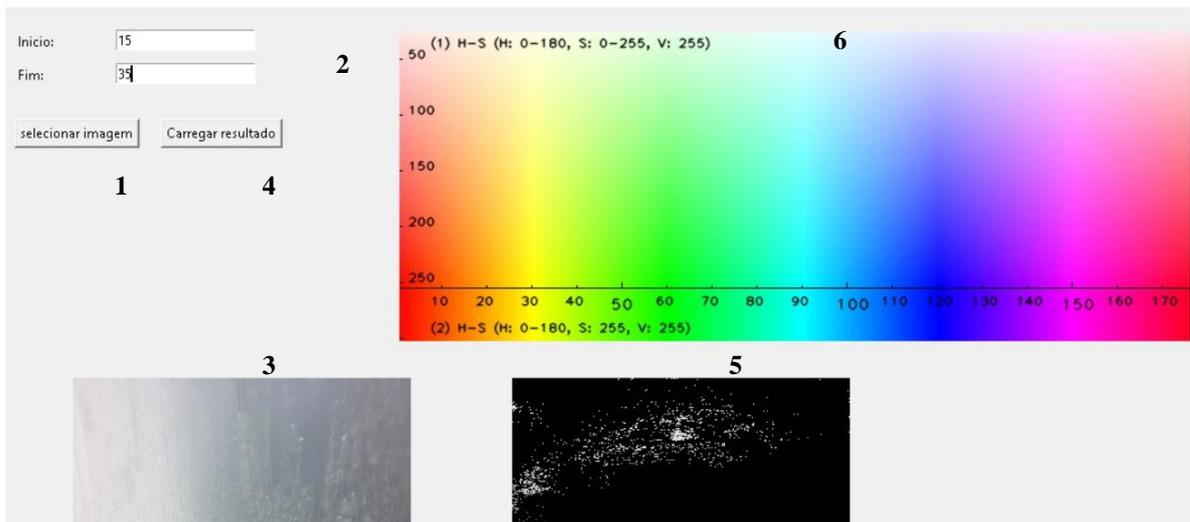


Fonte: PYTHON-OPENCV (2017)¹⁰².

O modelo RGB leva vantagem quando é necessário descobrir ou verificar a distância entre os canais de cores, o que esclarece que a escolha do modelo depende mais do objetivo a ser alcançado que de uma simples escolha¹⁰⁰.

Foi desenvolvido um sistema *desktop* em *Python* que usa como base o sistema HSV para o mapeamento de cores específicas. O *software* importa uma imagem que serve de amostra usando um botão “selecionar imagem”, item 1 da Figura 42. E o usuário indica os valores iniciais e finais, item 2, que se referem ao intervalo da cor procurada. A imagem importada é exibida no canto inferior esquerdo, item 3. O resultado é exibido quando o botão “carregar resultado” é acionado, item 4. O resultado é exibido, expondo somente a cor desejada, como no item 5. Os valores de referência são baseados no modelo de cor, item 6.

Figura 42: Teste usando água destilada e 0,25% de anilina amarela

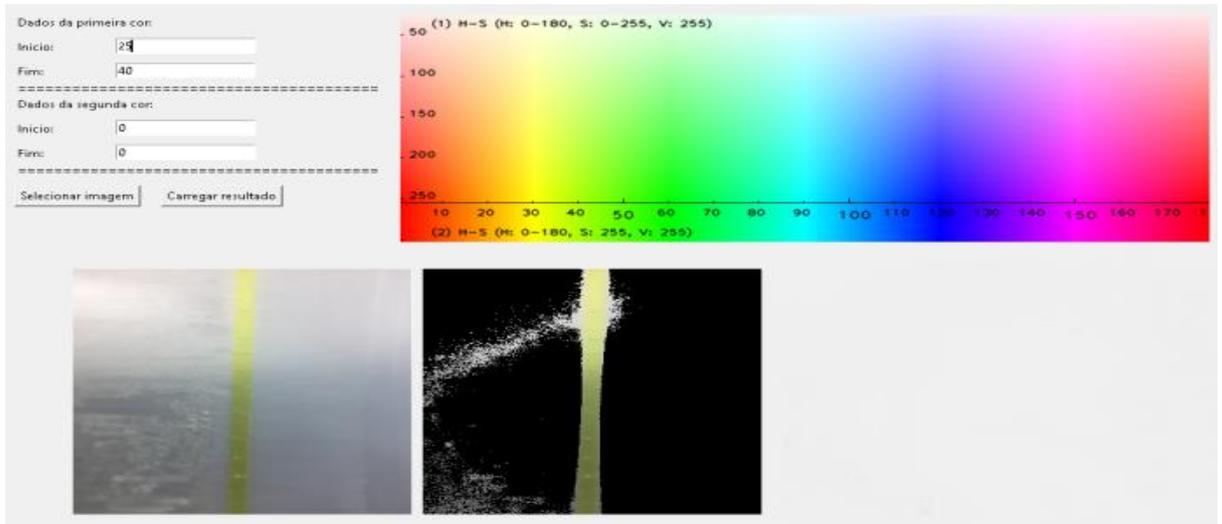


Fonte: autor da tese.

Na Figura 42 utilizou-se intervalo de 25 a 40, que corresponde à cor amarela na tabela HSV. A amostra é a mesma dos testes com o aplicativo, usando anilina amarela, com concentração de 0,25%. O *software* não conseguiu detectar a cor amarela, somente pixels espalhados foram exibidos na imagem resultante da análise.

Por outro lado, a Figura 43 adotou a amostra com 1% de anilina amarela. O *software* foi capaz de detectar as partes amarelas da imagem de acordo com os parâmetros.

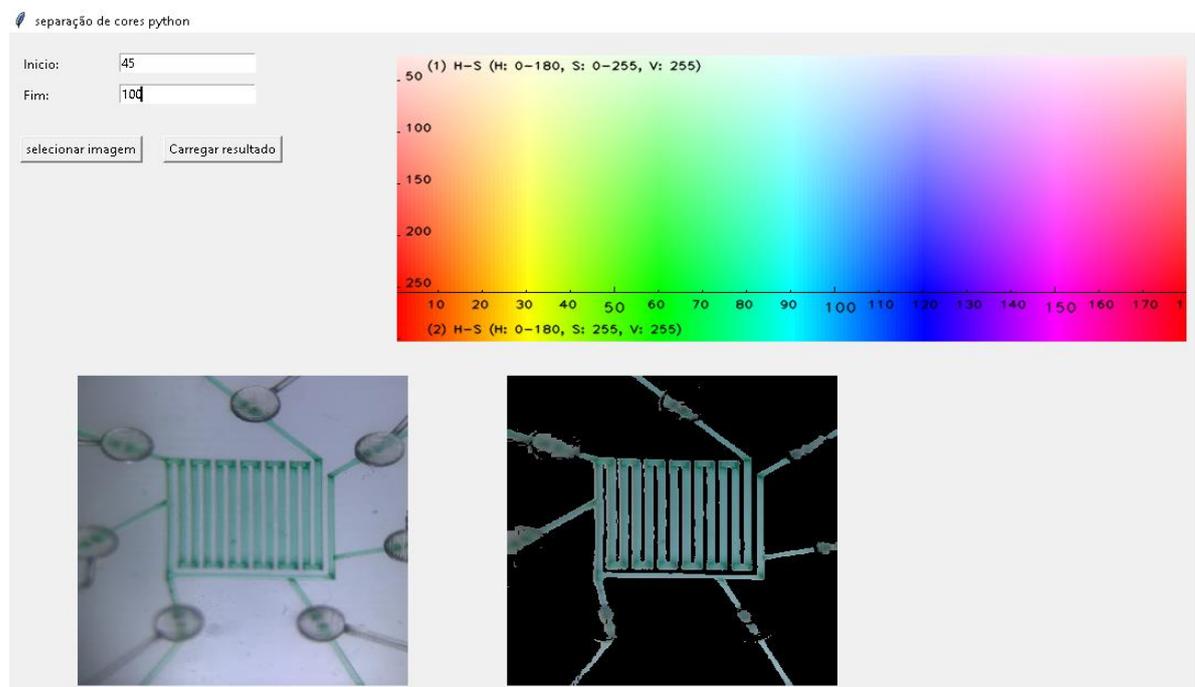
Figura 43: Teste usando água destilada e 1% de anilina amarela



Fonte: autor da tese.

O próximo teste foi feito em um circuito mais complexo, também cedido pelo IPEN. Dessa vez, buscou-se identificar a cor verde como demonstrado na Figura 44 .

Figura 44: Teste em microcircuito IPEN buscando cor verde

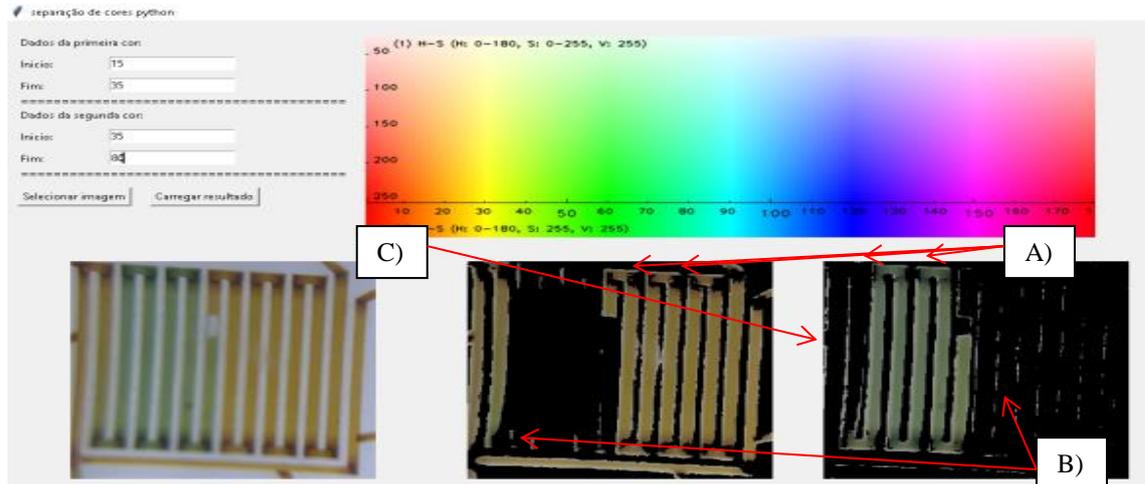


Fonte: autor da tese.

O próximo teste foi realizado em um circuito mais complexo, fornecido pelo IPEN. Desta vez, buscou-se identificar cores verde e marrom, como mostra a

Figura 45. Nesse caso, com duas cores, o *software* exibe duas imagens com as respectivas cores separadamente. O objetivo é compreender o comportamento de dois microfluidos dentro do microcircuito.

Figura 45: Teste usando microcircuito e anilina marrom e verde

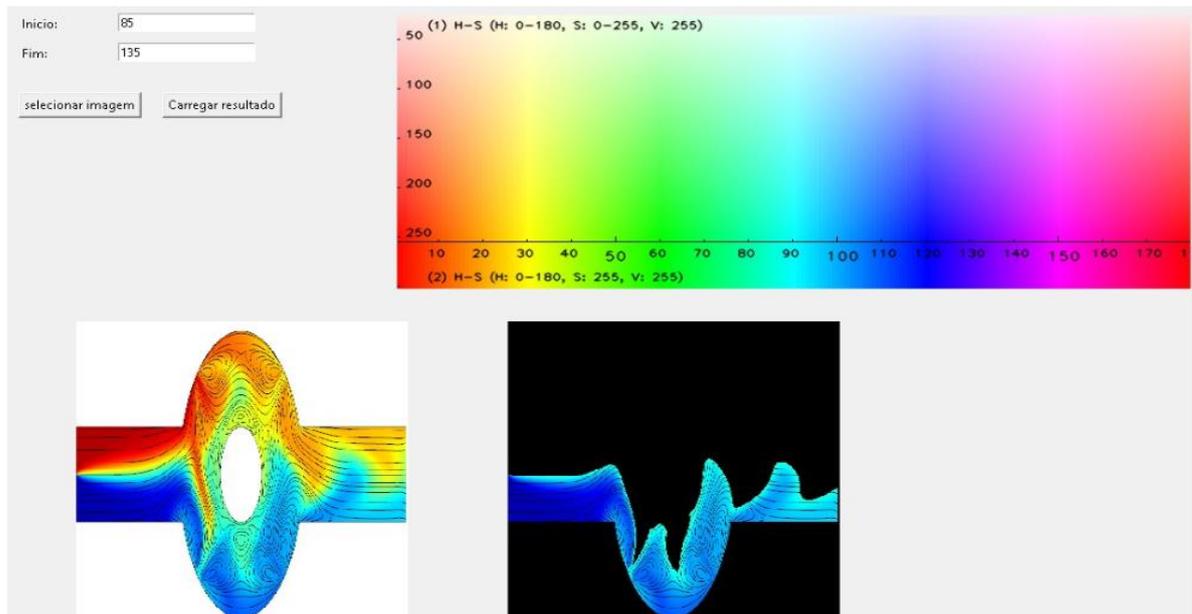


Fonte: autor da tese.

O *software* conseguiu mapear o comportamento das cores dentro do microcircuito. Destacando cada cor, captou-se um acúmulo de cores mais escuras nas extremidades de cada canal do microcircuito, visíveis na parte “A” da Figura 46. Isso pode mostrar uma dificuldade para o microfluido seguir um caminho com ângulos agudos. Em vários pontos nas duas imagens resultantes existem pequenos traços de amarelo em que a quantidade de verde é maior, visíveis na parte “B” da Figura 45. O mesmo ocorre para áreas verdes onde o amarelo é predominante. Na parte “C” é o ponto onde as cores se misturam e onde se nota a cor verde nas laterais do canal, significando dificuldade de mistura nesses pontos do microcircuito.

Em uma simulação com várias tonalidades de cores, o *software* conseguiu identificar as variações da cor azul usando parâmetros de início e fim entre 85 e 135. E foi capaz de detectar várias tonalidades de azul na amostra Figura 46.

Figura 46: Simulação de tonalidades de cores



Fonte: autor da tese.

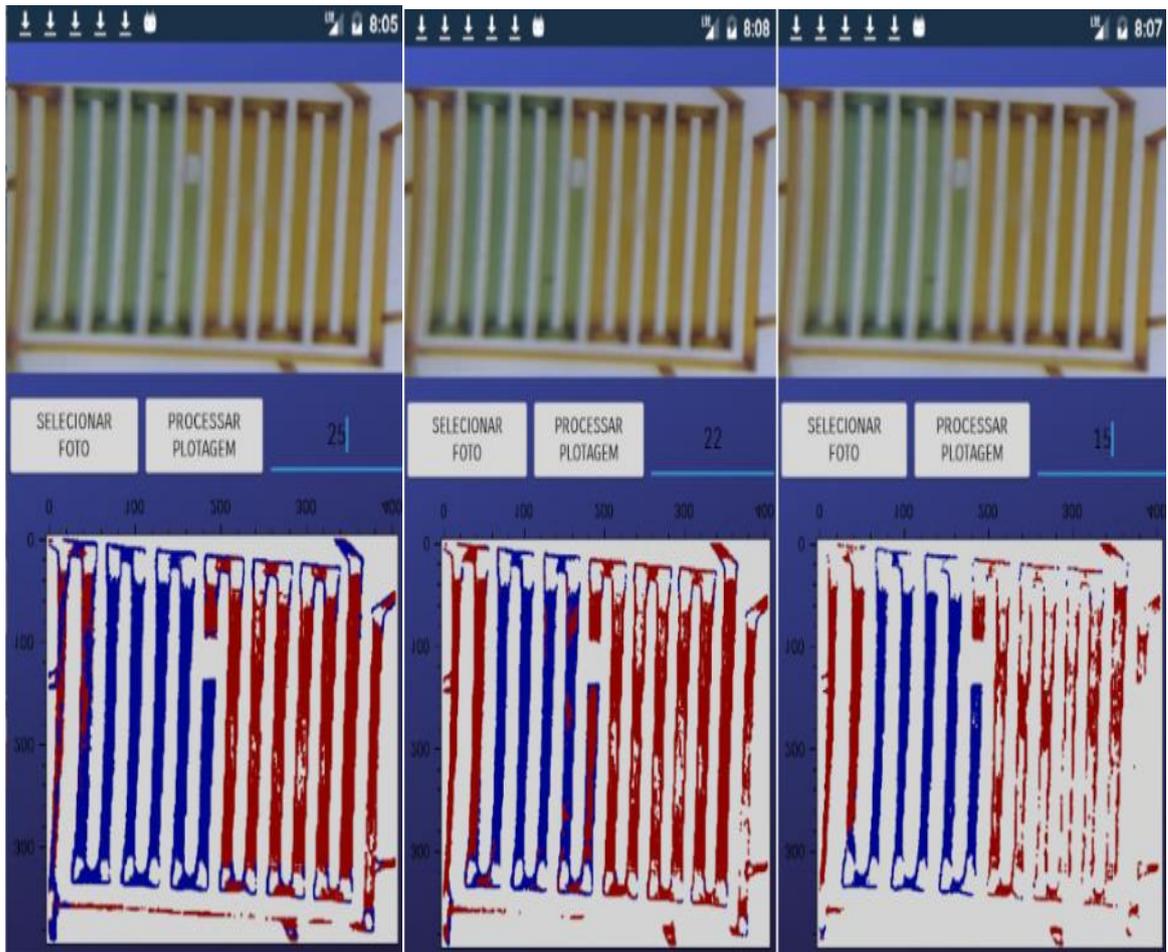
Uma característica importante está relacionada à velocidade do processamento do teste via *software*. Existia a preocupação desde o início deste trabalho relacionada a uma possível dificuldade de processamento, principalmente em relação a desempenho. Nos testes com esse *software* essa premissa foi vencida, todos os resultados foram processados quase que instantaneamente.

5.3.1 Módulo de mapeamento usando aplicativo

Essa etapa de testes contou com o uso de um módulo específico com a finalidade de mapeamento de duas cores. Escolhem-se as cores que serão mapeadas clicando na parte da imagem onde a cor desejada se encontra. O App mapeia onde na imagem essas cores estão presentes, destacando tais locais.

Após a seleção da imagem, o usuário pode clicar na área desejada e o App faz a captura da cor Figura 47. Até duas cores podem ser mapeadas por análise.

Figura 47: Módulo de captura e mapeamento de microcircuitos

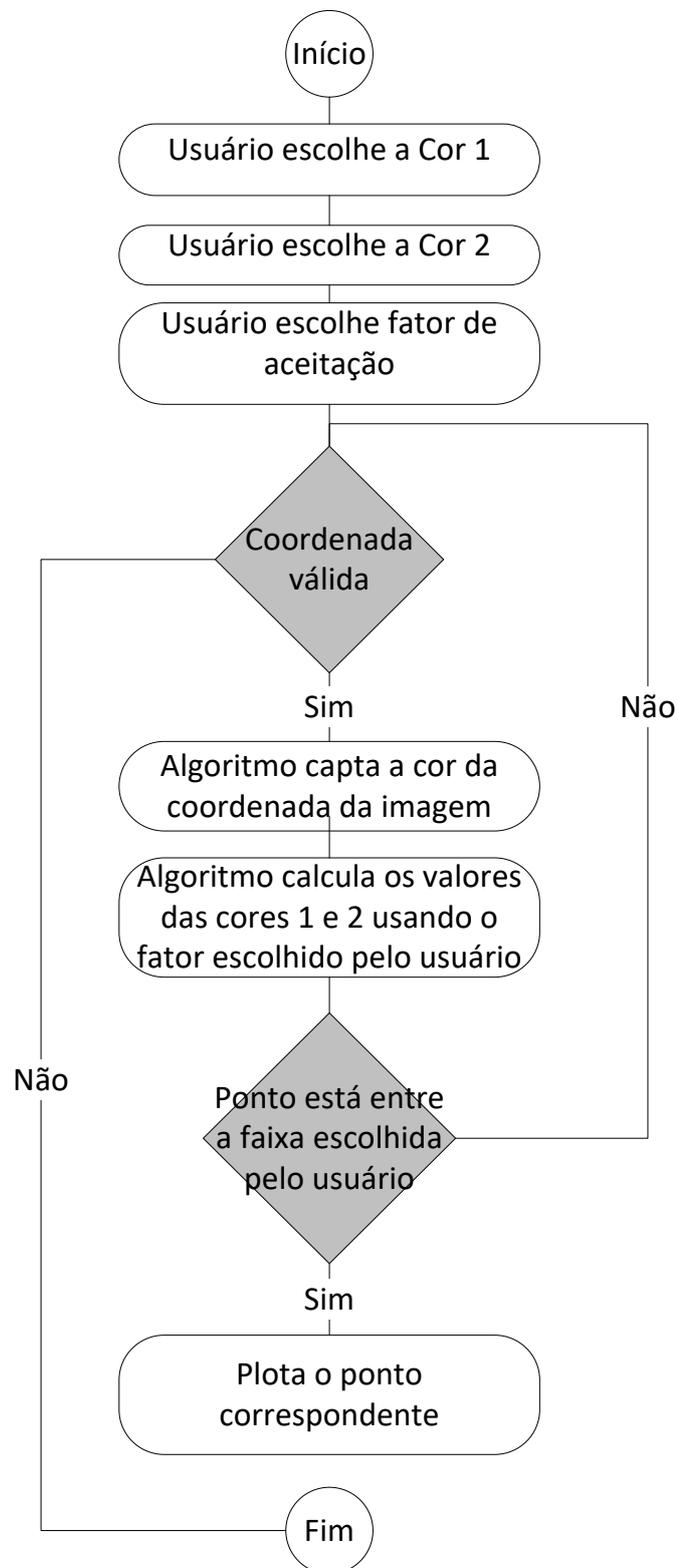


Fonte: autor da tese.

O algoritmo utilizado segue os mesmos parâmetros do teste anterior para a busca de cores, sendo possível ajustar o fator de aceitação visando ajustar as cores a serem pesquisadas na imagem.

A diferença aqui é que se torna necessário que o fator de aceitação seja calculado para cada uma das cores do RGB. Ou seja, foi preciso aceitar uma variação maior e menor de cada cor selecionada pelo usuário. O fluxo pode ser analisado na Figura 48.

Figura 48: Fluxo de processos do algoritmo para identificar pontos de interesse na imagem



Fonte: autor da tese.

Em um vídeo gravado pelo IPEN, um controle de fluxo de cores em um microcircuito pode ser percebido de forma muito clara. Buscando identificar o comportamento do aplicativo em um quadro desse vídeo, foi extraída a área onde as cores estavam presentes, visto na Figura 49 para servirem de amostra para o próximo teste.

Figura 49: Análise usando as cores vermelha e azul do quadro do vídeo do IPEN



Fonte: autor da tese.

Esse resultado acabou se mostrando mais propício devido à extração da imagem ter como alvo somente a área onde as cores estavam presentes. Isso significa que não houve interferência de outras áreas, principalmente ao redor do canal onde o líquido passa, que acabam interferindo na análise. Outro aspecto torna esse teste importante, o aumento do fator de aceitação sem distorção do resultado. Assim, o algoritmo consegue capturar as cores de forma muito

adequada e a área ao redor dos canais realmente interfere no resultado final da análise.

5.3.2 Detecção de cores usando Inteligência artificial

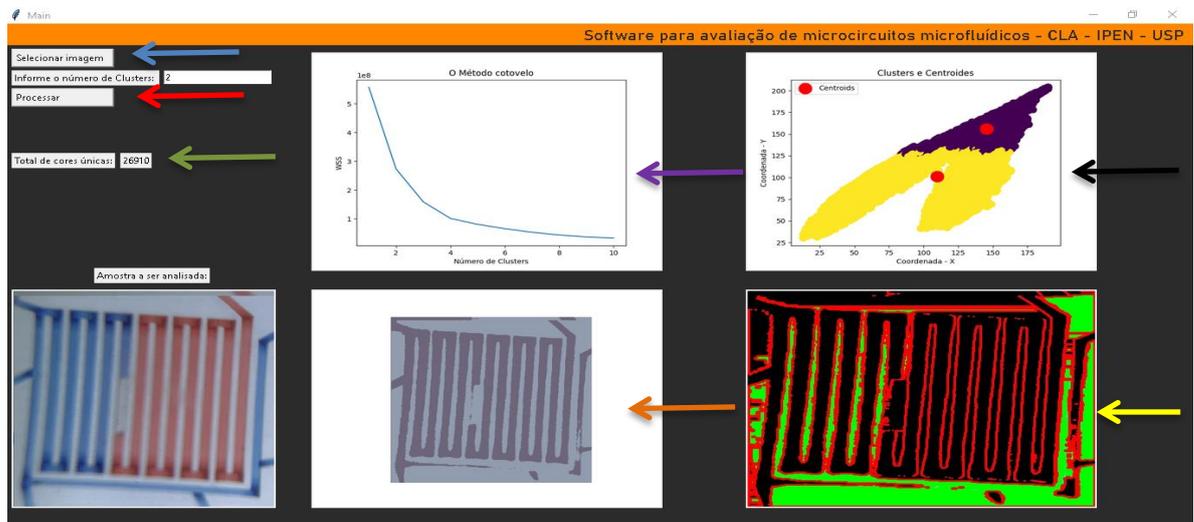
Atualmente, as ferramentas computacionais inteligentes são usadas em muitas pesquisas e existem várias terminologias diferentes para se referir às aplicações de inteligência atribuídas aos computadores. Entre esses conceitos podem-se citar como os mais comuns a inteligência artificial e a aprendizagem de máquina (*machine learning*). Aproveitando-se desse conceito, foi desenvolvido um *software* que utiliza técnicas de agrupamento de cores em microcircuitos microfluídicos. Baseado nos conceitos discutidos anteriormente, o *software* importa a foto obtida na interface de conexão com o celular, sugere o número de *clusters* de acordo com o método do cotovelo e, usando a quantidade que o usuário escolher, processa os resultados como exibido na Figura 50.

O usuário escolhe a imagem a ser analisada clicando no botão “selecionar imagem”, item indicado pela seta azul. O sistema calcula e exibe o gráfico do cotovelo, indicando a quantidade de *clusters*. O usuário tem a possibilidade de informar a quantidade de *clusters* desejada e depois clicar no botão processar, item indicado pela seta vermelha.

Depois do processamento, o *software* mostra três diferentes formas de análises: agrupamento de cores indicado pela seta laranja; contornos que podem ser vistos no item indicado pela cor amarela; e, por fim, gráfico dos *clusters* com as respectivas cores predominantes de cada um deles, indicado pela seta preta.

O *software* ainda exibe a quantidade de cores únicas encontradas na imagem, indicado pela seta verde. Esse número mostra uma análise que só pode ser percebida usando metodologias computacionais que avaliam pixel a pixel das imagens.

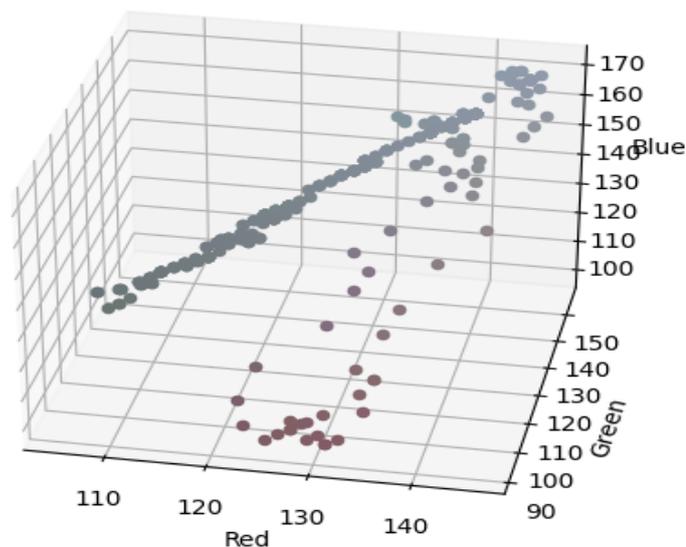
Figura 50: Interface do software de análise de agrupamento de cores, usando amostra com anilina azul e vermelha



Fonte: autor da tese.

O *software* também gera um gráfico 3D com o espaço de cores RGB da amostra selecionada. Usando a imagem anterior como amostra (anilina azul e vermelha), o gráfico da Figura 51 plota os pontos com as coordenadas de cada cor.

Figura 51: Gráfico de espaço de cores RGB da primeira amostra testada



Fonte: autor da tese.

Para os resultados, os parâmetros utilizados foram organizados na Tabela 5, sendo que a primeira coluna identificada como “K” representa o número de *clusters* utilizados no teste. A segunda coluna é a imagem que serviu como

amostra. A terceira coluna contém a imagem processada. A quarta coluna traz os contornos presentes na Tabela 5. E a quinta coluna mostra um gráfico da posição dos *clusters* da imagem analisada.

A amostra com K igual a dois, sugerida pelo método do cotovelo, destacou na imagem processada (vide coluna imagem processada) o formato do microcircuito sem plotar alguma cor. Essa visão pode ser útil para uma análise em que a parte física do microcircuito precisa ser avaliada, verificando falhas estruturais. Foram circuladas em vermelho duas áreas de atenção, sugerindo que nesses pontos pode haver algum problema de circulação do microfluido. A coluna contornos visa destacar os limites das paredes dos microcanais, expondo, por exemplo, a simetria estrutural do modelo fabricado. Na mesma área destacada em vermelho na análise anterior pode haver possíveis diferenças de espessura do microcanal. Visualmente não há continuação do microcanal (circulado de azul). O gráfico de *clusters* é uma forma visual de entender como o algoritmo separa os grupos de cores. Alterando o valor de K para três, teve-se visão similar à análise com dois *clusters*, porém dessa vez colorida. Houve pouca diferença da primeira análise em todas as colunas.

Já com o valor de K igual a cinco, percebeu-se a parte do microcanal que não era visível anteriormente (demarcado de preto), mesmo com espessura menor que outras partes do microcircuito. Na coluna de contornos, a área circulada de roxo novamente chamou a atenção pela impossibilidade de visibilizar o microcanal. Outra característica notada tem relação com os contornos do microcircuito. Os detalhes não são bem definidos como na análise interior.

Para K igual a sete, as características de K igual a cinco se repetem e uma nova percepção foi adicionada, circulada de verde. Há pontos que sugerem maior concentração de microfluidos, que podem ser pontos de dificuldade de o microfluido transitar. Isso pode significar que ângulos de 90° consecutivos para simular uma curva podem ser pontos de resistências. A visão exibida na coluna contornos foi ainda mais deficiente que na análise anterior. Quase nenhum contorno foi visto desta vez, especialmente na área destacada em amarelo.

No último teste com K igual a nove, vários pontos de possíveis resistências à passagem dos microfluidos foram registrados. Esses pontos destacados de laranja se expandiram para várias regiões da imagem, como curvas e junções dos microcanais. A análise de contornos dessa vez realçou

novamente os contornos do microcircuito, porém com falhas e vários pontos, especialmente na área destacada de cinza. A variação do número de *clusters* consegue exaltar várias características das imagens. Aumentando os *clusters*, a imagem original se aproxima da forma da imagem analisada.

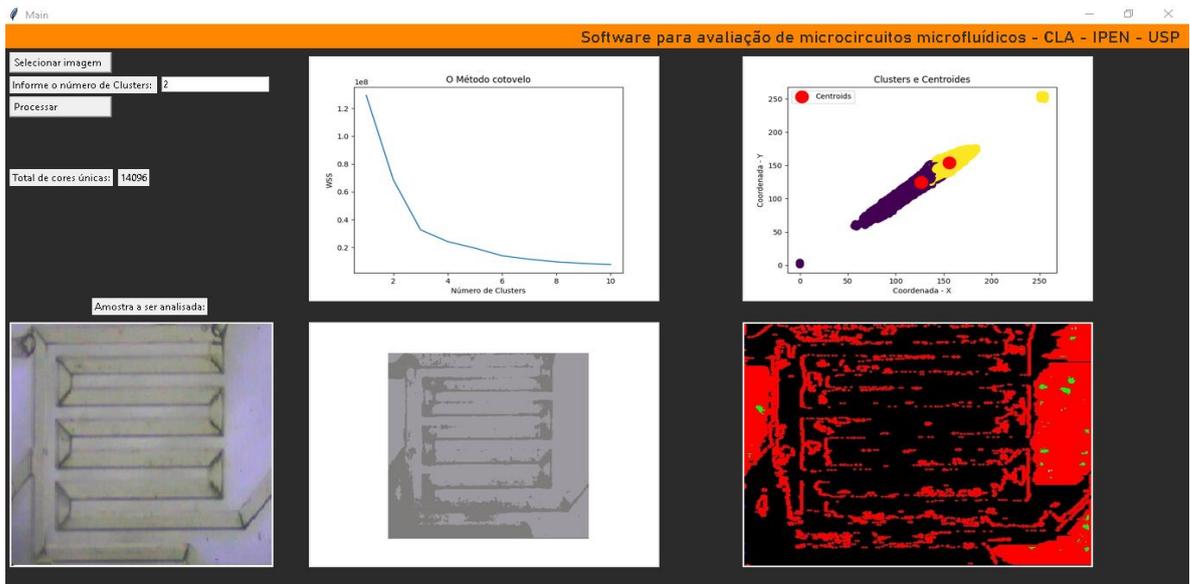
Tabela 5 - Resultados obtidos variando o número de *clusters*, usando anilina azul e vermelha

K	Amostra	Imagem processada	Contornos	Gráfico de espaço de cores e clusters
2				
3				
5				
7				
9				

Fonte: autor da tese.

Repetindo o teste anterior, porém usando uma imagem de outro modelo de microcircuito utilizado para o teste ELISA no trabalho de HERRERA⁹⁹, a interface após a análise da nova amostra pode ser vista na Figura 52.

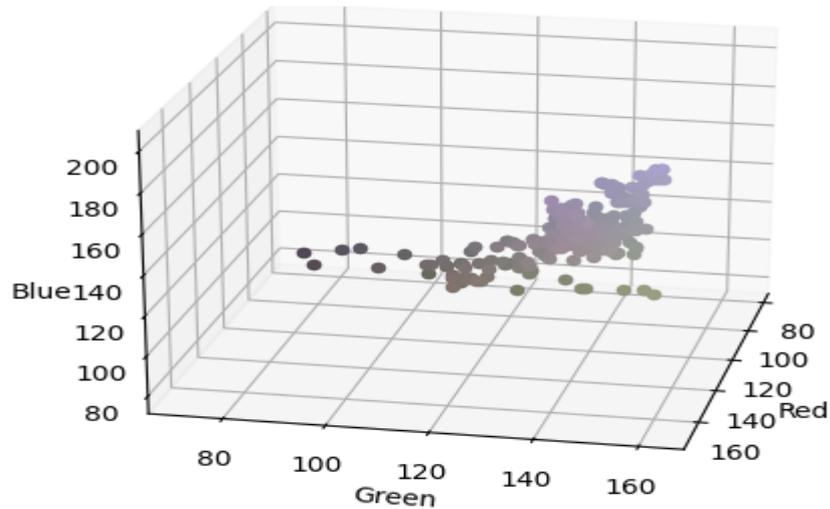
Figura 52: Interface do software analisador de agrupamento de imagem utilizando amostra de teste ELISA do trabalho de Herrera



Fonte: autor da tese.

O gráfico da Figura 53 demonstra uma concentração de cor no espaço verde e vermelho, característica da cor amarela no modelo RGB já discutido anteriormente.

Figura 53: Espaço de cores da amostra do trabalho de Herrera



Fonte: autor da tese.

Na Tabela 6 faz-se a comparação dos resultados obtidos usando a nova amostra. Seguiu-se a mesma configuração anteriormente testada no experimento anterior. As colunas K, imagem processada, contornos e gráfico de espaço de cores e *clusters* agora se referem à coluna amostra.

No novo teste com K igual a dois, na coluna imagem processada alguns pontos do microcanal não foram detectados, destacado na cor vermelha. Mais uma vez os pontos que simulam curvas se mostraram possíveis pontos de resistência de fluxo, destacado em roxo. A coluna contornos teve dificuldades de salientar os limites dos microcanais na parte do centro do microcircuito, em azul.

No caso de K sendo três, não foi mais possível identificar facilmente no centro do microcircuito parte circulado de marrom, onde terminam os microcanais. O efeito visível expõe um vazamento da cor amarela por áreas fora do microcanal. A iluminação utilizada para a obtenção da foto foi outro fator que influenciou muito negativamente nesse resultado. Mesmo a olho nu nota-se que há áreas ao redor do microcircuito com a mesma tonalidade vista dentro do microcanal. Esse efeito pode ser decorrente da má iluminação no momento de captura da foto. A coluna contornos mostra ainda mais um enfraquecimento dos contornos mapeados pelo programa.

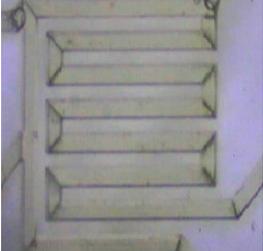
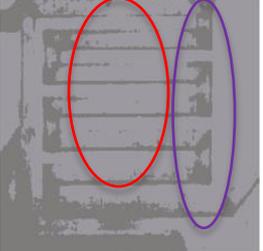
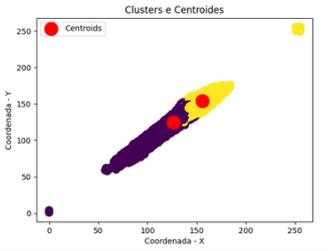
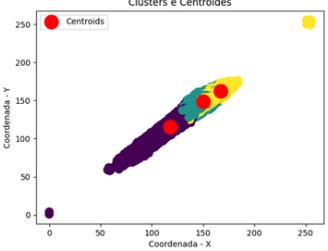
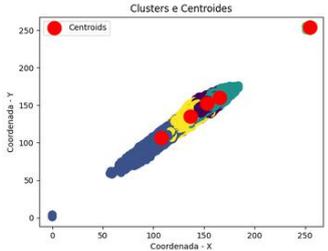
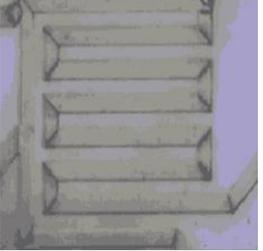
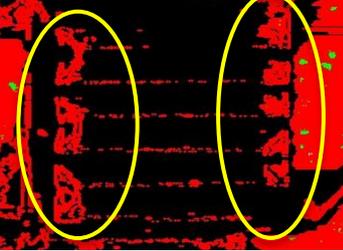
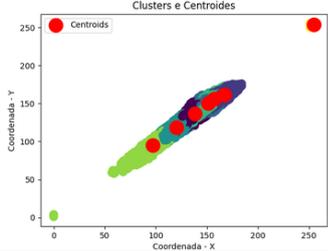
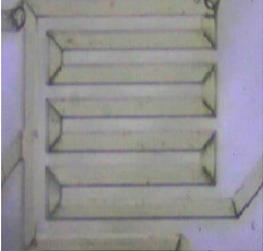
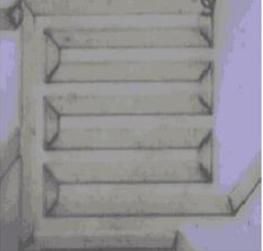
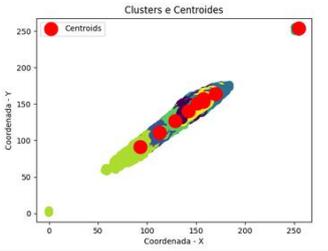
Em K igual a cinco, as delimitações das paredes do microcanal começaram a ficar perceptíveis novamente. Já a percepção de “vazamento” da

cor continuou. A coluna contornos perde ainda mais seus pontos de referência, praticamente desaparecendo as linhas do centro do microcircuito.

Para K igual a sete, a imagem analisada já está quase totalmente similar à original. Na coluna contornos, mais uma vez aparecem circulos de amarelo pontos de atenção em relação a possíveis áreas de dificuldade do microfluido transitar.

Por fim, K como nove traz uma imagem analisada praticamente igual à imagem original, contribuindo quase nada para uma análise de agrupamentos. A coluna contornos perdeu totalmente a visibilidade das laterais dos microcanais na parte do centro, como pode ser visto no círculo cinza.

Tabela 6 - Resultados obtidos variando o número de clusters, usando a amostra do trabalho de Herrera

K	Amostra	Imagem processada	Contornos	Gráfico de espaço de cores e clusters
2				
3				
5				
7				
9				

Fonte: autor da tese.

6 DISCUSSÃO E RESULTADOS

6.1 Sobre o aplicativo de celular

O desenvolvimento se mostrou bastante desafiador em relação às limitações relacionadas à especificidade das linguagens de programação testadas. O poder de processamento dos aparelhos testados evidenciou a previsão de dificuldades relacionadas a tempo de execução. As simulações computacionais preliminares ajudaram no planejamento das estratégias de desenvolvimento *mobile*. Os resultados de testes usando corantes se repetiram nas amostras reais posteriormente. Os *microchips* testados reforçaram a ideia de que seu uso é importantíssimo para o desenvolvimento de pesquisas microfluídicas e que sua aplicação, além de variada, é direcionada para cada projeto a ser desenvolvido. Suas dimensões, formas e materiais podem facilitar ou dificultar as pesquisas cujo seu uso seja necessário.

O *web servers* para modelagem de armazenamento de dados é uma tecnologia bastante atual e se mostrou eficaz no projeto, juntamente com a premissa de uma boa forma de visibilização dos dados. Os sistemas de *dashboards* facilitam a interpretação de grandes volumes de dados e podem ser considerados um bom apoio à decisão. Os gráficos disponibilizam visões de dados a partir de sexo, idade e localização do usuário. O nível de acesso também é respeitado, somente o usuário responsável pode acessar o sistema.

O uso do aplicativo sem acesso à internet é um diferencial, não somente pela falta de cobertura adequada no Brasil, mas também por garantir que os dados estejam seguros, evitando possíveis acessos de terceiros e preservando a identidade do usuário.

6.2 Sobre mapeamento de cores em microcircuitos

Com a possibilidade de encontrar cores específicas, mapeou-se fisicamente o comportamento do microfluido dentro do microcircuito e verificou-se se ele estava se misturando adequadamente com possíveis reagentes. Surgiu então outra metodologia de aferição de cor, a HSV. Esse modelo aliado à

biblioteca de desenvolvimento da linguagem *Python* permitiu um meio mais fácil de localização de várias tonalidades de cores, usando um “*range*” que abrange todas as variações de cores entre seus valores. Outro bom benefício obtido foi em relação ao desempenho do *software*. O resultado foi processado instantaneamente, sem necessidade de tempo de espera por parte do usuário. Claro que, usando um *desktop*, a tendência é ter ganho de desempenho, porém mesmo para imagens muito grandes não foi percebida perda de *performance*.

6.3 Sobre a detecção de cores utilizando inteligência artificial

O *machine learning* utilizado por meio de *clusters* acentuou importantes características dos microcircuitos microfluídicos. O agrupamento de cores em regiões específicas das amostras sugeriu possíveis pontos de melhoria do *design* de produção, desempenho da fluidez do microfluido dentro do microcircuito, pontos de conexão e rotas projetadas para os microcanais. Nos pontos de agrupamentos, quanto mais agudos e mesmo retos, os ângulos utilizados para guiar o microfluido aparentemente causam pontos de concentração dos microfluidos.

O método do cotovelo na avaliação do número de *clusters* a serem aplicados nos testes serviu como ponto de partida para as análises, porém a sua variação no caso para maior destacou outras características importantes não vistas na sugestão inicial do método. Quanto menor esse número, melhor aproveitamento tem a análise, relacionado somente à presença de qualquer cor, desconsiderando-se variações de cores específicas e contribuindo para entender caminhos percorridos pelo microfluido de maneira geral. Essa análise se aproxima de Raios-X do microfluido, destacando suas características físicas. Em contrapartida, ao aumentar o número de agrupamentos o foco da análise passa a ser a presença das cores em regiões específicas, o que evidencia características relacionadas a presença, tonalidades e concentrações.

Os contornos se mostraram uma forma complementar de análise dos microcircuitos, acompanhando a análise de agrupamento de cores, porém com foco nas paredes dos microcanais. Essa análise pode ajudar a perceber erros relacionados a simetria, tamanho, capacidade de fluidez e volume suportado pelo microcircuito. Por sua característica diminuta, conseguir destacar de forma

ampliada os limites dos microcanais torna-se um meio importante de entender pontos com deficiências de desempenho. Essa característica, inclusive, foi detectada na parte inferior do primeiro experimento, aparecendo tanto na imagem clusterizada como na análise de contornos.

7 CONCLUSÕES E TRABALHOS FUTUROS

Diante da perspectiva inicial deste trabalho, ficou claro que o tema é bastante amplo e demanda muito esforço científico para avançar. Para cada possível solução, muitas perguntas apareceram durante sua realização, e isso possibilitou novas frentes de aplicações do método utilizado. A união de microcircuitos, aplicativo *mobile*, armazenamento e classificação de dados, juntamente com uma interface de conexão, mostrou uma nova forma de realizar o exame ELISA. Os principais ganhos estão relacionados a quantidade de amostra, organização dos dados, acesso ao exame, proteção de dados e velocidade de diagnóstico. O método de aferição de cor foi eficaz em relação às amostras, pelo fato de que pode ser explorado em várias áreas da Ciência. O uso da ferramenta, mesmo que *off-line*, expandiu-se para áreas sem coberturas de sinal de celular, criando possibilidades de atuar em locais antes vistos como impossíveis de serem explorados. O celular democratiza o uso, principalmente pela sua extensa presença entre praticamente todas as faixas etárias no Brasil.

A interface 3D testada foi capaz de melhorar de forma bastante significativa a obtenção das imagens, corrigindo principalmente fatores relacionados a posição, iluminação, *zoom*, definição e foco das imagens. Ajustar a posição da câmera, a altura do microcircuito e o direcionamento da luz interna para o microcircuito foi importante para o resultado. A lente acoplada conseguiu bom nível de detalhamento dos microcircuitos.

Em relação ao experimento de mapeamento de cores no celular, foi mais uma aplicação que surgiu a partir da observação dos componentes do trabalho inicial. Entender o comportamento microfluídico dentro do microcircuito é um desafio que é alvo de várias pesquisas. O meio proposto neste trabalho, além de inserir uma nova perspectiva em relação a uma nova maneira de detectar cor, consegue explicar por onde esses líquidos passam dentro do microcircuito. Isso pode ajudar na engenharia de fabricação de vários modelos de microcircuitos, além de medir o quanto a cor de um líquido muda, podendo indicar onde acontecem misturas com alterações de cor. As cores podem ser aplicadas como forma de analisar exames ELISA microfluídicos e também são fonte de informação sobre o comportamento dos líquidos dentro de microcircuitos.

Classificação de imagens é um método amplamente utilizado no nosso dia a dia, e pensar em novas perspectivas de seu uso pode garantir novas formas de melhorar os resultados das análises e ampliar ainda mais sua atuação.

O *machine learning* aplicado a imagens revelou características das imagens que contribuíram para analisar as amostras. A técnica de clusterização salientou pontos de atenção e deu base para estudar melhores *designs* de fabricação dos microcircuitos. Pontos de concentração de microflúidos puderam ser visibilizados facilmente, sugerindo a necessidade de alterar os ângulos utilizados na fabricação. A variação da escolha do números de *clusters* também foi benéfica para as análises, pois proporcionou características estruturais e agrupamentos de cores, sugerindo pontos de dificuldade de fluidez. Os contornos percebidos pelo algoritmo ajudam a entender a simetria dos microcanais e seu tamanho, auxiliando na interpretação da capacidade do microcircuito em receber os microflúidos.

Os ângulos usados para aumentar a área de visibilidade podem não constituir uma escolha totalmente acertada, visto, inclusive, que no último modelo de microcircuito testado houve “vazamento” para áreas fora dos microcanais. Isso pode ter sido causado por pressão excessiva no momento de bombear o microfluido, forçando partes sensíveis e criando pontos de escape. Torna-se importante expandir esses testes para avaliar melhor cada modelo de microcircuito.

A interface ainda pode ser melhorada em relação à adaptação dos aparelhos celulares. A diversidade de formatos complica a criação de um modelo universal. A questão da iluminação também pode ser melhorada, testando-se outros tipos de LED. Simular uma caixa com capacidade de limitar o acesso da luz externa pode limitar interferências da iluminação do ambiente.

Na coloração no microcircuito, avaliar mais modelos de circuitos pode levar a novas descobertas em relação à sua tipografia, ajudando no processo de descoberta de qual o melhor modelo para cada caso. Uma nova medida para mapear o caminho desses líquidos pode ser testar as alterações de cores, eliminando cores conhecidas.

Aplicações em imagens laboratoriais procurando alvos com cores específicas também pode contribuir no diagnóstico de doenças. Enfim, esse

método pode ser aplicado em qualquer análise de imagens visando à identificação de cores.

REFERÊNCIAS

1. YANG, Y.; YANG, B.; ZHU, S.; CHEN, X. Online quality optimization of the injection molding process via digital image processing and model-free optimization. *J Mater Process Technol*, v. 226, pp. 85–98, 2015.
2. PERLO, J.; MÜLDER, C.; DANIELI, E.; HOPMANN, C.; BLÜMICH, B.; CASANOVA, F. Digital processing of images of extruded rubber profiles for process control MRI. *Measurement*, v. 82, pp. 466–475, 2016.
3. CAPANEMA, N.S.V. **Síntese e caracterização de biocerâmicas à base de fosfato de cálcio modificada com nióbio**. Dissertação (Mestrado em Engenharia Metalúrgica) - Universidade Federal de Minas Gerais, 2014.
4. ZHU, H.; MAVANDADI, S.; COSKUN, A.F.; YAGLIDERE, O.; OZCAN, A. Optofluidic fluorescent imaging cytometry on a cell phone. *Anal Chem*, v. 83, n. 17, pp. 6641–6647, 2011.
5. JAGANNADH, V.K.; BHAT, B.P.; NIRUPA JULIUS, L.A.; GORTHI, S.S. High-throughput miniaturized microfluidic microscopy with radially parallelized channel geometry. *Anal Bioanal Chem*, v. 408, n. 7, pp. 1909–1916, 2016.
6. NAKAGE, A.P.M.; SANTANA, A.E.; CÁPUA, M.L.B.; COELHO, P.S. Metodologia e aplicação da citometria de fluxo na hematologia veterinária flow cytometry methodology and application in the veterinary hematology. *Ciênc Rural*, v. 35, n. 4, pp. 966–973, 2005.
7. ESTEVAM-ALVES, R.; FERREIRA, P.H.D.; ALMEIDA, G.F.B.; SOUSA, W.S.; MENDONÇA, C.R. Microfabrication of electroluminescent polymer for devices construction. *Appl Surf Sci*, v. 314, pp. 633–637, 2014.
8. ALVES, R.E. **Processamento de superfícies poliméricas com pulsos laser de nano e femtossegundos**. Tese (Doutorado em Ciência e Engenharia de Metais) - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, 2015.
9. BITTENCOURT, T.M.G. **Pré-processamento digital de imagens obtidas na faixa espectral do infravermelho distante**. Dissertação (Mestrado em Processamento de Sinais e Instrumentação) - Universidade de São Paulo, 2012.
10. KLEM, D.M.S. **Experiências estéticas e cognitivas mediadas por imagens digitais**. Dissertação (Mestrado em Arte e Cultura Visual) - Universidade Federal de Goiás, 2013.
11. XU, X.G. An exponential growth of computational phantom research in radiation protection, imaging, and radiotherapy: a review of the fifty-year history. *Phys Med Biol*, v. 59, n. 18, pp. R233–R302, 2014.

12. SANTOS, T.O.; PEREIRA, L.P.; SILVEIRA, D.T. Implantação de sistemas informatizados na saúde: uma revisão sistemática. **Rev Eletron Comunic Inform Inov Saúde**, v. 11, n. 3, pp. 1–11, 2017.
13. PEREZ, G. **Adoção de inovações tecnológicas**: um estudo sobre o uso de sistemas de informação na área de saúde. Tese (Doutorado em Administração) - Universidade de São Paulo, 2007.
14. MIRANDA, C.F.; MARIN, H.F. **Modelo de gestão de tecnologia da informação em saúde**. Out., 2010. Disponível em: <http://www.sbis.org.br/cbis11/arquivos/1042.pdf>. Acesso em: jul-2021.
15. CÉSAR, C.P.H.A.R.; DOMENIS, D.R.; SILVA, K; GUEDES-GRANZOTTI, R.B.; DORNELAS, R. Uso de tecnologias sociais na fonoaudiologia – relato de experiência do curso de Fonoaudiologia da Universidade Federal de Sergipe, Lagarto – SE. In: NAHSAN, F. P. S.; SORDI, C.; PARANHOS, J. R. (org.). **Coletâneas em Saúde**. Plena, 2015, pp. 79–90.
16. OLIVEIRA, A.R.F.; ALENCAR, M.S.M. O uso de aplicativos de saúde para dispositivos móveis como fontes de informação e educação em saúde. **RDBCI Rev Digit Bibliotecon Ciênc Inf**, v. 15, n. 1, p. 234, 2017.
17. PRIMO, P.P.B.; MIRANDA, A.E.B.; SANTANNA, H.C. Uso de novas tecnologias para conscientização da população em temáticas da área de saúde: o caso do aplicativo Aedes Zero. **Rev Guará**, n. 7, 2017.
18. WU, H.-Y.; RUBINSTEIN, M.; SHIH, E.; GUTTAG, J.; DURAND, F.; FREEMAN, W. Eulerian video magnification for revealing subtle changes in the world. **ACM Trans Graph**, v. 31, n. 4, pp. 1–8, 2012.
19. SAÏD. A.K. Shrinking FT-NIR spectrometers empower consumers, businesses. **Photonics Spectra**, pp. 1–12, 2017.
20. MAGALHÃES, J.L.; HARTZ, Z.; MENEZES, M.S.; QUONIAN, L. Big data e a saúde negligenciada em dengue, zika e chicungunha: uma análise translacional da tríplice ameaça no século XXI. **Ciênc Inf**, pp. 234–250, 2016.
21. MIRANDA, M.F.; RIBEIRO, M.R. Sistema de mineração de dados para descobertas de regras e padrões em dados médicos. DEZ. 2011. Disponível em: https://www.bambui.ifmg.edu.br/jornada_cientifica/2011/resumos/informatica/50.pdf. Acesso em: jul-2021.
22. ARANDA, Y.R.; SOTOLONGO, A.R. Integración de los algoritmos de minería de datos 1r, Prism E Id3 a Postgresql. **J Inf Syst Technol Manag JISTEM**, v. 10, n. 2, pp. 389–406, 2013.
23. MORGAN, A.J.L.; SAN JOSE, L.H.; JAMIESON, W.D.; WYMANT, J.M.; STEPHENS, P.; BARROW, D.A.; CASTELL, O.K. Simple and versatile 3D printed microfluidics using fused filament fabrication. **PLoS One**, v. 11, n. 4,

pp. 1–18, 2016.

24. JUANG, Y.J.; CHANG, J.S. Applications of microfluidics in microalgae biotechnology: A review. *Biotechnol J*, v. 11, n. 3, pp. 327–335, 2016.
25. YEHEZKEL, T.B.; RIVAL, A.; RAZ, O.; COHEN R.; MARX, Z.; CAMARA, M.; DUBERN, J.F.; KOCH, B.; HEEB, S.; KRASNOGOR, N.; DELATTRE, C.; SHAPIRO, E. Synthesis and cell-free cloning of DNA libraries using programmable microfluidics. *Nucleic Acids Res*, v. 44, n. 4, 2015.
26. BARRETO NETO, A.G.S.; LIRA, V.V; MOREIRA, C.S. Microbomba: desenvolvimento e aplicações. *Rev Principia*, n. 28, ed. especial, 2015.
27. AU, A.K.; LEET, W.; FOLCH, A. Mail-order microfluidics: Evaluation of stereolithography for the production of microfluidic devices. *Lab Chip*, v. 8, n. 5, pp. 583–592, 2014.
28. JAGANNADH, V.K.; MACKENZIE, M.D.; PAL, P.; KAR, A.K.; GORTHI, S.S. Slanted channel microfluidic chip for 3D fluorescence imaging of cells in flow. *Opt Express*, v. 24, n. 19, p. 22144, 2016.
29. ABOU-HASSAN, A.; SANDRE, O.; CABUIL, V. Microfluidics in inorganic chemistry. *Angew Chemie - Int Ed*, v. 49, n. 36, pp. 6268–6286, 2010.
30. RAMACHANDRAIAH, F.H.; BANERJEE, I.; ARDABILI, S.; ZELENIN, S.; RUSSOM, A. Elasto-inertial microfluidics for bacteria separation from whole blood for sepsis diagnostics. *J Nanobiotechnology*, v. 15, n. 1, p. 3, 2017.
31. DANTAS, C.A.R. **Fabricação de dispositivos para aplicação de conceitos de microfluídica a uma "língua eletrônica"**. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Materiais) - Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Sorocaba, p. 97, 2013.
32. MORBIOLI, G.G. **Funcionalização de celulose para ensaios bioanalíticos em dispositivos microfluídicos baseados em papel (μ PADs)**. Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade de São Paulo, 2015.
33. GRÜNBERGER, A.; PROBST, C.; HELFRICH, S.; NANDA, A.; STUTE, B.; WIECHERT, W.; LIERES, E.; NÖ, K.; FRUNZKE, J.; KOHLHEYER, D. Spatiotemporal microbial single-cell analysis using a high-throughput microfluidics cultivation platform," *Cytometry A*, v. 87, n. 12, pp. 1101–1115, 2015.
34. BLUME, C.; REALE, R.; HELD, M.; MILLAR, T.M.; COLLINS, J.E.; DAVIES, D.E.; MORGAN, H.; SWINDLE, E.J. Temporal monitoring of differentiated human airway epithelial cells using microfluidics. *PLoS One*, v. 10, n. 10, pp. 1–14, 2015.
35. KAWANO, Y.; OTSUKA, C.; SANZO, J.; HIGGINS, C.; NIREI, T.; SCHILLING, T.; ISHIKAWA, T. Expanding imaging capabilities for

- microfluidics: Applicability of darkfield internal reflection illumination (DIRI) to observations in microfluidics. **PLoS One**, v. 10, n. 3, pp. 1–20, 2015.
36. SCHMIDT, H.; HAWKINS, A.R. The photonic integration of non-solid media using optofluidics. **Nat Photonics**, v. 5, n. 10, pp. 598–604, 2011.
 37. FAN, X.; WHITE, I.M. Optofluidic microsystems for chemical and biological analysis. **Nat Photonics**, v. 5, n. 10, pp. 591–597, 2011.
 38. MILLER, J.; SCHWARTZ, B.F.; TARTER, T.H. An interdisciplinary approach for surgical treatment of the renal mass. **Minerva Urol Nefrol**, v. 63, n. 3, pp. 199–205, 2011.
 39. DE ROSSI, W.; MACHADO, L.M.; SAMAD, R.E.; FREITAS, A.Z.; MIRIN, D.C.; VIEIRA JÚNIOR, N.D. Usinagem de circuitos microfluídicos com laser de pulsos ultracurtos. In: VII CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA DE FABRICAÇÃO. **Anais...**, Rio de Janeiro, 2013.
 40. DE ROSSI, W.; HERRERA, C.; VIEIRA JÚNIOR, N.D.; SAMAD, R.E. Microfluidic devices produced by micromachining with ultra-short laser pulses. In: VIII WORKSHOP IN MICROFLUIDICS, CNPEM.. **Anais...**, Rio de Janeiro, 2018.
 41. PSALTIS, D.; QUAKE, S.R.; YANG, C. Developing optofluidic technology through the fusion of microfluidics and optics. **Nature**, v. 442, n. 7101, pp. 381–6, 2006.
 42. ABHARI, F.; JAAFAR, H.; YUNUS, N.A. A comprehensive study of micropumps technologies. **Int J. Eletrochem Sci**, v. 7, n. 10, 2012.
 43. ASHRAF, M.W.; TAYYABA, S.; AFZULPURKAR, N. Micro Electromechanical Systems (MEMS) based microfluidic devices for biomedical applications. **Int J Mol Sci**, v. 12, n. 6, pp. 3648–3704, 2011.
 44. YANG, K.S.; CHAO, T.F.; CHEN, Y.; WANG, C.C.; SHYU, J.C. A comparative study of nozzle/diffuser micropumps with novel valves. **Molecules**, v. 17, n. 2, pp. 2178–2187, 2012.
 45. MENESES, P.R.; ALMEIDA, T. Introdução ao processamento de imagem de sensoriamento remoto. **Cnpq/Unb**, p. 266, 2012.
 46. PEIXOTO, F.M.; REBOUÇAS, E.S.; XAVIER, F.G.L.; REBOUÇAS FILHO, P.P. Desenvolvimento de um software para cálculo da densidade de nódulos de grafita em ferro fundido nodular através de Processamento Digital de Imagens. **Rev Mater**, v. 20, n. 1, pp. 262–272, 2015.
 47. PIOLTINE, A.; REALI, M.A.P. Influência do tamanho de flocos e da concentração de ar dissolvido na eficiência da flotação. **Eng Sanit e Ambien.**, v. 20, n. 3, pp. 513–523, 2015.

48. CARDUCCI, C.E.; OLIVEIRA, G.C.; LIMA, J.M.; ROSSONI, D.F.; COSTA, A.L.; OLIVEIRA, L.M. Distribuição espacial das raízes de café e dos poros de dois Latossolos sob manejo conservacionista. *Rev Bras Eng Agrícola e Ambient*, v. 18, n. 3, pp. 270–278, 2014.
49. MELLO, R.; VAZ, F.N.; PACHECO, P.S.; PASCOAL, L.L.; PRESTES, R.C.; KIPPER, D.K. Predictive efficiency of distinct color image segmentation methods for measuring intramuscular fat in beef. *Ciênc Rural*, v. 2, n. 10, pp. 1865–1871, 2015.
50. LEVY, P.C.; XAVIER, C.M.; COSTA, M.G.F.; COSTA FILHO, C.F.F.; FUJIMOTO, L.B.M.; SALEM JOSÉ, J.I.N. *Segmentação do Mycobacterium Tuberculosis através de novas técnicas de classificação de Pixel*. Centro de Pesquisa e Desenvolvimento de Tecnologia Eletrônica e da Informação, Universidade Federal do Amazonas, 2012.
51. ALBUQUERQUE, M.P.; ALBUQUERQUE, M.P. Processamento de imagens: métodos e análises. *Rev Científica*, p. 12, 2000.
52. NAIM, M.J.M.N.; ISA, N.A.M. Pixel distribution shifting color correction for digital color images. *Appl Soft Comput J*, v. 12, n. 9, pp. 2948–2962, 2012.
53. SALEEM, A.; BEGHADADI, A.; BOASHASH, B. Image fusion-based contrast enhancement. *EURASIP J Image Video Process*, p. 10, 2012.
54. TELOCKEN, A.V.; DESSBESELL, D.; AMARAL, E.; PREVEDELLO, J.D.; PINTO, K.D.; LOPES, V. Pixel art: uma técnica de arte simplificada para desenho digital. *Rev Eletron Unicruz*, pp. 1–5, 2015.
55. RESENDE, M.R.; BERNUCCI, L.L.B.; QUINTANILHA, J.A. Classificação híbrida: pixel a pixel e baseada em objetos para o monitoramento da condição da superfície dos pavimentos rodoviários. *Bol Ciênc Geod*, v. 18, n. 3, pp. 397–420, 2012.
56. MITIANOUDIS, N.; PAPAMARKOS, N. Document image binarization using local features and Gaussian mixture modeling. *Image Vis Comput*, v. 38, pp. 33–51, 2015.
57. KEYSERS, D.; DESELAERS, T.; NEY, H. Pixel-to-pixel matching for image recognition using Hungarian graph matching. *Pattern Recogn*, v. 3175, pp. 154–162, 2004.
58. GOSSELIN, M.C.; NEUFELD, E.; MOSER, H.; HUBER, E.; FARCITO, S.; GERBER, L.; JEDENSJÖ, M.; HILBER, I.; DI GENNARO, F.; LLOYD, B.; CHERUBINI, E.; SZCZERBA, D.; KAINZ, W.; KUSTER, N. Development of a new generation of high-resolution anatomical models for medical device evaluation: the virtual population 3.0. *Phys Med Biol*, v. 59, n. 18, pp. 5287–5303, 2014.
59. MACHADO, A.W.; SOUKI, B.Q. Simplificando a obtenção e a utilização de

- imagens digitais: scanners e câmeras digitais. *Rev Dental Press Ortod Ortop Fac*, v. 9, n. 4, 2004.
60. MACHADO, O.A. **Uma abordagem orientada para o contexto qualidade da informação**. Tese (Doutorado em Ciências) - Escola Politécnica da USP, 2013.
 61. GHABRAIE, B.; REN, G.; SMITH, J.; HOLDEN, L. Application of 3D laser scanner, optical transducers and digital image processing techniques in physical modelling of mining-related strata movement. *Int J Rock Mech Min Sci*, v. 80, pp. 219–230, 2015.
 62. JOHANN, J.; ROCHA, S.J.V.; OLIVEIRA, R.M.; RODRIGUES, L.H.A.; LAMPARELLI, R.A.C. Data mining techniques for identification of spectrally homogeneous areas using NDVI temporal profiles of soybean crop. *Eng Agrícola*, v. 33, pp. 511–524, 2013.
 63. FINATTO, J.; ALTMAYER, T.; MARTINI, M.C.; RODRIGUES, M.; BASSO, V.; HOEHNE, L. A importância da utilização da adubação orgânica na agricultura. *Rev Destaques Acad*, v. 5, n. 4, pp. 85–93, 2013.
 64. VELASCO, H.F.; CABRAL, C.Z.; PINHEIRO, P.P.; AZAMBUJA, R.C.S.; VITOLA, L.S.; COSTA, M.R.; AMANTÉA, S.L. Use of digital media for the education of health professionals in the treatment of childhood asthma. *J Pediatr*, v. 91, pp. 183–188, 2015.
 65. GAMA, J.A.C.; CARVALHO, A.P.L.; FACELI, K.L.; OLIVEIRA, M. **Extração de conhecimento de dados: data mining**. 2. ed., São Paulo: Sílabo, 2015.
 66. OLIVEIRA, T.R.; COSTA, F.M.R. Desenvolvimento de aplicativo móvel de referência sobre vacinação no Brasil. *J Heal Informatics* - ISSN 2175-4411, v. 4, n. 1, pp. 23–27, 2012.
 67. INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. IBGE. **Números de uso de celular no Brasil – 2018**: pesquisa de utilização de celulares. 2018. [Online]. Disponível em: <http://www.topmindsconsultoria.com.br/numeros-de-uso-de-celular/>. Acesso em: 23-jul-2019].
 68. SOCIEDADE BRASILEIRA DE INFORMÁTICA EM SAÚDE. SBIS. [Online]. Disponível em: <http://www.sbis.org.br/conheca-a-sbis>. Acesso em: 05-mar-2018.
 69. DANIELE, A.J.L.; ZINI, M.L. Identificação do vírus HIV com metodologias de quarta geração. *Rev Epidemiol Control Infecção*, v. 3, n. 4, pp. 1–5, 2014.
 70. QUELLEC, G.; LAMARD, M.; ERGINAY, A.; CHABOUIS, A.; MASSIN, P.; COCHNER, B.; CAZUGUEL, G. Automatic detection of referral patients due to retinal pathologies through data mining R. *Med Image Anal*, v. 29, pp. 47–64, 2016.

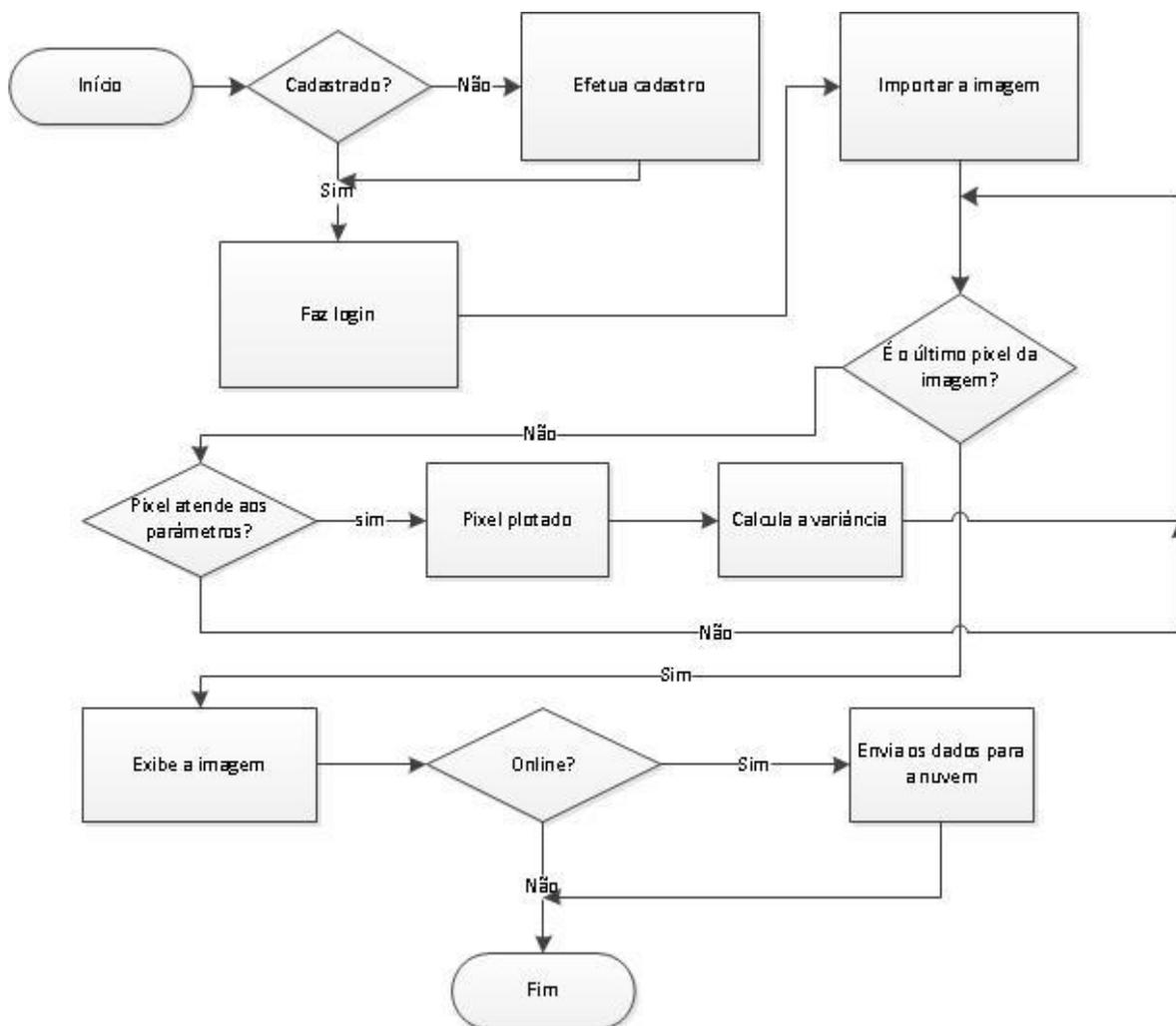
71. KINDT, T.J.; GOLDSBY, R.A.; OSBORNE, B.A. **Kuby immunology**. 6. ed., New York: WH Freeman and Co. 2008, p. 504-520.
72. CATANIA, L.J. The evolution of artificial intelligence (AI). *Foundations of Artificial Intelligence in Healthcare and Bioscience.*, 2021, pp. 10–14.
73. MITCHELL, T.M. *Machine learning*. McGraw-Hill Education. 1997.
74. HIGGINS, W.E.; OJARD, E.J. Interactive morphological watershed analysis for 3D medical images. **Sci Direct**, v. 17, n. 1 I, pp. 387–395, 1993.
75. ZEEBAREE, D.Q.; HARON, H.; ABDULAZEEZ, A.M.; ZEBARI, DA. Machine learning and region growing for breast cancer segmentation. **2019 Int Conf Adv Sci Eng**, n. June 2020, pp. 88–93, 2019.
76. CARLBOM, I.; TERZOPOULOS, D.; HARRIS, K.M. Computer-assisted registration, segmentation and 3D reconstruction from images of neuronal tissue section. **IEEE Transac Med Imag**, v. 13, n. 2, p. 351-362, Jan., 2015.
77. COHEN, L.D.; KIMMEL, R. Fast marching the global minimum of active contours. In: 3^o. IEEE INTERNATIONAL CONFERENCE ON IMAGE PROCESSING. **Proceedings...**, Oct., 1996.
78. FAN, J.; ZENG, G.; BODY, M.; HACID, M.S. Seeded region growing: an extensive and comparative study. **Pattern Recogn Let**, v. 26, Issue 8, pp. 1139–1156, 2005.
79. MIN, E.; GUO, X.; LIU, Q.; ZHANG, G.; CUI, J.; Long, J. A survey of clustering with deep learning : from the perspective of Network Architecture. **IEEE Access**, v. 6, n. July, pp. 39501–39514, 2018.
80. McAULIFFE, T.P.; DYE, D.; BRITTON, T.B. Spherical-angular dark field imaging and sensitive microstructural phase clustering with unsupervised machine learning. **Ultramicroscopy**, v. 219, n. Oct., p. 113132, 2020.
81. A. Abdul Rasheed, Improving prediction efficiency by revolutionary machine learning models, *Materials Today: Proceedings*, <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2021.04.014>.
82. WU, L.; PENG, Y.; FAN, J.; WANG, Y.; HUANG, G. A novel kernel extreme learning machine model coupled with K-means clustering and firefly algorithm for estimating monthly reference evapotranspiration in parallel computation. **Agric Water Manag**, v. 245, n. Oct. 2020, p. 106624, 2021.
83. DOGRA, J.D.; JAIN, S.; SOOD, M. Segmentation of MR images using hybrid K-mean-graph cut technique. **Procedia Comput Sci**, v. 132, pp. 775–784, 2018.
84. GÓES, A.R.T.; STEINER, M.T.A.; PENICHE, R.A. Classification of power quality considering voltage sags in distribution systems using Kdd process.

- Pesq Operac*, v. 35, n. 2, pp. 329–352, 2015.
85. LIN, P.; PENG, Z.; LAI, Y.; CHENG, S.; CHEN, Z.; WU, L. Short-term power prediction for photovoltaic power plants using a hybrid improved K-means-GRA-Elman model based on multivariate meteorological factors and historical power datasets. *Energy Convers Manag*, v. 177, n. Oct., pp. 704–717, 2018.
 86. CRISPIM, D.L.; FERNANDES, L.L.; ALBUQUERQUE, R.L.O. Aplicação de técnica estatística multivariada em indicadores de sustentabilidade nos municípios do Marajó-PA. *Rev Principia*, n. 46, pp. 145–154.
 87. GONZÁLEZ-CABRERA, N.; ORTIZ-BEJAR, J.; ZAMORA-MENDEZ, A.; GONZ, N.; PATERMINA, A.M.R. On the improvement of representative demand curves via a hierarchical agglomerative clustering for power transmission network investment. *Energy*, Elsevier, v. 222C, 2021.
 88. MACHINE LEARNING. *Unsupervised machine learning: clustering algorithms*. ML, 2021.
 89. GUEDES, G.T.A. *UML 2: uma abordagem prática*. 3. ed., São Paulo: Novatec, 2018.
 90. OLIVEIRA, J.D.S. *Desenvolvimento e treinamento de redes neurais artificiais para processamento de dados de radiação solar*. Monografia (Trabalho de Conclusão de Curso em Engenharia de Energia) -Universidade Federal de Santa Catarina, 2017.
 91. DAMASCENO, D.; TOLEDO, T.G.; GODINHO, M.S.; SILVA, C.P.; OLIVEIRA, S.B.; OLIVEIRA, A.E. Análise multivariada de imagens na química: um experimento para determinação do pH de águas potáveis. *Quim Nova*, v. 38, n. 6, pp. 836–841, 2015.
 92. QUEIROZ, L.R. iPhone, Android e a consolidação da cultura do smartphone: o papel do iPhone e do Sistema Operacional Android como catalisadores da consolidação no mercado de smartphones em escala global. *Rev Tecnol Soc*, v. 14, n. 30, pp. 47–70, 2018.
 93. LOPES, M.J.M. *A importância da evolução do mobile advertising em função do desenvolvimento tecnológico*. Dissertação (Mestrado em Marketing Digital) - Universidade Europeia, p. 96, 2016.
 94. RIBEIRO, A.S. *Análise de soluções de autenticação e autorização para arquiteturas orientadas a serviço*. Dissertação (Mestrado em Computação Aplicada) - Universidade de Brasília, 2014.
 95. DAVIES, M.; NOVOTKA, M.; PAPADATOS, G.; DEDMAN, N.; GAULTON, A.; ATKINSON, F.; BELLIS, L.; OVERINGTON, J.P. ChEMBL web services: Streamlining access to drug discovery data and utilities. *Nucleic Acids Res*, v. 43, n. W1, pp. W612–W620, 2015.

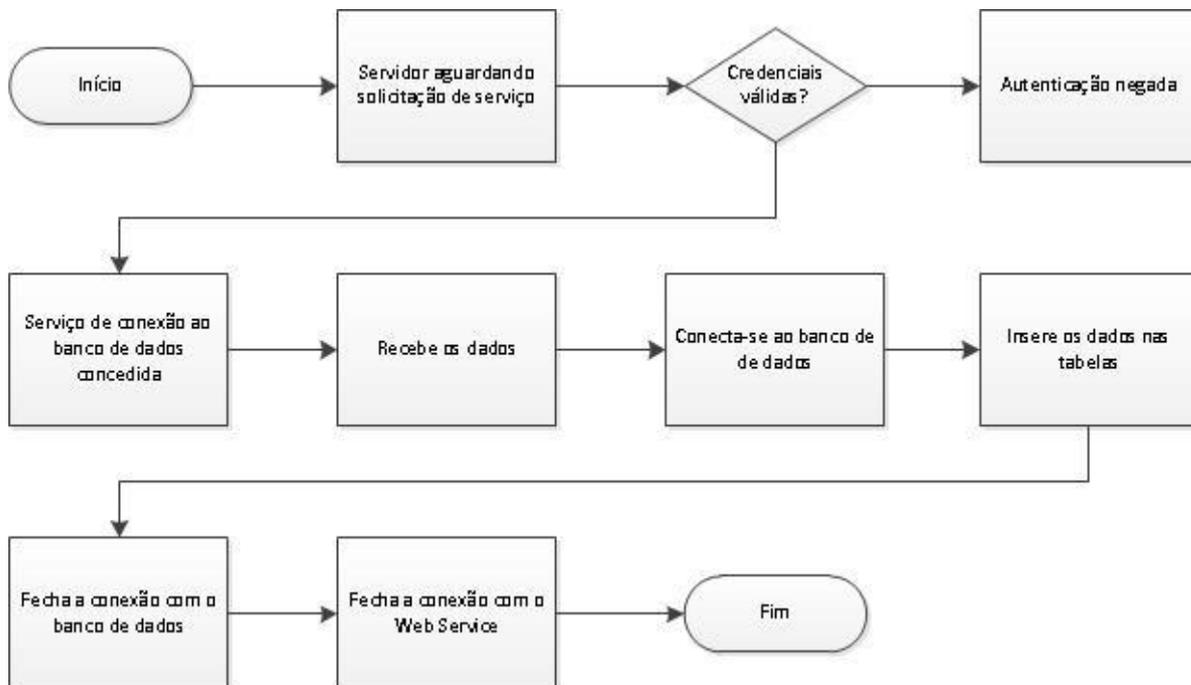
96. INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. IBGE. [Online]. Disponível em: <https://seriesestatisticas.ibge.gov.br/apresentacao.aspx>. Acesso em: 13-mar-2018.
97. BHOSALE, S.T.; PATIL, T.; PATIL, P. SQLite : Light Database System. *Int J Comput Sci Mob Comput*, v. 4, n. 4, pp. 882–885, 2015.
98. SILVA, R.A.; SILVA, F.C.A.; GOMES, C.F.S. O uso do business intelligence (bi) em sistema de apoio à tomada de decisão estratégica. *Rev Gestão Inovação e Tecnol*, v. 6, n. 1, pp. 2780–2798, 2016.
99. HERRERA, C.C. *Desenvolvimento e controle de circuitos microfluídicos*. Tese (Doutorado em Tecnologia Nuclear - Materiais) - Universidade de São Paulo, 2019.
100. ALVES, D.R. *Avaliação dos modelos de cores RGB e HSV na segmentação de curvas de nível em cartas topográficas coloridas*. Dissertação (Mestrado em Engenharia Elétrica) - Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais, 2010.
101. KRIEGSMAN, A. *FastLED HSV Colors*. 2014. [Online]. Disponível em: <https://github.com/FastLED/FastLED/wiki/FastLED-HSV-Colors>. Acesso em: 30-jul-2020.
102. PYTHON-OPENCV. *Python*. 2017. [Online]. Disponível em: <https://python.docow.com/230/como-encontrar-as-regioes-de-colors-vermelhas-usando-o-opencv.html>. Acesso em: jul-2021.

APÊNDICE

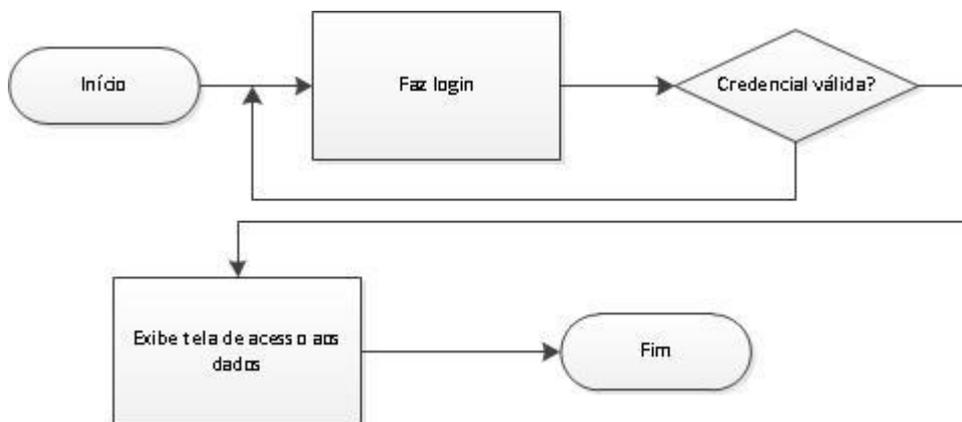
1) Fluxograma do aplicativo Android de detecção de cores



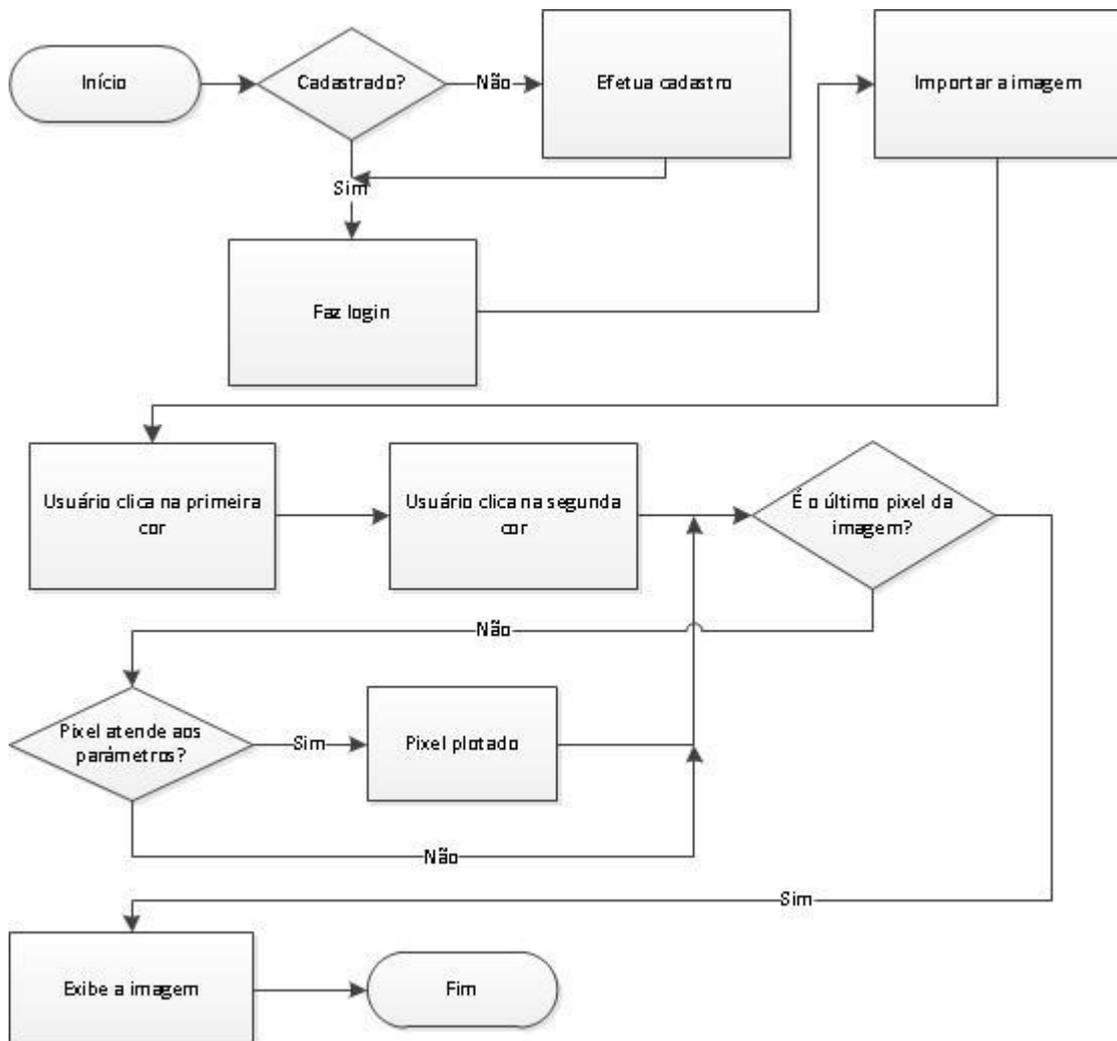
2) Fluxograma do Web Server que grava os dados na banco de dados



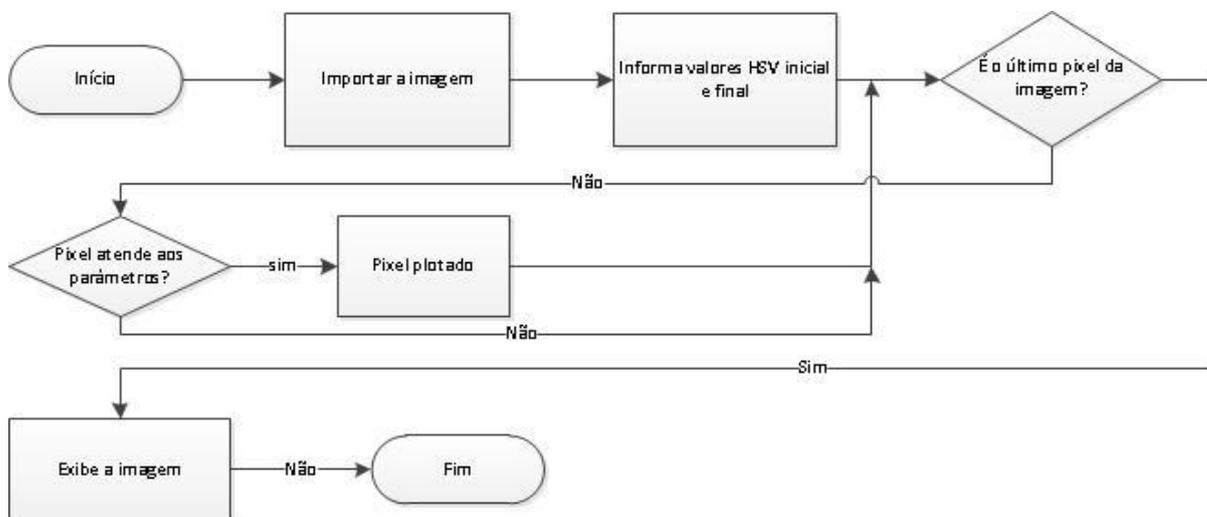
3) Fluxograma do modulo de BI

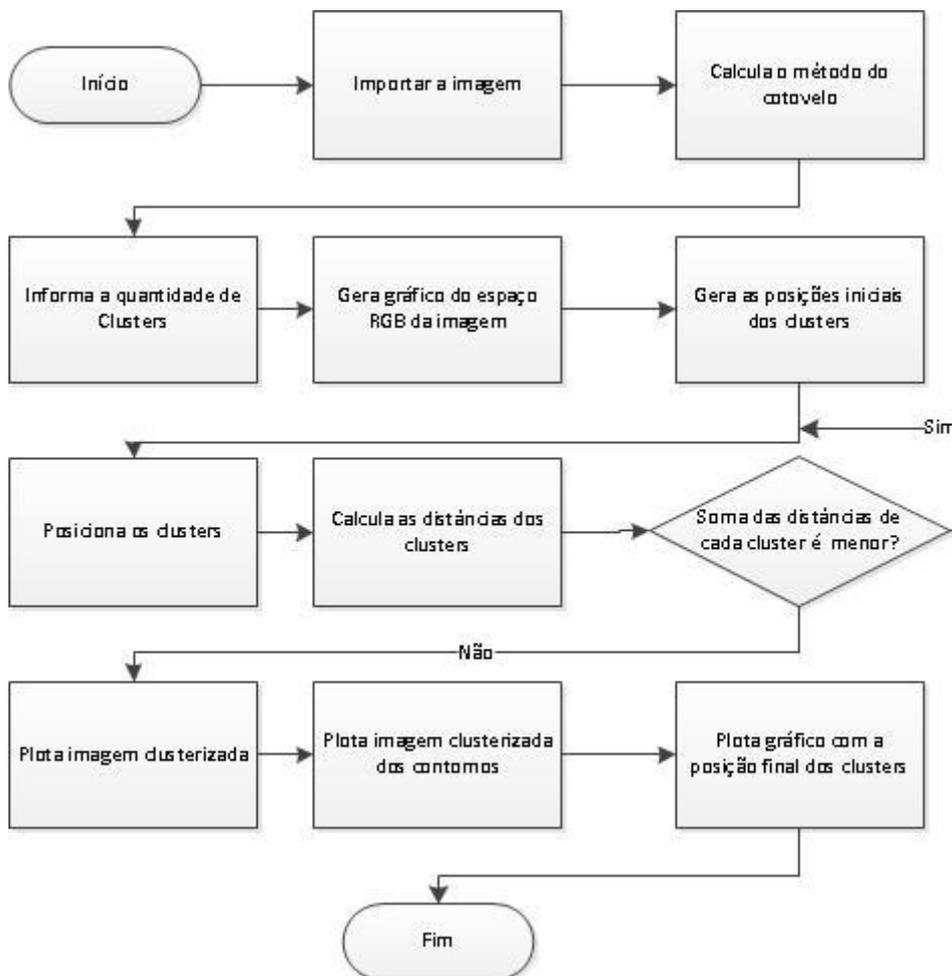


4) Fluxograma do aplicativo de mapeamento de cores em microcircuitos



5) Fluxograma do software de mapeamento de cores HSV



6) Fluxograma do *software* de clusterização de imagens

INSTITUTO DE PESQUISAS ENERGÉTICAS E NUCLEARES
Diretoria de Pesquisa, Desenvolvimento e Ensino
Av. Prof. Lineu Prestes, 2242 – Cidade Universitária CEP: 05508-000
Fone/Fax(0XX11) 3133-8908
SÃO PAULO – São Paulo – Brasil
<http://www.ipen.br>

O IPEN é uma Autarquia vinculada à Secretaria de Desenvolvimento, associada à Universidade de São Paulo e gerida técnica e administrativamente pela Comissão Nacional de Energia Nuclear, órgão do Ministério da Ciência, Tecnologia, Inovações e Comunicações.