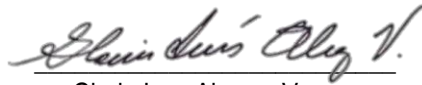


CUANTIFICACIÓN DEL PARÁSITO LEISHMANIA EN IMÁGENES DE MICROSCOPIO MEDIANTE TECNICAS DE APRENDIZAJE AUTOMATICO

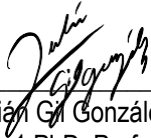
Autores: Yeffer Edilberto Díaz Cuesta y David Pinedo De la Hoz

Nota de Aceptación

Certificamos que el presente Trabajo de Grado satisface, en alcances y calidad, todos los requisitos que demanda un Trabajo de Grado de Maestría.



Gloria Ines Alvarez Vargas
PhD. Profesora / Directora Proyecto de Grado



Julián G. González
Jurado 1 PhD. Profesor



Omar Andres Castaño Idarraga
Jurado 2 MSc. Profesor

Aprobado en cumplimiento de los requisitos exigidos por la Pontificia Universidad Javeriana Cali, para optar el título de Magister en Ciencia de Datos.



HERNÁN CAMILO ROCHA NIÑO Ph. D.
Decano Facultad de Ingeniería y Ciencias



JUAN CARLOS MARTÍNEZ ARIAS
Director Posgrados de Ingeniería y Ciencias



Acta de Correcciones al Documento de Trabajo de Grado

Santiago de Cali, 22-03-2024

Autores: Yeffer Edilberto Díaz Cuesta y David Pinedo De la Hoz.

Título del Trabajo de Grado: “CUANTIFICACIÓN DEL PARÁSITO LEISHMANIA EN IMÁGENES DE MICROSCOPIO MEDIANTE TÉCNICAS DE APRENDIZAJE AUTOMÁTICO.”

Director: PhD. Prof. Gloria Inés Álvarez

Como indica el artículo 2.13 de las Directrices para Trabajo de Grado de Maestría, he verificado que el estudiante indicado arriba ha implementado todas las correcciones que los Jurados del Proyecto de Trabajo de Grado definieron que se efectuaran, como consta en el Acta de Evaluación correspondiente.



Firma del Director del Trabajo de Grado

Santiago de Cali, 07 de 01 de 2024

Ingeniera:

Gloria Ines Alvarez Vargas
Directora Maestría en Ciencia de Datos
Facultad de Ingeniería
Pontificia Universidad Javeriana - Cali

Con el fin de cumplir con los requisitos exigidos por la Universidad para llevar a cabo el Trabajo de Grado y posteriormente optar por el título de Magíster en Ciencia de Datos, nos permitimos presentar a su consideración el proyecto de Trabajo de Grado denominado "CUANTIFICACIÓN DEL PARÁSITO LEISHMANIA EN IMÁGENES DE MICROSCOPIO MEDIANTE TECNICAS DE APRENDIZAJE AUTOMÁTICO.", el cual fue realizado por los estudiantes Yeffer Edilberto Diaz Cuesta con código 8974592 y David Pinedo De la Hoz con código 8972773 perteneciente al énfasis en Sistemas y Computación, bajo la dirección de la profesora Gloria Ines Alvarez identificada con C.C. 30306105, como codirectora la profesora María Adelaida Gómez identificada con C.C. 52694776.

El suscrito director del Trabajo de Grado autoriza para que se proceda a hacer la evaluación de este Proyecto ante el Tribunal que para el efecto se designe, toda vez que ha revisado cuidadosamente el documento y avala que ya se encuentra listo para ser presentado oficialmente.

Atentamente,



Firma
Yeffer Edilberto Diaz Cuesta

C.C. 1018.484.502 de Bogotá D.C.



Firma
David Pinedo De la Hoz

C.C. 1.234.091.752 de Barranquilla



Firma
Gloria Inés Alvarez V.

C.C. 30306105 de Manizales



Firma
Maria Adelaida Gómez

C.C. 52694776 de Bogotá D.C.



Pontificia Universidad
JAVERIANA
Cali

**CUANTIFICACIÓN DEL PARÁSITO LEISHMANIA EN IMÁGENES DE
MICROSCOPIO MEDIANTE TECNICAS DE APRENDIZAJE AUTOMATICO**

**Proyecto Aplicado para optar al título de
Magister en Ciencia de Datos**

Director(a): PhD. Prof. Gloria Inés Álvarez

Codirector(a): PhD. Prof. María Adelaida Gómez

Presentado por:

Yeffer Edilberto Díaz Cuesta.
David Enrique Pinedo De la Hoz.

**Pontificia Universidad Javeriana
Facultad de Ingeniería y Ciencias
Maestría en Ciencia de Datos
Cali - Colombia
2022**

FICHA RESUMEN
TRABAJO DE GRADO DE MAESTRÍA

TÍTULO: “CUANTIFICACIÓN DEL PARÁSITO LEISHMANIA EN IMÁGENES DE MICROSCOPIO MEDIANTE TÉCNICAS DE APRENDIZAJE AUTOMÁTICO.”

1. ÉNFASIS: Sistemas y Computación
2. TIPO DE PROYECTO: Aplicado.
3. ÁREA DE TRABAJO: Aplicado al área de la salud.
4. ESTUDIANTE(S): Yeffer Edilberto Díaz Cuesta - Código: 8974592 y David Pinedo De la Hoz - Código: 8972773
5. CORREO ELECTRÓNICO: yefdiaz@javerianacali.edu.co y depinedo@javerianacali.edu.co
6. DIRECCIÓN Y TELEFONO: Carrera 78L #06 Sur – 17, Bogotá D.C. – Celulares: 3017213902 / 3052406678
7. DIRECTOR: PhD. Prof. Gloria Inés Álvarez
8. VINCULACIÓN DEL DIRECTOR: Planta
9. CORREO ELECTRÓNICO DEL DIRECTOR: galvarez@javerianacali.edu.co
10. CODIRECTOR (Si aplica): PhD. Prof. María Adelaida Gómez
11. GRUPO O EMPRESA QUE LO AVALA (Si aplica): DESTINO.
12. OTROS GRUPOS O EMPRESAS: N/A
13. PALABRAS CLAVE (al menos 5): Leishmaniasis, *Leishmania spp*, Cuantificación, Aprendizaje automático, Ciencia de Datos, Análisis de imágenes.
14. ODS QUE APLICA EL PROYECTO (Agenda 2030): ODS 3 - Salud y Bienestar
15. FECHA DE INICIO: 01-01-2023
16. RESUMEN: La Leishmaniasis, causada por el parásito protozoo *Leishmania spp.*, es una de las siete enfermedades tropicales más importantes a nivel mundial, según la Organización Mundial de la Salud (OMS) [1]. Esta enfermedad, que puede ser fatal para los humanos, tiene una alta prevalencia en varios países, afectando especialmente a las poblaciones vulnerables. En la

actualidad, los procesos de conteo manual del microorganismo son desgastantes, demorados y, en ocasiones, ineficaces debido al porcentaje de error humano. Además, estos procesos pueden afectar la salud de las personas que los realizan, debido a las largas horas que deben pasar frente a la luz directa del microscopio. En este orden de ideas, se desarrolla el presente trabajo de grado, adscrito al grupo de investigación DESTINO y al proyecto con código 2576 de la Universidad Pontificia Javeriana de Cali, titulado: "Aplicación de técnicas de aprendizaje automático a la predicción del desenlace terapéutico de la leishmaniasis cutánea". El objetivo principal de este trabajo fue crear un modelo de aprendizaje automático, basado en técnicas de ciencia de datos, que permite identificar y cuantificar la presencia de *Leishmania spp.* en imágenes de microscopio. Para lograr este objetivo, se consolidó una base de datos con imágenes que sirvieron para entrenar el modelo en la caracterización del parásito. Se procesaron los datos de las imágenes para obtener información relevante y se aplicaron distintas técnicas de aprendizaje automático para cuantificar la carga parasitaria. Finalmente, se evaluó y seleccionó el modelo que presentó el mejor rendimiento con relación al alcance inicialmente propuesto. Se espera que este proyecto impulse la aplicación de la herramienta en diferentes espacios del sector de la salud y áreas académicas, en particular, en laboratorios donde se quiera incrementar la eficiencia y rapidez en los diagnósticos de presencia del parásito protozoo *Leishmania*. De este modo, se buscó automatizar el proceso de conteo del parásito, utilizando únicamente como insumo la imagen capturada por un microscopio al observar los microorganismos presentes en los portaobjetos.

Contenido

GLOSARIO	9
INTRODUCCIÓN	11
1. DEFINICIÓN DEL PROBLEMA.....	13
1.1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	13
1.2. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA	14
2. OBJETIVOS DEL PROYECTO	16
2.1. OBJETIVO GENERAL	16
2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	16
3. MARCO DE REFERENCIA.....	17
3.1. MARCO TEÓRICO.....	17
3.2. ANTECEDENTES.....	24
4. CREACIÓN Y CONSOLIDACIÓN DE LA BASE DE DATOS	29
5. ANÁLISIS Y PROCESAMIENTO DE LAS IMÁGENES	31
6. APLICACIÓN DE TÉCNICAS DE APRENDIZAJE AUTOMÁTICO	34
7. EVALUACIÓN Y SELECCIÓN DE LOS DIFERENTES MODELOS CREADOS	40
8. RESULTADOS DE LA PREDICCIÓN DE LOS MODELOS Y METRICAS CONSEGUIDAS	45
9. CONSTRUCCION DEL INDICE DE MEDIDA	50
10. ANALISIS DE HALLAZGOS RELEVANTES EN EL DESARROLLO DEL PROYECTO DE GRADO	52
11. CONCLUSIONES Y TRABAJOS FUTUROS.....	56
11.1. CONCLUSIONES.....	56
11.2. TRABAJOS FUTUROS.....	56
12. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	58

LISTA DE ILUSTRACIONES

Ilustración 1. Distribución mundial de la leishmaniosis: en (A) se muestra el mapa de distribución mundial de la leishmaniosis cutánea, y en (B) de la leishmaniosis visceral según la OMS en el año 2018. Fuente: WHO, 2018.....	11
Ilustración 2. Ciclo biológico de Leishmania spp. Fuente: Áurea Pereira y Mónica Pérez, 2002.	18
Ilustración 3. Parásito protozario Leishmania spp en estado morfológico promastigote con proceso de tinción observado bajo microscopio. Fuente: Fernando Melgar, 2020.	19
Ilustración 4. Estructura básica de los modelos VGG. Fuente: Paras Varshney, 2023.	22
Ilustración 5. Estructura de la red preentrenada VGG19. Fuente: Hussain & Balaji, 2023	23
Ilustración 6. Estructura de la red preentrenada ResNet. Fuente: Pangilinan, Legaspi & Linsangan, 2023.....	23
Ilustración 7. Base de datos inicial con muestras infectadas con parásito Leishmania spp bajo proceso de tinción observado en microscopio. Fuente: Autores, 2023.....	30
Ilustración 8. Codificación de las imágenes de microscopio y del archivo de etiquetado con información de cada imagen. Fuente: Autores, 2023.	32
Ilustración 9. Actualización de la base de datos con las nuevas imágenes recibidas. Fuente: Autores, 2023.....	33
Ilustración 10. Primer ajuste del modelo base personalizado. En la parte izquierda se presenta la estructura general de este primer modelo y en la parte derecha una tabla con el resumen de parámetros utilizados. Fuente: Autores, 2023.....	37
Ilustración 11. Primer modelo base bajo metodología de Transfer Learning con arquitectura preentrenada VGG16. En la parte izquierda se presenta la estructura general de este primer modelo con capa VGG16 y en la parte derecha una tabla con el resumen de parámetros utilizados. Fuente: Autores, 2023.....	38
Ilustración 12. Primer modelo base bajo metodología de Transfer Learning con arquitectura preentrenada VGG19. En la parte izquierda se presenta la estructura general de este primer modelo con capa VGG19 y en la parte derecha una tabla con el resumen de parámetros utilizados. Fuente: Autores, 2023.....	38
Ilustración 13. Primer modelo base bajo metodología de Transfer Learning con arquitectura preentrenada ResNet 50. En la parte izquierda se presenta la estructura general de este primer	

modelo con capa ResNet 50 y en la parte derecha una tabla con el resumen de parámetros utilizados. Fuente: Autores, 2023.	39
Ilustración 14. Modelo final seleccionado para el proceso de conteo de células aplicando Transfer Learning con arquitectura preentrenada VGG19, en la parte izquierda se presenta la estructura general y en la parte derecha una tabla con el resumen de parámetros utilizados. Fuente: Autores, 2023.....	43
Ilustración 15. Modelo final seleccionado para el proceso de conteo de parásitos aplicando Transfer Learning con arquitectura preentrenada VGG16, en la parte izquierda se presenta la estructura general y en la parte derecha una tabla con el resumen de parámetros utilizados. Fuente: Autores, 2023.....	44
Ilustración 16. Gráficas de resultados obtenidos del modelo destinado para el conteo de células con arquitectura VGG19, de izquierda a derecha se encuentra el comportamiento de valores de error cuadrático medio (Loss), el error absoluto medio (MAE) y el coeficiente de determinación (R^2) todos estos en comparación a las épocas que transcurrieron en el proceso de entrenamiento. Fuente: Autores, 2023.....	45
Ilustración 17. Predicciones realizadas por el modelo final de conteo de células aplicado a determinadas imágenes del conjunto de prueba. Fuente: Autores, 2023.....	47
Ilustración 18. Gráficas de resultados obtenidos del modelo destinado para el conteo de parásitos con arquitectura VGG16, de izquierda a derecha se encuentra el comportamiento de valores de error cuadrático medio (Loss), el error absoluto medio (MAE) y el coeficiente de determinación (R^2) todos estos en comparación a las épocas que transcurrieron en el proceso de entrenamiento. Fuente: Autores, 2023.....	48
Ilustración 19. Predicciones realizadas por el modelo final de conteo de parásitos aplicado a determinadas imágenes del conjunto de prueba. Fuente: Autores, 2023.....	49
Ilustración 20. Interfaz básica para la comparación y predicción de imágenes de muestra. Fuente: Autores, 2023.....	51
Ilustración 21. Al lado izquierdo se muestra una de las imágenes con borde negro que presentaba inconvenientes al momento de entrenar los modelos, al lado derecho se muestra el ajuste que se llevó a cabo con la técnica de la toma de las últimas imágenes. Fuente: CIDEIM, 2023.	53

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Ejemplo de etiquetado de las imágenes de microscopio con parásito <i>Leishmania</i> spp de la base de datos creada. Fuente: Autores, 2023.	31
Tabla 2. Parámetros, valores y rangos que se ajustaron a los 4 modelos base en el proceso de búsqueda de hiperparámetros. Fuente: Autores, 2023.	42
Tabla 3. Mejores resultados obtenidos del proceso de evaluación a los múltiples modelos para la tarea de conteo de células. Fuente: Autores, 2023.	45
Tabla 4. Mejores resultados obtenidos del proceso de evaluación a los múltiples modelos para la tarea de conteo de parásitos. Fuente: Autores, 2023.	47
Tabla 5. Cálculo del índice realizado en el conjunto de imágenes de prueba. Fuente: Autores, 2023.	50

ANEXOS

Anexo 1. Enlace del script final creado en el proyecto de grado:

https://colab.research.google.com/drive/13a9lMXbNqNMXSeTKvJ_bJFk8J7Q-Vfaz?usp=sharing

Anexo 2. Enlace de carpeta con los archivos del entrenamiento de los modelos finales:

<https://drive.google.com/drive/folders/1HgaDxjSYxkxVZHYN7GS1vLeU8NjVQV0L?usp=sharing>

GLOSARIO

- ***Leishmania spp***: Género de parásitos protozoarios responsables de la enfermedad conocida como Leishmaniasis. Estos organismos son transmitidos a los humanos y otros mamíferos principalmente a través de la picadura de insectos flebótomos infectados.
- **Protozoo**: Un organismo unicelular que puede ser parásito. Los protozoos pueden presentar distintas formas y se encuentran en una variedad de ambientes.
- **Vector**: Organismo, generalmente un insecto o arácnido, que transmite un patógeno de un huésped a otro. En el caso de la Leishmaniasis, el vector es el flebótomo.
- **Flebótomo**: Un tipo de mosquito, que actúa como vector para transmitir el parásito *Leishmania spp* a los mamíferos, incluidos los humanos.
- **Leishmaniasis**: Enfermedad infecciosa causada por el parásito protozoo *Leishmania spp*, que puede presentar distintas formas clínicas, como la leishmaniasis cutánea, visceral y mucocutánea.
- **Forma promastigote**: Etapa del ciclo de vida de *Leishmania spp* que reside en el insecto vector. Se caracteriza por tener una forma alargada con un flagelo apical.
- **Forma amastigote**: Etapa del ciclo de vida de *Leishmania spp* que se encuentra en los huéspedes mamíferos, incluidos los humanos. Se caracteriza por una forma esférica u ovalada sin un flagelo visible.
- **Fisión Binaria**: Método de reproducción asexual común en organismos unicelulares, como bacterias y algunos protozoos. En la fisión binaria, una célula se divide en dos partes, cada una de las cuales se convierte en un organismo separado.
- **Flagelo Apical**: Estructura alargada y delgada semejante a un látigo presente en algunas células, como los protozoos y ciertas células bacterianas.
- **Tinción de Giemsa**: Técnica de tinción (coloración) utilizada en microbiología para visualizar diferentes tipos de células, incluidos los parásitos protozoarios como *Leishmania spp*, bajo el microscopio.

- **Aprendizaje automático (Machine Learning):** Una rama de la inteligencia artificial que implica el desarrollo de algoritmos que pueden aprender y hacer predicciones o tomar decisiones basadas en datos.
- **Redes Neuronales Convolucionales (RNC):** Un tipo de red neuronal artificial utilizada principalmente en el procesamiento y análisis de imágenes, que puede identificar y clasificar características en imágenes.
- **Histopatología:** El estudio de los tejidos enfermos y su microestructura, especialmente importante en el contexto de identificar la presencia y el impacto de enfermedades como la Leishmaniasis.
- **Microscopía Óptica:** Un método para observar muestras pequeñas o microscópicas utilizando luz visible y sistemas de lentes, crucial para identificar organismos como *Leishmania spp* en muestras de laboratorio.
- **Algoritmo (en Inteligencia Artificial):** Conjunto de instrucciones programadas para realizar tareas específicas, como procesar y analizar datos, empleando técnicas de aprendizaje automático.
- **Procesamiento de Imágenes:** La manipulación y análisis de imágenes digitales mediante algoritmos computacionales, utilizado en el presente proyecto para analizar imágenes de microscopio y detectar parásitos.
- **Hiperparámetros:** En el aprendizaje automático, son los parámetros de configuración del algoritmo que se deben definir antes del proceso de aprendizaje y que controlan el comportamiento del algoritmo.
- **Desvanecimiento del gradiente:** Desafío en el entrenamiento de redes neuronales profundas, donde los gradientes utilizados en la actualización de pesos se vuelven muy pequeños, ralentizando o deteniendo el entrenamiento.

INTRODUCCIÓN

La Leishmaniasis, causada por el parásito protozoo *Leishmania spp.*, es una de las enfermedades tropicales más graves según la Organización Mundial de la Salud (OMS). Este padecimiento puede resultar fatal y tiene una alta prevalencia en diferentes países, especialmente en poblaciones vulnerables. La relevancia social de investigar y combatir esta enfermedad es incuestionable, dada la considerable cantidad de vidas humanas que se ven amenazadas cada año. A nivel mundial la enfermedad produce un total de 70.000 muertes por año, 350 millones de personas están en riesgo de adquirir la afección y hay un aproximado de 1.5 a 2 millones de nuevos casos cada año [1].

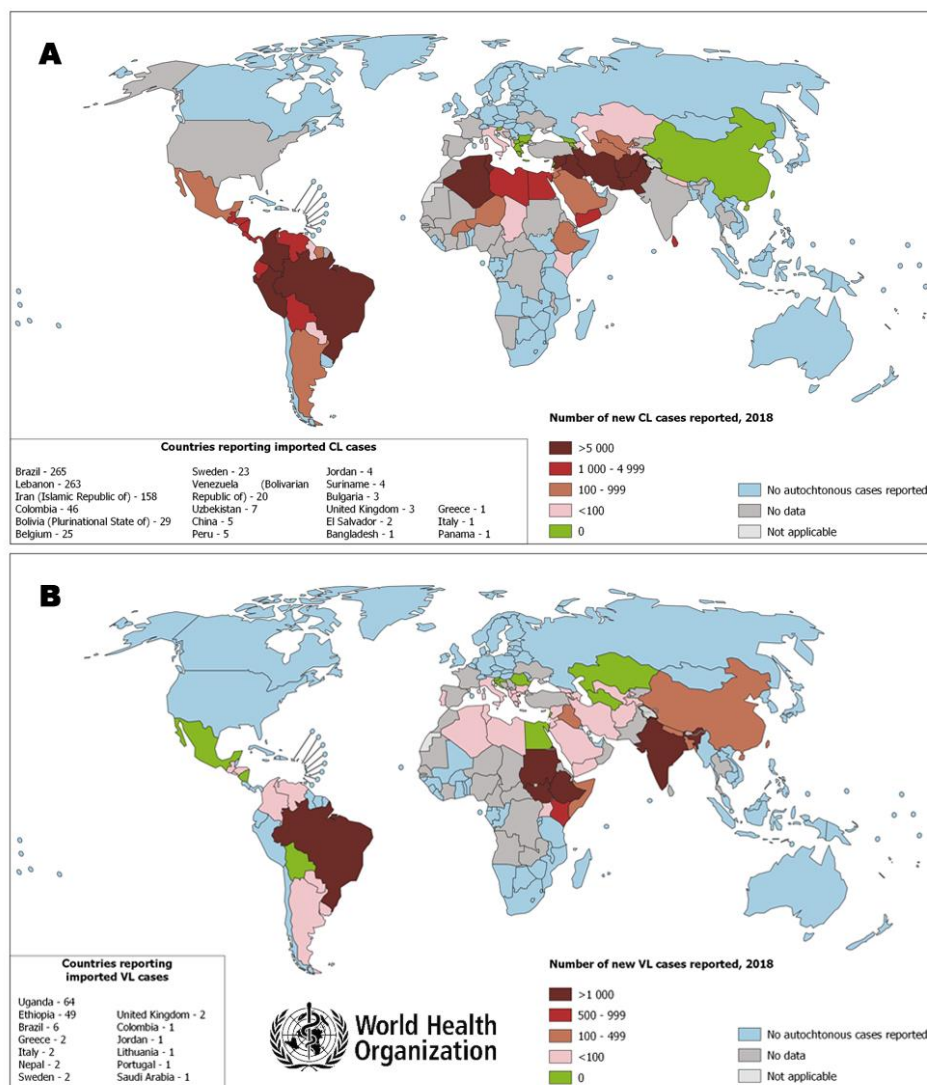


Ilustración 1. Distribución mundial de la leishmaniosis: en (A) se muestra el mapa de distribución mundial de la leishmaniosis cutánea, y en (B) de la leishmaniosis visceral según la OMS en el año 2018. Fuente: WHO, 2018.

La detección del parásito, y cuantificación precisa de la carga parasitaria en el huésped, son factores importantes para evaluar la gravedad de la infección, y es esencial para la detección, prevención y tratamiento de la enfermedad asociada a este parásito. Adicionalmente, la cuantificación de este parásito en sistemas de infección *in vitro* es necesario para poder estimar los niveles de susceptibilidad del parásito a los medicamentos, y esto es crítico para las decisiones terapéuticas. Sin embargo, este conteo se realiza tradicionalmente de manera manual, un proceso que puede ser lento y propenso a errores. Por tanto, una herramienta que automatice y mejore la precisión de este proceso es de vital importancia.

En este proyecto, adscrito al grupo de investigación DESTINO y al proyecto "Aplicación de técnicas de aprendizaje automático a la predicción del desenlace terapéutico de la Leishmaniasis cutánea" de la Pontificia Universidad Javeriana de Cali, se propone el uso de técnicas de aprendizaje automático para cuantificar la presencia de *Leishmania spp.* en imágenes tomadas de láminas de microscopio. Los hallazgos producto de este trabajo de grado son un conocimiento que se enmarca dentro de la colaboración del Centro Internacional de Entrenamiento e Investigaciones Médicas (CIDEIM) y la Pontificia Universidad Javeriana de Cali.

La implementación de estas técnicas de aprendizaje automático, especialmente las redes neuronales convolucionales (CNN), tiene el potencial de mejorar drásticamente la eficiencia y precisión en la identificación y cuantificación de *Leishmania spp.* Estos enfoques avanzan significativamente en el manejo de grandes volúmenes de datos, mejorando la robustez y generalización de los modelos. Además, se espera que estas metodologías ofrezcan mejoras en términos de velocidad de procesamiento y exactitud en la detección.

Finalmente, este documento presenta un resumen de cómo se desarrolló el proyecto, desde la definición del problema hasta los productos que se obtuvieron. Con este enfoque, se espera no solo mejorar la cuantificación de la carga parasitaria, sino también impulsar la adopción de técnicas de Machine Learning en el campo de la parasitología y la medicina en general, marcando un hito en el diagnóstico y estudio de enfermedades parasitarias a través de nuevas tecnologías.

1. DEFINICIÓN DEL PROBLEMA

1.1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La Leishmaniasis es una enfermedad causada por un parásito intracelular transmitido al humano mediante la picadura de un vector flebótomo o mosca. Esta enfermedad es endémica de las regiones de Asia, África, Europa, América del Sur y América Central. Es considerada como una de las siete enfermedades tropicales más importantes a nivel mundial por la Organización Mundial de la Salud (OMS) debido a su alto espectro de sintomatología clínica que usualmente tiene un elevado potencial de desenlace fatal (muerte del paciente). A nivel mundial la enfermedad produce un total de 70.000 muertes por año, 350 millones de personas están en riesgo de adquirir la afección y hay un aproximado de 1.5 a 2 millones de nuevos casos cada año [1].

El grado de severidad con que se presenta la enfermedad depende del tipo de parásito que infecta y del sistema inmunológico del huésped (persona infectada), su diversidad clínica va desde infecciones asintomáticas hasta síntomas localizados con presencias de úlceras o infecciones fatales. Por lo general, se divide en tres tipos de afectación dependiendo de su sintomatología, cuando se presenta un enrojecimiento e hinchazón en la zona localizada en la picadura, y en muchos de los casos úlceras, se conoce como Leishmaniasis Cutánea (LC), cuando la localización de las úlceras se da de manera dispersa por el cuerpo del infectado se conoce como Leishmaniasis Cutánea Diseminada, en las mucosas como Leishmaniasis Mucocutánea (MCL), por último, el tipo de infección más peligrosa es la Leishmaniasis Visceral (LV) esta ocurre cuando el parásito infecta los diferentes órganos de su huésped, particularmente suelen ser el hígado y el bazo, en donde destruye la células inmunológicas y produce la muerte de no realizarse el tratamiento adecuado [2].

Uno de los procedimientos ampliamente utilizados para la detección del parásito y reconocimiento de otros microorganismos es mediante el conteo en los portaobjetos (lámina) y cubre objetos (laminilla) del microscopio, con la ayuda de los procesos de tinción que son los que permiten dar color a las paredes celulares de los microorganismos para poderlos diferenciar [3]. Los actuales procesos de conteo y manejo de las muestras microbianas por lo general son tareas que se realizan

de manera manual, requieren tiempo y paciencia. Y aunque actualmente se han desarrollado diferentes métodos de detección del parásito en diversos tipos de muestras con modelos de aprendizaje automático, no se encontró información de ninguno que haga la tarea de contar la cantidad de parásitos (unidades de *Leishmania spp.* presentes en las muestras).

Los largos períodos de tiempo frente al lente de un microscopio exponiéndose a una fuente de luz de manera continua, son una problemática confirmada del deterioro visual en humanos como trabajadores de la salud, investigadores y personal en el área de la microbiología [4]. Las extensas jornadas de trabajo afectan la retina y producen el denominado Síndrome de Fatiga Ocular (SFO) la cual es una enfermedad reconocida por la Organización Internacional del Trabajo (OIT) como una de las enfermedades que entran a clasificarse bajo tipo laboral [5]. Esto produce en los afectados síntomas como ojos adoloridos, visión borrosa, mayor sensibilidad a la luz, dificultad para concentrarse, ojos llorosos o secos [6], y en algunos casos problemas más severos como trastornos visuales (visión fragmentada y diplopía) y síntomas extraoculares (cefalea, vértigo, molestias cervicales, náuseas); estos problemas ocasionan pérdida a largo plazo de la visión afectando considerablemente la calidad de vida de las personas que los sufren [5].

Es por estas razones que se desarrolla un proceso de automatización mediante técnicas de aprendizaje automático, tomando únicamente como insumo las imágenes capturadas por la lente del microscopio, lo cual disminuye el esfuerzo realizado por parte del personal interesado en la tarea de conteo de microorganismos en específico del protozoo *Leishmania spp.*, ahorrando tiempo y mejorando la detección rápida de carga parasitaria en diferentes muestras.

1.2. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

La detección del parásito se convierte en un factor fundamental al momento de diagnosticar la enfermedad de un paciente infectado por *Leishmania*. La cuantificación de la carga parasitaria en infecciones experimentales, o en muestras humanas, sirve como insumo para guiar la decisión clínica en el uso de posibles tratamientos; sin embargo, debido a que los procesos de conteo manual son tareas que requieren de tiempo, esfuerzo y que pueden repercutir en posibles afectaciones a la objetividad de los resultados y a la salud ocular por cuenta de las largas jornadas necesarias para

el conteo del parásito protozoo *Leishmania spp.* en investigadores, trabajadores de la salud y personal de otras áreas; se plantea el siguiente interrogante:

¿Cómo se podría realizar la cuantificación automática del parásito *Leishmania* a partir de la imagen obtenida de una muestra en lámina de microscopio?

2. OBJETIVOS DEL PROYECTO

2.1. OBJETIVO GENERAL

Crear un modelo basado en ciencia de datos aplicando técnicas de aprendizaje automático que permita realizar el conteo en imágenes de láminas de microscopio de los parásitos *Leishmania* presentes en diferentes muestras.

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Consolidar una base de datos a partir de diferentes imágenes realizadas a muestras en láminas de microscopio donde se encuentre presente el parásito protozoo *Leishmania*.
- Procesar los datos de las imágenes que se encuentran alojadas en la base de datos mediante el desarrollo de un análisis detallado.
- Aplicar distintas técnicas de aprendizaje automático para cuantificar la carga de microorganismos presentes en las imágenes de las muestras.
- Evaluar los resultados obtenidos por los modelos de aprendizaje automático seleccionando el que más se ajuste a los parámetros requeridos.

3. MARCO DE REFERENCIA

3.1. MARCO TEÓRICO

Análisis de Microorganismos

Los microorganismos son organismos vivos diminutos que pueden ser unicelulares, pluricelulares o acelulares. El análisis tradicional de microorganismos puede clasificarse en cuatro categorías: químico, físico, biológico molecular y morfológico. Cada uno de estos métodos tradicionales posee unas ventajas y desventajas ya identificadas en la literatura. El método de análisis por observación a través del microscopio o análisis de imágenes de microorganismos recae en la categoría de análisis morfológico y es considerado el más costo-efectivo, en tanto, su ventaja principal es que el tiempo de testeo es corto en comparación con sus contrapartes y su desventaja principal es que los operadores requieren de un largo tiempo de entrenamiento para capacitarse en esa actividad. No obstante, la objetividad de los resultados depende de las condiciones personales del investigador (experiencia, carga de trabajo, estado de ánimo) al momento de realizar el análisis en el microscopio, por lo tanto, el desarrollo de sistemas automáticos de análisis de imágenes de microorganismos es de suma relevancia [7].

Leishmaniasis

La Leishmaniasis es una enfermedad transmitida por la picadura de un flebótomo infectado (mosca hembra) causada por un microorganismo, el parásito protozoo del género *Leishmania* [8] del cual han sido identificadas 22 especies, 15 de ellas patógenas para el ser humano [9] y se tiene conocimiento de un aproximado de 90 especies diferentes de vectores que se involucran en todo el proceso de transmisión [10]. La enfermedad es endémica de las regiones de África, las Américas, Mediterráneo Oriental, Asia suroccidental, Europa y se presenta aproximadamente en 70 países repartidos en esas zonas [11].

Leishmania spp es un parásito protozoario con morfología esférica u ovalada, tiene un núcleo y una sola mitocondria en el citoplasma (cinetoplasto) y tiene un tamaño aproximado de 1.5 a 2.5 por 3 a 6 micras. Su reproducción se trata de un proceso de fisión binaria y en su estado promastigote infectivo tiene forma alargada con un flagelo apical [12]. A continuación, se presenta un breve diagrama que resume los estados del ciclo biológico del parásito:

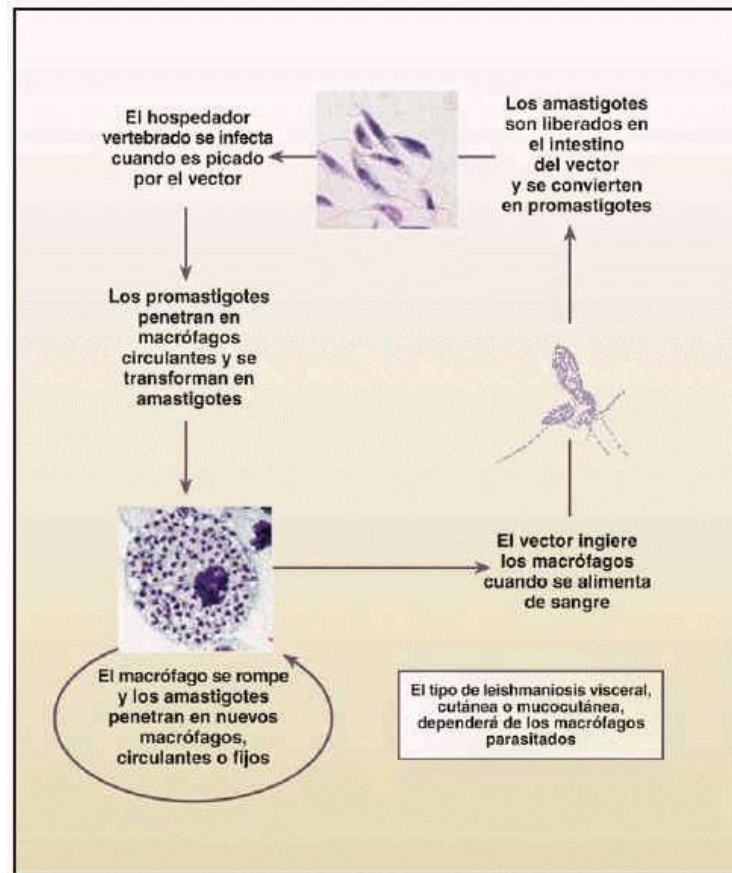


Ilustración 2. Ciclo biológico de Leishmania spp. Fuente: Áurea Pereira y Mónica Pérez, 2002.

La *Leishmania spp.* tiene dos estados diferentes de morfología en su lapso de vida, la forma promastigote que reside en el insecto vector flebótomo, y la forma amastigote que reside en los huéspedes mamíferos [13]. El proceso de transmisión inicia desde cuando el vector se infecta al consumir sangre de un mamífero que contiene el parásito en forma de amastigote y durante aproximadamente 4 a 25 días el parásito se desarrolla y cambia de morfología a promastigote, aumentando su número y migrando a la parte frontal del zancudo, a la faringe y probóscide (extremidad alargada con la que pica), para ser inyectado en la siguiente picadura. Los reservorios naturales tienen un estado óptimo en un clima cálido con una temperatura media que va desde los 25° hasta los 30° [14]. Para sobrevivir el parásito ha creado una serie de mecanismos que le han permitido ser resistente a las enzimas digestivas de los flebotomos y crear una defensa a las respuestas inmunológicas de los huéspedes, se ha informado que algunas especies de *Leishmania spp.* están latentes en sus hospedadores por décadas e incluso por toda la vida del mamífero [13].

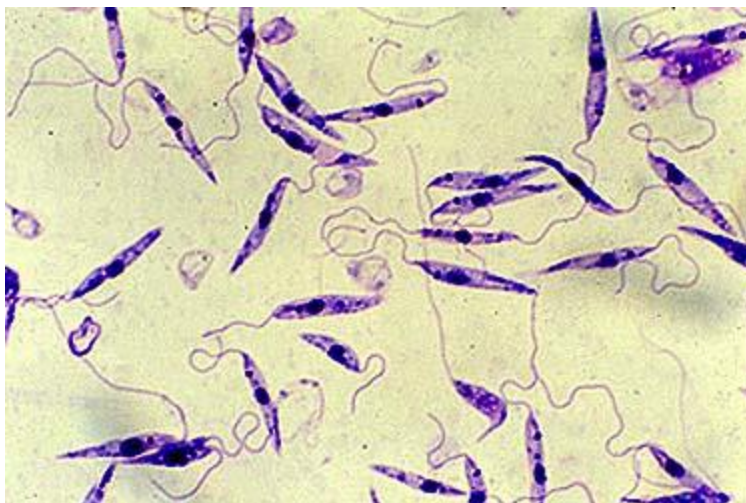


Ilustración 3. Parásito protozooario Leishmania spp en estado morfológico promastigote con proceso de tinción observado bajo microscopio. Fuente: Fernando Melgar, 2020.

La Leishmaniasis presenta tres formas principales de afectación a pacientes, la Leishmaniasis visceral (LV), si no se trata, es mortal en aproximadamente el 95% de los casos, esta es considerada una de las principales enfermedades parasitarias con la facultad de generar brotes y muertes. La mayoría de los casos se registran en Brasil, África oriental e India; para el año 2020 más del 90% de los nuevos pacientes reportados a la OMS se dieron principalmente en 10 países: Brasil, Somalia, Sudán, China, Eritrea, Sudán del Sur, Etiopía, India, República de Kenia y Yemen. Por otro lado, se encuentra la Leishmaniasis cutánea (LC) que, por lo general, se presenta en zonas expuestas del cuerpo o en heridas previas de tipo cutáneo, y normalmente produce lesiones ulcerosas que dejan cicatrices y en algunos casos más graves causan discapacidad. En el año 2020, más del 85% de los nuevos casos que se presentaron de este tipo se dieron en los siguientes 10 países: Afganistán, Libia, Pakistán, Perú, Argelia, Brasil, República Árabe Siria, Colombia, Iraq y Túnez. Y, por último, está la Leishmaniasis mucocutánea (MCL) la cual produce daños parciales o totales a las membranas mucosas de la nariz, la boca y la garganta del huésped. Más del 90% de este tipo de casos se presenta en Bolivia, Brasil, Etiopía y Perú [10]. Los principales factores de riesgo en procesos de transmisión del parásito son las condiciones socioeconómicas, malnutrición, movilidad de poblaciones y cambios climáticos y ambientales [10].

El proceso utilizado para poder observar el parásito en el microscopio es mediante una coloración realizada bajo diferentes técnicas de tinción como, por ejemplo, la de Giemsa o Gaffney, que

consisten en la combinación de sustancias colorantes con pH específicos que permiten teñir la estructura celular del microorganismo para poder diferenciar las especies presentes en una muestra [15].

Inteligencia Artificial

La medicina, la histopatología y la microbiología se han visto impactadas positivamente por los avances en la ciencia de datos y la computación a través de la implementación de la Inteligencia Artificial (IA) para resolver problemas, facilitar la toma de decisiones y optimizar tareas. La IA se entiende como el conjunto de sistemas computarizados que realizan tareas que normalmente requerirían de la inteligencia humana para llevarse a cabo [16] y cubre un espectro amplio de problemas que incluye -mas no se limita a- la percepción, reconocimiento, análisis y toma de decisiones utilizando una máquina o computador [17].

Aprendizaje Automático

El aprendizaje automático o *Machine Learning* (ML) es una rama de la IA que hace referencia a algoritmos numéricos utilizados para analizar datos y desarrollar capacidades para tomar decisiones con el propósito de concretar tareas específicas [17]. El ML tiene sus propios métodos y ramificaciones, tales como: *Supervised Learning*, *Unsupervised Learning*, *Active Learning*, *Transfer Learning*, *Deep Learning*, entre otros.

El aprendizaje supervisado (*Supervised Learning*) hace referencia a la estrategia de aprendizaje que consiste en entrenar un modelo utilizando datos previamente etiquetados con una correspondencia entre los datos de entrada y lo que se espera como resultado en los datos de salida, de tal modo, que se hace explícita la exigencia de cumplimiento de esta correspondencia por parte del modelo [17]. Este tipo de aprendizaje suele ser utilizado principalmente para resolver problemas de clasificación y regresión [18]. El aprendizaje no supervisado o *Unsupervised Learning* utiliza algoritmos para analizar y agrupar conjuntos de datos no etiquetados, logrando encontrar patrones ocultos en los datos sin necesidad de una dirección específica del programador, los modelos de este tipo se utilizan principalmente para tres tareas diferentes, como lo son asociación, agrupación y reducción de la dimensionalidad [18]. El aprendizaje activo (*Active Learning*) es un método utilizado dentro del proceso de aprendizaje supervisado que consiste en

la selección de aquellas instancias no etiquetadas que tienen una mayor probabilidad de mejorar el poder de discriminación del modelo, en caso de que se etiqueten correctamente para luego ser utilizadas como parte del entrenamiento [19].

El aprendizaje de transferencia (*Transfer Learning*) es un método de ML que consiste en la implementación de un modelo utilizando parámetros de otros modelos previamente optimizados para realizar tareas similares, dejando únicamente algunas capas finales, típicamente tres, cuyos parámetros serían entrenados con los datos propios de la tarea en cuestión. Este método es de relevancia, especialmente en aprendizaje profundo, por la cantidad de parámetros a calcular; en tanto, los modelos supervisados en escenarios de escasez de datos tienden a producir generalizaciones imprecisas en sus estimaciones [19].

Aprendizaje Profundo y Redes Neuronales Artificiales

El aprendizaje profundo o *Deep learning* (DL) se refiere a una rama del ML que está conformada por un conjunto de métodos que emplean modelos jerárquicos de gran escala con arquitecturas de múltiples capas para aprender patrones complicados de los datos [17]. Las Redes Neuronales Artificiales (RNA) son un tipo de algoritmo de aprendizaje automático que constituye la base de la mayoría de los métodos de DL; estos modelos están constituidos por neuronas interconectadas (o nodos) organizadas en capas, con funciones de activación y parámetros (conocidos como pesos y sesgos) asociados a cada neurona [20]. Además, existen distintos tipos de RNA, tales como: Redes Neuronales Profundas (RNP), Redes Neuronales Recurrentes (RNR), Redes Neuronales Convolucionales (RNC), entre otros. Las RNPs son en esencia un tipo de RNAs cuya característica principal es que cuenta con un gran número de capas. Funcionan de tal modo que, las neuronas dentro de una capa reciben información desde la capa inmediatamente anterior, la procesa para luego pasar el resultado a la capa siguiente, siguiendo este mismo proceso de manera sucesiva desde la primera capa hasta la última, de donde saldrán los resultados del modelo [17].

Las RNCs son un tipo de RNA que toma los datos numéricos procedentes de las imágenes, utiliza un kernel para realizar una convolución de los datos procedentes de los píxeles de la imagen original para producir una imagen nueva en cada capa, llamada imagen de característica o *feature image*, que a su vez alimenta a la capa subsiguiente. Ese proceso de transformación convolucional

permite reducir la capacidad de cómputo necesaria para analizar imágenes de diversas escalas de resolución [17].

En el ámbito del aprendizaje profundo y la visión por computadora, están las arquitecturas de redes neuronales convolucionales como VGG16, VGG19 y ResNet [21]. Las redes VGG tiene 3 capas completamente conectadas, las cuales pueden variar de VGG11 a VGG19 según el número total de capas convolucionales + capas completamente conectadas [22].

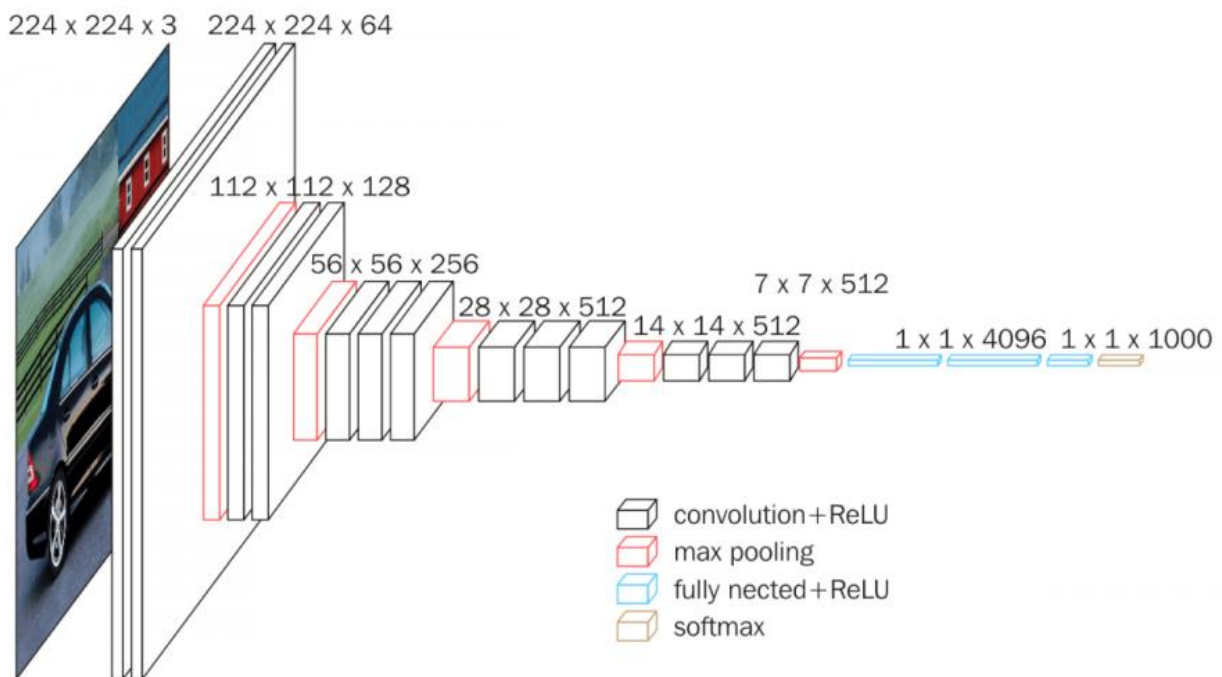


Ilustración 4. Estructura básica de los modelos VGG. Fuente: Paras Varshney, 2023.

VGG16 y VGG19, desarrollados por el Visual Graphics Group de la Universidad de Oxford, son ejemplares por su estructura uniforme, compuesta principalmente de capas convolucionales de 3×3 y por su capacidad para manejar eficazmente las tareas de procesamiento de imágenes a pesar de su relativa simplicidad [23].

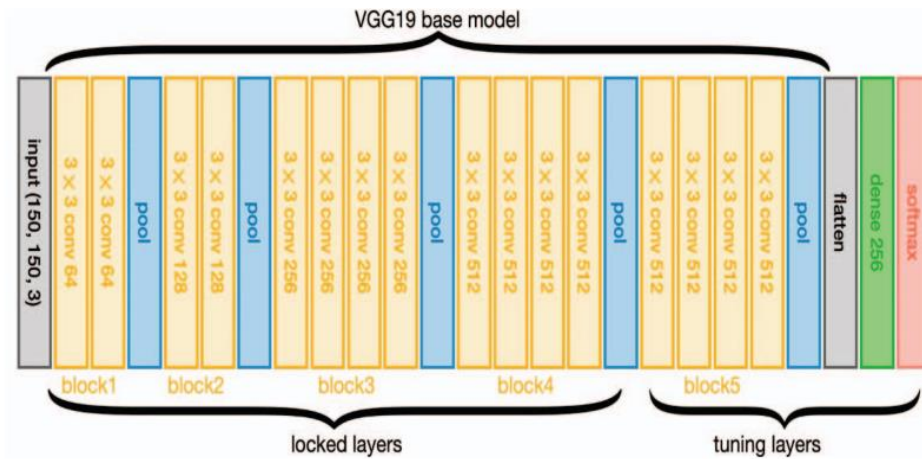


Ilustración 5. Estructura de la red preentrenada VGG19. Fuente: Hussain & Balaji, 2023

ResNet, por otro lado, introducido por investigadores de Microsoft, representa un avance significativo en el diseño de redes profundas. Su innovación radica en la implementación de 'Conexiones Residuales' que mitigan el problema del desvanecimiento del gradiente, permitiendo un entrenamiento efectivo en redes con una profundidad considerablemente mayor [24].

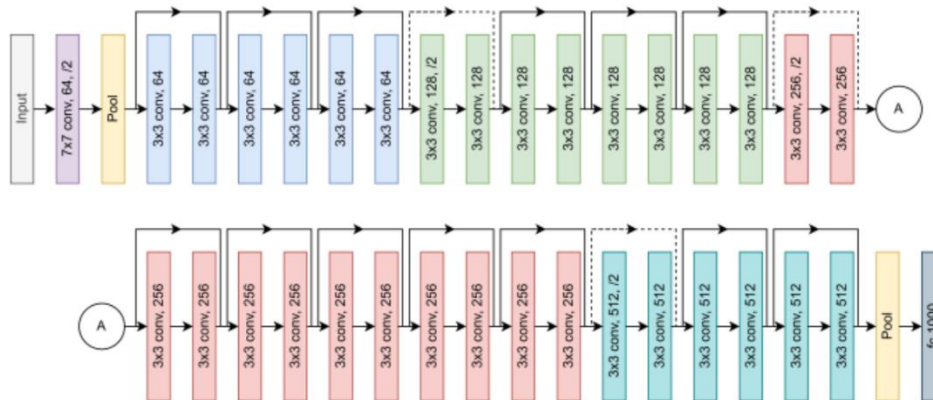


Ilustración 6. Estructura de la red preentrenada ResNet. Fuente: Pangilinan, Legaspi & Linsangan, 2023

Estas arquitecturas no solo han demostrado ser fundamentales en el avance de la clasificación de imágenes y el reconocimiento de patrones, sino que también han sentado las bases para desarrollos futuros en el campo de la inteligencia artificial. Los modelos VGG como ResNet fueron entrenados con ImageNet [25], una base de datos con más de 14 millones de imágenes de propósito general con sus respectivas etiquetas de clasificación.

3.2. ANTECEDENTES

El ML ha sido ampliamente aplicado a tareas de análisis de microorganismos, tales como, segmentación ambiental, detección y clasificación. Utilizando métodos convencionales (Support Vector Machine (SVM), K-Nearest Neighbor (KNN), Bosque Aleatorio, entre otros) y métodos no convencionales (RNAs) [7]. En principio, debido a la incipiente capacidad de computación, la utilización de métodos convencionales constituía la regla general, pero recientemente, gracias al aumento de la capacidad de cómputo las RNAs, particularmente las RNCs, se prefieren por su desempeño superior en las tareas referentes al análisis de imágenes [7].

El ML se ha aplicado también al análisis de imágenes en la medicina de múltiples formas. Komura e Ishikawa presentan una revisión de métodos de aprendizaje automático para análisis de imágenes histopatológicas. En esa revisión, mencionan aplicaciones comunes del ML en la medicina como el Diagnóstico Asistido por Computadora (DAC), Recuperación de Imágenes Basadas en Contenido (RIBC) y el descubrimiento de nuevas relaciones clínico-patológicas. El DAC consiste en la aplicación de aprendizaje supervisado para ayudar al patólogo a diagnosticar una enfermedad a través de imágenes digitales, resaltando también otras tareas relacionadas con el diagnóstico como la segmentación de regiones de interés (e.g. regiones con tumores), identificación de etapas en casos de cáncer, detección y cuantificación de invasión vascular, entre otras. La RIBC consiste en la recuperación de imágenes similares a una imagen de referencia, esta es especialmente útil en el proceso de diagnóstico de casos raros y enfermedades huérfanas. Además, para el descubrimiento de nuevas relaciones clínico-patológicas, se hace uso de los cada vez más abundantes datos disponibles en forma de imágenes patológicas digitales, resonancias magnéticas y tomografías para analizar relaciones entre comportamientos clínicos como, por ejemplo, la relación entre la textura identificada en una mamografía y la prognosis de un paciente con cáncer de glándulas mamarias [19].

Cabe resaltar que la escasez de datos de entrenamiento se presenta como uno de los mayores retos para el análisis de imágenes a nivel celular y la clave del éxito de los modelos de aprendizaje profundo en tareas de reconocimiento de imágenes recae sobre la gran abundancia de datos de entrenamiento. Pues, a diferencia de las imágenes utilizadas para identificación de objetos generales que pueden ser clasificadas correctamente por cualquier persona, las imágenes

patológicas solamente pueden ser clasificadas con precisión por un experto, requiriendo en muchos casos de un gran esfuerzo para asignar las etiquetas en tareas de segmentación o conteo [19]. Para afrontar el reto de insuficiencia de datos de entrenamiento, se han planteado estrategias como la utilización de herramientas con interfaces de usuario sencillas de usar y que permita al experto etiquetar más imágenes en menos tiempo; la utilización de *Active Learning* para aumentar el desempeño del modelo con una menor cantidad de imágenes etiquetadas, reduciendo el tiempo de etiquetado para un mismo nivel de desempeño; la utilización de *Transfer Learning* para RNCs, de tal modo, que se toma un modelo de aprendizaje profundo previamente entrenado y optimizado para otra tarea (similar) y aquellas capas anteriores a las tres últimas capas completamente conectadas se congelan, mientras las últimas capas se reemplazan por una red ajustada a la tarea objetivo (afinamiento o fine-tuning). Se conocen casos que han logrado excelente desempeño en tareas de clasificación y segmentación de imágenes cerebrales y del colon utilizando características extraídas de una RNC entrenada en ImageNet, una base de datos de gran escala con imágenes de propósito general [26].

En cuanto a tareas de conteo de elementos en imágenes de láminas de microscopio, Wit y Bussher (1998) plantearon un modelo de Red Neural Clásica (no profunda) entrenando el modelo con imágenes en escala de grises de tamaño 9 x 9 píxeles, extraídas de porciones de imágenes de microscopio originales completas de 512 x 512 píxeles. El modelo resultó con un *accuracy* de 93%-98%. Por otro lado, Aydin et al. (2017) aplica un método de segmentación basado en SegNet para analizar imágenes de levadura en microscopio, la muestra fue de 6000 imágenes de entrenamiento, 1200 de validación y 1200 de prueba o testeo [7].

El uso de la ciencia de datos como herramienta para procesar información y automatizar procesos en el área de la medicina, la biotecnología y la microbiología ha venido tomando una fuerza considerable en los últimos años, en especial en la detección de enfermedades y microorganismos presentes en las muestras. Ejemplo de esto es el trabajo hecho por Jihyun Park y sus colegas que tenía como objetivo tomar imágenes de medios de cultivo inoculados y obtener el número total de colonias presentes bajo la medida microbiológica de la unidad formadora de colonias (UFC); esto lo lograron con la creación de dos modelos de predicción que utilizaron algoritmos de KMeans y CNN respectivamente, para finalmente ser concatenados en un meta algoritmo de Boosting [27].

Un estudio realizado en el año 2020 muestra la comparación de diferentes trabajos en el desarrollo de métodos de aprendizaje automático para detectar el parásito de la enfermedad de Chagas, este estudio fue realizado por la Facultad de Matemáticas en la Universidad Autónoma de Yucatán, los autores mostraban cómo se usaba normalmente algoritmos automatizados que permitían la segmentación y clasificación de imágenes, por ejemplo, un proyecto que se desarrolló con base en un total de 120 imágenes, de las cuales 60 tenían la presencia del parásito. Para esto enfatizaban el uso frecuente de tres algoritmos robustos los cuales eran AdaBoost, RNAs y SVMs, concluyendo que gran parte de los estudios usan metodologías de alto desempeño en la obtención en los resultados, clasificación, detección y segmentación de objetos [28].

Un trabajo desarrollado por la School of Medical Science and Technology - IIT Kharagpur en India, muestra cómo se elaboró la caracterización y clasificación del parásito de la malaria en muestras de sangre con ayuda de métodos de aprendizaje automático. Para esto los autores mediante un preprocesamiento estadístico extraen un total de 96 características de los eritrocitos con relación a células infectadas y no infectadas. Para el modelo se diseñó un esquema de clasificación y selección en base a procesos de aprendizaje estadístico, aprendizaje Bayesiano y máquinas de soporte vectorial (SVM). Obtuvieron como resultado un rendimiento considerable del método con enfoque Bayesiano con una precisión del 84% en comparación al SVM que obtuvo un 83.5% [29]. Se presenta un trabajo similar desarrollado más recientemente en el año 2017, por parte de la Universidad de Sudáfrica en la facultad de ciencias, ingeniería y tecnología. Utilizando técnicas de segmentación Watershed, se encuentran ciertas características relevantes en la diferenciación de eritrocitos infectos y no infectados por el parásito de la Malaria. Se utilizaron seis técnicas de aprendizaje automático para la clasificación, entre las que se encuentran Linear SVM, Quadratic SVM, Fine Gaussian SVM, Cosine KNN, Boosted Tree y Subspace KNN. Se obtuvo que mediante el método Fine Gaussian SVM se lograba una tasa de verdaderos positivos TPR por sus siglas en inglés del 99.8% [30].

Con relación a la enfermedad de Leishmaniasis, en principio se encuentra una investigación realizada por tres universidades de Brasil con el objetivo de lograr una clasificación diagnóstica de la enfermedad en Caninos mediante procesos de aprendizaje automático. Se realizan un total de 340 pruebas en perros, utilizando 18 características del animal y la prueba de serología como

método de validación. Los autores eligieron cuatro modelos de aprendizaje automático, los cuales fueron KNN, Naïve Bayes, SVM y modelos de regresión logística. El modelo que mejor desempeño tuvo fue el de regresión logística, con el que obtuvieron un 75% de precisión, 84% de sensibilidad y 67% de especificidad [31].

Por otro lado, un estudio realizado en el Journal of Physics: Conference Series muestra el desarrollo de un modelo para la detección semi automática de las formas evolutivas de Leishmaniasis visceral en frotis de sangre con imágenes de microscopio, como fuente de datos se utilizó las imágenes tomadas por una cámara digital (Sony DSC-H9) acoplada a un microscopio óptico (Olympus-CH40RF200) que permitía generar imágenes a color. Utilizando como métodos transformaciones de imágenes RGB a escala de grises, método de Canny filter, transformación de Hough generalizada, reconstrucción de la imagen 3D y filtros Gaussianos, que al final permitían hacer un mapeo de las regiones de la imagen procesando y segmentando la información para obtener la presencia de Leishmaniasis visceral en la sangre y el posible estado de desarrollo que esta tenía [32].

Por último, se encuentra un estudio de la revista BMC Infectious Diseases que muestra el desarrollo de un sistema de machine learning para la detección de la enfermedad de Leishmaniasis cutánea con imágenes de microscopio, tomando como base de datos un total de 300 imágenes extraídas de exámenes clínicos realizados en laboratorio de biopsias a lesiones fijas, trituradas o aspiradas a posibles pacientes contagiados con la enfermedad. Para ese trabajo se utilizó el algoritmo de Viola-Jones con el objetivo de extraer características, crear imágenes integrales y procesos de clasificación, todo esto mediante técnicas aplicadas de AdaBoost para seleccionar las características discriminadas y hacer entrenamiento al modelo. Al final se obtuvo un sistema de detección fácil de usar, rápido y con alta relación costo / eficiencia que permitía realizar el análisis de imágenes para la detección de la enfermedad con un grado de exactitud sobre el 60% [33].

El modelo de aprendizaje automático planteado en este documento como se indica en la sección de justificación se diferencia de otros proyectos consultados, ya que el enfoque de esos trabajos es principalmente en la detección del parásito o de la enfermedad en los pacientes, más no en el proceso de conteo y carga parasitaria en las muestras, es por esta razón que este proyecto puede llegar a ser un complemento que suma valor a futuros trabajos que se desarrollen, permitiendo

agregar una aproximación de la cantidad de parásitos *Leishmania spp.* presentes en la muestra a los procesos de detección.

4. CREACIÓN Y CONSOLIDACIÓN DE LA BASE DE DATOS

El desarrollo de este proyecto siguió una secuencia de pasos bien definidos para asegurar su éxito. Se realizaron reuniones periódicas con los tutores, directora y codirectora del trabajo de grado. Estos encuentros no solo sirvieron para aclarar aspectos del desarrollo del proyecto, sino que también proporcionaron una plataforma valiosa para el intercambio de ideas, la resolución de problemas y la solicitud de apoyo en la obtención de información y datos necesarios para el avance del trabajo. En paralelo a las reuniones, se realizó una revisión documental profunda sobre procesamiento de imágenes e inteligencia artificial, con especial atención a los recursos bibliográficos sugeridos por los docentes que apoyan el proyecto, por ejemplo, el libro *Hands-On Machine Learning* [34]. En particular, se hizo hincapié en el estudio de las redes neuronales artificiales con Keras y el uso de redes convolucionales para el aprendizaje profundo con visión computacional, lo que permitió establecer una base teórica sólida para el enfoque técnico del proyecto.

El primer objetivo específico de este proyecto fue consolidar una base de datos a partir de imágenes de muestras en láminas de microscopio donde se encontraba presente el parásito *Leishmania spp.* Para ello, se solicitó al CIDEIM (Centro Internacional de Entrenamiento e Investigaciones Médicas) las imágenes de las muestras, las cuales se recibieron a finales del mes de marzo de 2023. Ese primer conjunto de imágenes se sometió a un meticuloso proceso de selección y limpieza inicial. Cada imagen se evaluó cuidadosamente en términos de su calidad, resolución y presencia del microorganismo, asegurando que todos los datos incluidos en la base fueran relevantes y de buena calidad. Este proceso fue crucial para garantizar la fiabilidad de los datos con los que se alimentaría posteriormente los modelos de aprendizaje automático. Hasta ese punto, se había logrado consolidar una base de datos inicial, que permitió tener un primer recurso con muestras con y sin el parásito. El resultado de ese proceso se muestra a continuación:

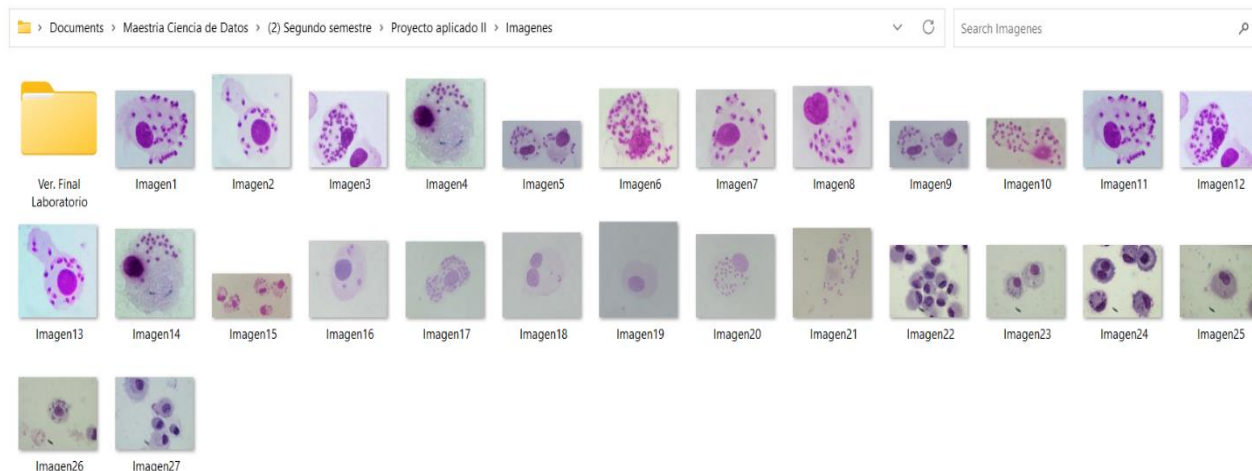


Ilustración 7. Base de datos inicial con muestras infectadas con parásito Leishmania spp bajo proceso de tinción observado en microscopio. Fuente: Autores, 2023.

Para el mes de octubre del mismo año, se logró obtener un nuevo consolidado de imágenes con aproximadamente 100 unidades más. Este nuevo grupo de datos incluyó imágenes positivas (células infectadas) y también negativas (células no infectadas) que permitieron complementar la base de datos inicial, proporcionando así un número más amplio y diversificado de datos para el entrenamiento y validación de los modelos de aprendizaje automático que se crearon a lo largo del proyecto. Esta expansión de la base de datos no solo aumentó la cantidad de muestras disponibles para el análisis, sino que también enriqueció la variabilidad y representatividad del conjunto de datos, elementos clave para el éxito en la aplicación de técnicas de aprendizaje profundo aplicadas a las redes convolucionales.

5. ANÁLISIS Y PROCESAMIENTO DE LAS IMÁGENES

El siguiente objetivo abarcaba la acción de procesar los datos de las imágenes que se encuentran alojadas en la base de datos mediante el desarrollo de un análisis detallado. Con relación a ese proceso se inició con un minucioso trabajo de etiquetado de cada imagen, una tarea en la que con colaboración del CIDEIM y la ayuda de profesionales expertas en el área de microbiología se logró hacer un etiquetado de células y parásitos presentes en cada una de las de imágenes que se tienen en la base de datos antes mencionada. Esta fase inicial fue esencial para garantizar que cada célula y parásito presente en las imágenes estuviera correctamente identificado, lo cual es fundamental para la precisión de los modelos de aprendizaje automático que se desarrollarían posteriormente. El archivo de este proceso de etiquetado presentaba el recurso con una estructura sencilla tipo tabla que contenía tres columnas:

- **Código de la foto:** Código único que se utilizaba como nombre de la imagen e identificador de los datos de la respectiva imagen en la tabla.
- **Conteo de células:** Número de la cantidad de células presentes en la imagen.
- **Conteo de parásitos por campo:** Número de la cantidad de parásitos presentes en la imagen.

La anterior estructura se muestra con algunos ejemplos en la siguiente tabla:

Codigo de la foto	Conteo de celulas	Conteo de párasitos por campo
Lamina 009-1	5	9
Lamina 009-2	6	16
Lamina 009-3	4	9
Lamina 009-4	5	15
Lamina 009-5	5	32
Lamina 009-6	12	0
Lamina 009-7	17	0
Lamina 009-8	4	24
Lamina 009-9	19	0
Lamina 009-10	4	8
Lamina 009-11	3	65
Lamina 009-12	3	65
Lamina 011-1	12	24
Lamina 011-2	6	6
Lamina 011-3	6	4

Tabla 1. Ejemplo de etiquetado de las imágenes de microscopio con parásito Leishmania spp de la base de datos creada. Fuente: Autores, 2023.

En este punto se presentó uno de los primeros desafíos en el desarrollo del proyecto, se trataba de una discrepancia en la codificación que se envió en las etiquetas en la columna “Código de la foto” ya que no coincidía en muchos casos con el nombre de las imágenes que se tenían compiladas en

la base de datos. Esta situación se debió a protocolos en el proceso de nombramiento de algunas muestras por parte del CIDEIM, para resolver esto se realizó una sesión de trabajo en conjunto con la profesional experta en el área de microbiología que estaba apoyando esta tarea, donde se revisaron y corrigieron las diferencias en ese proceso de etiquetado. Esta sesión fue crucial para asegurar la coherencia y exactitud en la base de datos.

Posteriormente, bajo las indicaciones recibidas, se consolidó la información general de la base de datos (BD) haciendo una estandarización y codificación de los nombres de las imágenes, un paso vital para facilitar su manejo y comprensión en las etapas subsiguientes. Simultáneamente también se realizó una limpieza profunda de los datos, eliminando aquellas imágenes que no cumplían con los estándares requeridos debido a sus características (baja resolución, coloración, rotación, duplicados, etc.) no resultaban necesarias para el proceso. Este proceso de limpieza mejoró la calidad de la base de datos y permitió asegurar que las imágenes restantes fueran las más adecuadas para el entrenamiento de los modelos, por otro lado, también implicó la creación de una carpeta con una única ruta de la BD y el ajuste al documento general de etiquetado de las imágenes. Los resultados de esta actividad se muestran a continuación:

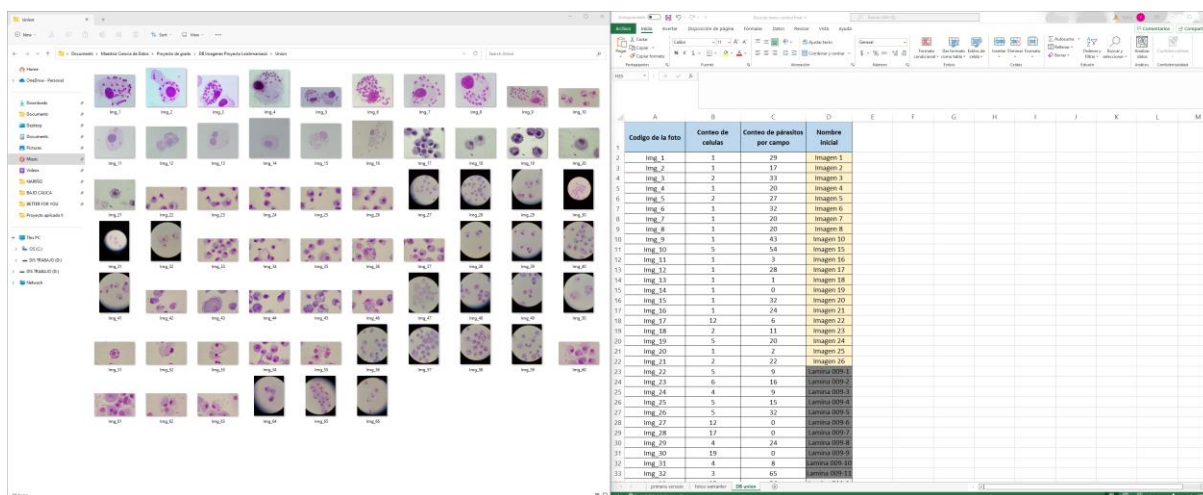


Ilustración 8. Codificación de las imágenes de microscopio y del archivo de etiquetado con información de cada imagen. Fuente: Autores, 2023.

Hasta ese punto, aunque ya se contaba con una base de datos más organizada y con mayor número de detalles, se presentó un segundo desafío que se relacionaba con la cantidad limitada de datos (imágenes) con las que se contaba, ya que la base de datos inicial estaba únicamente conformada

por 66 imágenes, una cantidad insuficiente para entrenar eficazmente modelos de aprendizaje automático bajo los requerimientos propios del proyecto de grado. Para abordar este problema, inicialmente se implementaron técnicas de aumento de datos, que permitieron expandir artificialmente el conjunto de datos creando variaciones de las imágenes existentes, este paso se detalla en el siguiente capítulo. Finalmente, este desafío se terminó de resolver aún más con la adición del último consolidado de imágenes que se recibió, con el cual se logró tener un total de 147 imágenes en la base de datos final, más del doble con el que se estaba trabajando en inicio. Este aumento significativo en el número de imágenes fortaleció la base de datos, proporcionando una variedad más amplia de muestras para el análisis y mejorando la eficacia del entrenamiento de los modelos. La base de datos final con sus respectivas etiquetas e información se muestran en la siguiente ilustración:

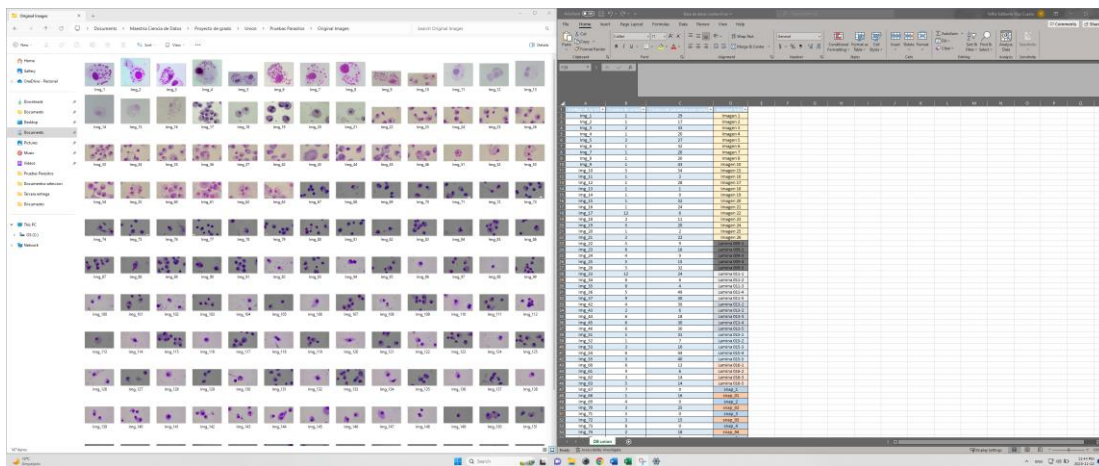


Ilustración 9. Actualización de la base de datos con las nuevas imágenes recibidas. Fuente: Autores, 2023.

6. APLICACIÓN DE TÉCNICAS DE APRENDIZAJE AUTOMÁTICO

El tercer objetivo implicaba emplear diferentes técnicas de aprendizaje automático para lograr el conteo de parásitos y de células por imagen, para este proceso se aplicaron técnicas basadas en la librería de TensorFlow bajo la interfaz de Keras, debido a la capacidad que presentan estas dos herramientas en los procesos de redes de Aprendizaje Profundo, particularmente en lo que respecta a las redes neuronales convolucionales (CNN). Estas herramientas son reconocidas por su capacidad para manejar y procesar grandes conjuntos de datos de imágenes, una característica esencial para los objetivos del presente estudio. Inicialmente para garantizar una evaluación óptima de los modelos, se llevó a cabo una división estratégica de los datos disponibles, se asignó el 80% de la totalidad de datos para entrenamiento (117 imágenes del total en la base de datos final), mientras que el restante 20% se reservó exclusivamente para pruebas (30 imágenes del total en la base de datos final). Esta división fue crucial para evaluar eficazmente la capacidad predictiva y la generalización de los modelos desarrollados, esto se realizó de manera aleatoria pero controlada por un valor 'seed' (en este caso, 22) para asegurar la reproducibilidad del proceso.

Una vez establecida la división de los datos, se procedió con el procesamiento de las imágenes. El objetivo principal era transformarlas en un formato y tamaño compatibles con los modelos de aprendizaje automático propuestos. Para lograr esto, se establecieron dimensiones específicas para las imágenes, fijándose en 250x250 píxeles. Este tamaño se eligió como un balance entre mantener suficiente detalle de las imágenes y asegurar una carga eficiente en los modelos de aprendizaje automático. Además de esto, se estableció un sistema para manejar diferentes formatos de imagen, identificando y procesando archivos con diversas extensiones, y utilizando “.jpg” como formato predeterminado para las imágenes de salida. Esta etapa garantizó que las imágenes estuvieran optimizadas para una alimentación y procesamiento eficientes en los algoritmos.

En ese proceso de preparación de las imágenes se aplica la técnica de *Data Augmentation* dada la cantidad limitada de imágenes originales disponibles, esta técnica permite aumentar el tamaño del conjunto de datos en el set de entrenamiento, creando nuevas variantes de los datos existentes mediante la aplicación de técnicas de transformación, como rotaciones, desplazamientos, recortes, volteos, etc. Esta técnica permitió crear un total de 8 imágenes por cada una de las disponibles en el set de datos, el cual contaba con un total de 117 imágenes para repartir entre los procesos de

entrenamiento y validación. Su aplicación ayudó a mejorar el rendimiento del modelo y reducir el sobreajuste, especialmente dada la reducida cantidad de datos iniciales.

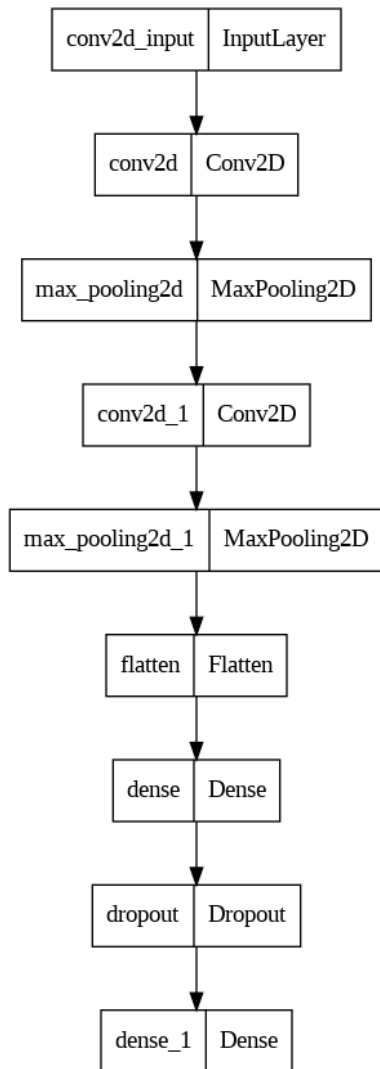
El código implementado para esta tarea utilizó la biblioteca OpenCV y el generador de imágenes de Keras. Se definió una función para ajustar la saturación de las imágenes, alterando aleatoriamente este valor entre 0.6 y 1.4, con el objetivo de simular variaciones reales en las condiciones de iluminación y coloración que podrían encontrarse en un entorno de laboratorio. Además, se aplicaron volteos horizontales y verticales, una técnica común en *Data Augmentation* que ayuda a que el modelo aprenda a reconocer patrones en diferentes orientaciones. Esto es especialmente valioso en el contexto de la identificación de parásitos en muestras microscópicas, donde la orientación de la muestra puede variar. Al final de este proceso se obtuvo un total de 936 imágenes aumentadas a las cuales también se les asignó el nombre de la imagen original y se les agregaba un guion bajo con el número respectivo del aumento logrando un identificador único del nombre para cada archivo, por ejemplo, la imagen original *Img_139* tenía las aumentadas *Img_139_1*, *Img_139_2* y así sucesivamente hasta *Img_139_8*, este proceso fue igual para todas las demás imágenes. Simultáneamente, también se creó un DataFrame que incluyó la información del código de la foto, el conteo de células, el conteo de parásitos por campo y el nombre inicial, con el objetivo de llamar y organizar los datos durante el proceso de entrenamiento y validación, asegurando que cada imagen y su información correspondiente fueran de fácil acceso y manipulación.

Tras la generación de imágenes mediante *Data Augmentation*, el siguiente paso fue combinar estas imágenes aumentadas con las originales del conjunto de entrenamiento. Este proceso fue crucial para incorporar tanto la información original, como la generada para obtener un conjunto de datos de entrenamiento y validación más robusto, para esto se combinaron las imágenes y sus etiquetas correspondientes en un solo conjunto mediante la concatenación de los arrays de imágenes y etiquetas, respectivamente. Con lo cual, se obtuvo un conjunto de datos más sólido y variado con un total de 1053 imágenes, lo que fue beneficioso para el entrenamiento del modelo, ya que con una mayor diversidad de datos se ayudó a mejorar la generalización y reducir el sobreajuste.

Con el conjunto combinado de imágenes originales y aumentadas, se procedió a realizar una segunda división en los datos. Esta división tenía el propósito de separar los datos en conjuntos de entrenamiento y validación, para eso se utilizó una proporción del 20% para el conjunto de validación, manteniendo el 80% restante para el entrenamiento. Esta división se realizó de manera aleatoria, pero controlada por un 'seed' (en este caso, 42) para asegurar la reproducibilidad del proceso.

Posteriormente, se estructuraron directorios específicos para albergar las imágenes destinadas a entrenamiento (Data_Aug) y pruebas (Data_Test). Esta organización facilitó el acceso y la gestión de los datos durante las fases subsiguientes de modelado. Con los datos ya procesados y organizados, se inició la construcción de cuatro modelos base de aprendizaje automático, a los cuales más adelante en el proceso de evaluación y selección se les fueron realizando cambios para optimizarlos y dar con la mejor combinación de parámetros logrando obtener el mayor provecho de cada uno:

Modelo Personalizado: El primer modelo fue diseñado desde cero, lo que implicó un proceso meticuloso de definición y configuración de capas, junto con técnicas de búsqueda de hiperparámetros (explicadas en el siguiente capítulo). Esta metodología permitió una adaptación personalizada a las especificidades del conjunto de datos.

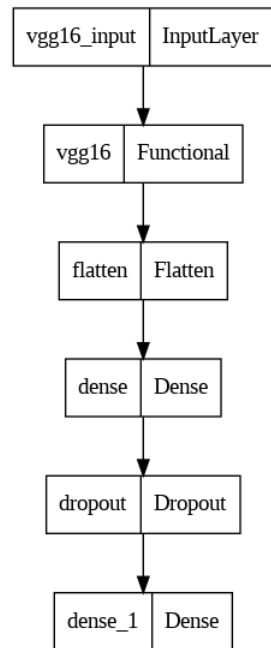


PARAMETROS UTILIZADOS EN EL PRIMER AJUSTE MODELO BASE PERSONALIZADO	
Nombre de la capa	Valor utilizado
conv2d	224 unidades (neuronas).
max_pooling2d	Tamaño 2x2.
conv2d_1	32 unidades (neuronas).
max_pooling2d_1	Tamaño 2x2.
dense	160 unidades (neuronas).
dropout	Valor de 0.2
dense_1	1 unidad (neurona) valor de salida.
Optimizador	Adam
Learning Rate	0.001

Ilustración 10. Primer ajuste del modelo base personalizado. En la parte izquierda se presenta la estructura general de este primer modelo y en la parte derecha una tabla con el resumen de parámetros utilizados. Fuente: Autores, 2023.

Modelos con Transfer Learning: Los tres modelos restantes se hicieron aprovechando técnicas de transfer learning. Estas técnicas permiten beneficiarse de redes neuronales previamente entrenadas en grandes conjuntos de datos, adaptándolas para tareas específicas. En este proyecto, se adoptaron las siguientes arquitecturas preentrenadas:

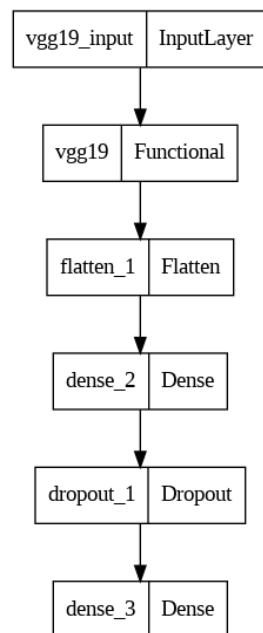
- VGG16: Este modelo es conocido por su profundidad y su capacidad para clasificar imágenes con alta precisión.



PARAMETROS UTILIZADOS EN EL PRIMER AJUSTE MODELO BASE VGG16	
Nombre de la capa	Valor utilizado
dense	256 unidades (neuronas).
dropout	Valor de 0.2
dense_1	1 unidad (neurona) valor de salida.
Optimizador	Adam

Ilustración 11. Primer modelo base bajo metodología de Transfer Learning con arquitectura preentrenada VGG16. En la parte izquierda se presenta la estructura general de este primer modelo con capa VGG16 y en la parte derecha una tabla con el resumen de parámetros utilizados. Fuente: Autores, 2023.

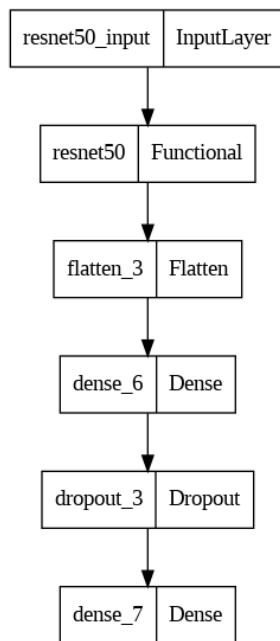
- VGG19: Similar al VGG16, pero con más capas, lo que puede ofrecer una representación aún más detallada.



PARAMETROS UTILIZADOS EN EL PRIMER AJUSTE MODELO BASE VGG19	
Nombre de la capa	Valor utilizado
dense_2	256 unidades (neuronas).
dropout_1	Valor de 0.2
dense_3	1 unidad (neurona) valor de salida.
Optimizador	Adam

Ilustración 12. Primer modelo base bajo metodología de Transfer Learning con arquitectura preentrenada VGG19. En la parte izquierda se presenta la estructura general de este primer modelo con capa VGG19 y en la parte derecha una tabla con el resumen de parámetros utilizados. Fuente: Autores, 2023.

- ResNet 50: Destaca por su capacidad para entrenar redes muy profundas utilizando conexiones residuales, mejorando la precisión y velocidad del entrenamiento.



PARAMETROS UTILIZADOS EN EL PRIMER AJUSTE MODELO BASE ResNet 50	
Nombre de la capa	Valor utilizado
dense_6	256 unidades (neuronas).
dropout_3	Valor de 0.2
dense_7	1 unidad (neurona) valor de salida.
Optimizador	Adam

Ilustración 13. Primer modelo base bajo metodología de Transfer Learning con arquitectura preentrenada ResNet 50. En la parte izquierda se presenta la estructura general de este primer modelo con capa ResNet 50 y en la parte derecha una tabla con el resumen de parámetros utilizados. Fuente: Autores, 2023.

7. EVALUACIÓN Y SELECCIÓN DE LOS DIFERENTES MODELOS CREADOS

El cuarto y último objetivo consistía en evaluar los resultados obtenidos por los modelos de aprendizaje automático, seleccionando el que más se ajustara a los parámetros requeridos por las tareas de conteo de células y de parásitos. Para el proceso de evaluación de los modelos, se recurrió a la técnica de búsqueda aleatoria de hiperparámetros. Esta técnica es ampliamente reconocida en la creación de algoritmos de inteligencia artificial y es fundamental para evaluar combinaciones aleatorias de diferentes parámetros que se pueden implementar en los modelos. Mediante este enfoque, fue posible encontrar la combinación de hiperparámetros que ofreciera las mejores métricas de rendimiento.

Para la creación del modelo personalizado, se consideraron diversas configuraciones que variaban por cada época y prueba realizada. La arquitectura del modelo se definió utilizando capas convolucionales y densas, cuyos parámetros fueron optimizados durante la búsqueda aleatoria. En las capas convolucionales, se varió el número de filtros desde las 32 unidades hasta 512 con incrementos de 32, el tamaño del núcleo con opciones de 3x3 y 5x5, y se incluyó una regularización L2. Además, se experimentó con capas de MaxPooling de diferentes tamaños y se incorporó opcionalmente Dropout para reducir el sobreajuste, con tasas de 0.2, 0.4 y 0.6.

En las capas densas, se ajustaron las unidades entre 32 y 512, y también la regularización L2. Se evaluaron diversas funciones de activación como ReLU, ELU, Leaky ReLU y Sigmoid, y se aplicó Dropout de forma similar a como se hizo en las capas convolucionales. La capa de salida se configuró con una activación lineal, adecuada para tareas de regresión. Finalmente, se seleccionó el optimizador entre Adam, SGD y RMSprop, con diferentes tasas de aprendizaje que iban desde 0.1 hasta 0.001.

En la evaluación de los modelos desarrollados mediante la técnica de Transfer Learning, se emplearon otros parámetros específicos en la búsqueda aleatoria para optimizar su rendimiento. Este enfoque sirvió para ajustar los modelos preentrenados a las necesidades específicas del proyecto. Inicialmente, se ajustaron cuántas de las últimas capas del modelo base se debían descongelar para permitir su entrenamiento, esto se logró mediante la definición de un rango en la

búsqueda aleatoria, variando de 1 a 3 capas. Al mantener las capas restantes congeladas, se aprovecharon los conocimientos previamente aprendidos del modelo base, mientras se adaptaba una parte del modelo a los datos específicos del proyecto.

Tras incorporar el modelo base, se añadió una capa Flatten para transformar los datos a un formato adecuado para las capas densas. La estructura de las capas densas fue definida a través de un proceso de optimización, donde se ajustaron el número de unidades entre 32 y 512, con incrementos de 32 y se evaluaron las funciones de activación ReLU o Sigmoid. Además, se incorporó la posibilidad de aplicar Dropout con tasas de 0.2, 0.4 o 0.6, lo que al igual que la anterior búsqueda ayudaba a prevenir el sobreajuste. La capa de salida del modelo se configuró con una activación lineal, adecuada para tareas de regresión. En cuanto a la compilación del modelo, se seleccionó el optimizador entre Adam, SGD y RMSprop, con tasas de aprendizaje entre 0.1 a 0.001 a elegir. En la tarea de búsqueda aleatoria para cada uno de los cuatro modelos base, tanto para el conteo de células, como para el de parásitos se trabajó con un total de 25 pruebas evaluando cada una en un ciclo de 25 épocas. El resumen del proceso de búsqueda de hiperparámetros se muestra a continuación:

BUSQUEDA DE HIPERPARAMETROS		
Parámetros que se desean ajustar	Valores y rangos de búsqueda modelo personalizado	Valores y rangos de búsqueda para modelos con transfer learning
Capas Convolucionales	Entre 0 y 3 capas.	No aplica
Unidades capas Convolucionales	Entre 32 y 512 unidades (neuronas).	No aplica
Núcleo capas Convolucionales	3x3 y 5x5	No aplica
Regularización en núcleo capas Convolucionales	L2	No aplica
Tamaño capas Max Pooling	2x2 y 3x3	No aplica
Dropout para capas Max Pooling	Valores de 0.2, 0.4 y 0.6	No aplica
Capas Densas	Entre 0 y 3 capas.	Entre 0 y 3 capas.
Unidades capas Densas	Entre 32 y 512 unidades (neuronas).	Entre 32 y 512 unidades (neuronas).
Regularización en núcleo capas Densas	L2	No aplica

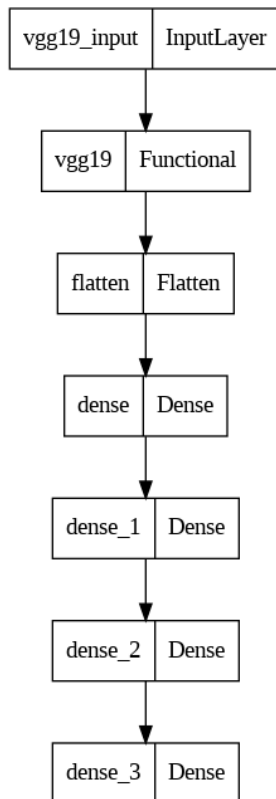
Funciones de activación capas Densas	ReLU, ELU, Leaky ReLU y Sigmoid.	ReLU y Sigmoid.
Dropout para capas Densas	Valores de 0.2, 0.4 y 0.6	Valores de 0.2, 0.4 y 0.6
Capa de salida	Densa con activación lineal.	Densa con activación lineal.
Optimizador	Adam, SGD y RMSprop	Adam, SGD y RMSprop
Learning Rate	0.001, 0.01 y 0.1	0.001, 0.01 y 0.1
Numero de capas finales de los modelos pre entrenados a descongelar	No aplica	1 a 3 capas.

Tabla 2. Parámetros, valores y rangos que se ajustaron a los 4 modelos base en el proceso de búsqueda de hiperparámetros. Fuente: Autores, 2023.

En la fase de selección de los dos modelos finales para el presente proyecto, se hizo énfasis en dos métricas ampliamente reconocidas en la creación de modelos de regresión, especialmente relevantes en contextos donde se realizan predicciones de valores únicos, como es el caso de los modelos de conteo diseñados. Estas métricas fueron el Error Absoluto Medio (MAE) y el Coeficiente de Determinación (R2). El MAE proporciona una medida directa de la precisión de las predicciones, indicando en promedio cuán lejos están las predicciones del modelo de los valores reales, por ejemplo, la diferencia entre el número de células predicho con respecto a la etiqueta del valor real. Es particularmente útil porque ofrece una interpretación intuitiva y directa de la magnitud del error.

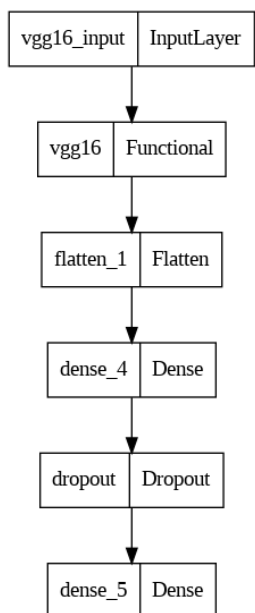
Por otro lado, el coeficiente R2, es implementado en este trabajo a través de una función “r2_score” de Scikit-learn, este es un método estandarizado, confiable y altamente utilizado para evaluar la precisión en la creación de diferentes modelos sobre todo los utilizados en procesos de regresión, esta métrica permite medir la proporción de la varianza de la variable dependiente que es predecible a partir de las variables independientes. En términos simples, R2 ofrece una idea de qué tan bien las predicciones del modelo se ajustan a los datos reales. Un valor de R2 cercano a 1 indica que el modelo explica una gran proporción de la variabilidad en los datos de respuesta, lo cual es deseable en un modelo de regresión. En el contexto de este proyecto, estos modelos finales se compilaban utilizando el optimizador Adam con una tasa de aprendizaje de 0.001. Se seleccionó el error cuadrático medio como función de pérdida, en consonancia con los objetivos de regresión del modelo. Junto con MAE y R2, estas configuraciones permitieron evaluar exhaustivamente el

rendimiento del modelo, asegurando que las predicciones fueran tanto precisas como ajustadas a la variabilidad de los datos de conteo. A partir de estos procesos de búsqueda de hiperparámetros y del manejo de las métricas mencionadas se seleccionaron los dos siguientes modelos finales:



PARAMETROS UTILIZADOS MODELO FINAL VGG19 CONTEO CELULAS	
Nombre de la capa	Valor utilizado
Numero de capas finales de los modelos preentrenados a descongelar	3 capas.
dense	192 unidades (neuronas).
dense_1	32 unidades (neuronas).
dense_2	32 unidades (neuronas).
dense_3	1 unidad (neurona) valor de salida.
Optimizador	Adam
Learning Rate	0.001

Ilustración 14. Modelo final seleccionado para el proceso de conteo de células aplicando Transfer Learning con arquitectura preentrenada VGG19, en la parte izquierda se presenta la estructura general y en la parte derecha una tabla con el resumen de parámetros utilizados. Fuente: Autores, 2023.



PARAMETROS UTILIZADOS MODELO FINAL VGG16 CONTEO PARASITOS	
Nombre de la capa	Valor utilizado
Numero de capas finales de los modelos preentrenados a descongelar	3 capas.
dense_4	160 unidades (neuronas).
dropout	Valor de 0.1
dense_5	1 unidad (neurona) valor de salida.
Optimizador	Adam
Learning Rate	0.001

Ilustración 15. Modelo final seleccionado para el proceso de conteo de parásitos aplicando Transfer Learning con arquitectura preentrenada VGG16, en la parte izquierda se presenta la estructura general y en la parte derecha una tabla con el resumen de parámetros utilizados. Fuente: Autores, 2023.

Luego de la selección de los dos modelos que mostraron los mejores resultados en términos de precisión y ajuste, se procedió con el proceso de entrenamiento individual de cada uno. Para el entrenamiento del primer modelo, dedicado al conteo de células, se aplicó la técnica de *early stopping*, una estrategia que permite detener el entrenamiento cuando el rendimiento en el conjunto de validación deja de mejorar. Esto ayuda a evitar el sobreajuste, garantizando que el modelo no solo aprenda de los datos de entrenamiento, sino que también generalice bien nuevos datos que se le ingresen. Se estableció un criterio de paciencia de 8 épocas, lo que significa que el entrenamiento se detendría si no se observaba una mejora en la pérdida de validación durante 8 iteraciones consecutivas. El modelo se entrenó durante un máximo de 50 épocas, y se utilizaron los conjuntos de entrenamiento y validación previamente definidos. Tras el entrenamiento, se guardó el modelo como 'cell_counting_transfer_learning_model_vgg19.h5', lo que facilitaría su posterior implementación y evaluación.

De manera similar, el segundo modelo enfocado en el conteo de parásitos siguió un protocolo de entrenamiento igual. También se utilizó *early stopping* con los mismos parámetros para asegurar la óptima generalización y evitar el sobreajuste. Este modelo se entrenó con sus respectivos conjuntos de datos y, al finalizar, se guardó bajo el nombre 'parasite_counting_transfer_learning_model_vgg16.h5'.

8. RESULTADOS DE LA PREDICCIÓN DE LOS MODELOS Y METRICAS CONSEGUIDAS

A partir de estos procesos de entrenamiento se obtuvieron los resultados que se presentan a continuación:

Resultados obtenidos en la tarea de conteo de células

Para el proceso de conteo de células se obtienen las siguientes métricas:

RESULTADOS DE MODELOS EVALUADOS PARA CONTEO DE CELULAS							
Test de evaluación implementado	Personalizado**	VGG16*	VGG19*	ResNET 50*	VGG16 con búsqueda**	VGG19 con búsqueda**	ResNET 50 con búsqueda**
Loss	10.88	0.52	0.44	9.37	0.33	0.3	9.83
MAE	2.09	0.54	0.56	1.97	0.43	0.4	2.1
R ²	0	0.9	0.92	0.29	0.93	0.94	0

* Evaluación realizada con los modelos base explicados en el anterior capítulo (capítulo 6).
 ** Evaluación a los diferentes modelos ajustados a partir del proceso de búsqueda de hiperparametros (capítulo 7).

Tabla 3. Mejores resultados obtenidos del proceso de evaluación a los múltiples modelos para la tarea de conteo de células. Fuente: Autores, 2023.

En la anterior tabla, se presentan únicamente las **mejores** métricas al final del entrenamiento y ajuste de todos los modelos, se excluyen las demás pruebas. Los resultados específicos que se obtienen del modelo final seleccionado para el proceso de conteo de células presentado en la **Ilustración 14** se muestran a continuación:

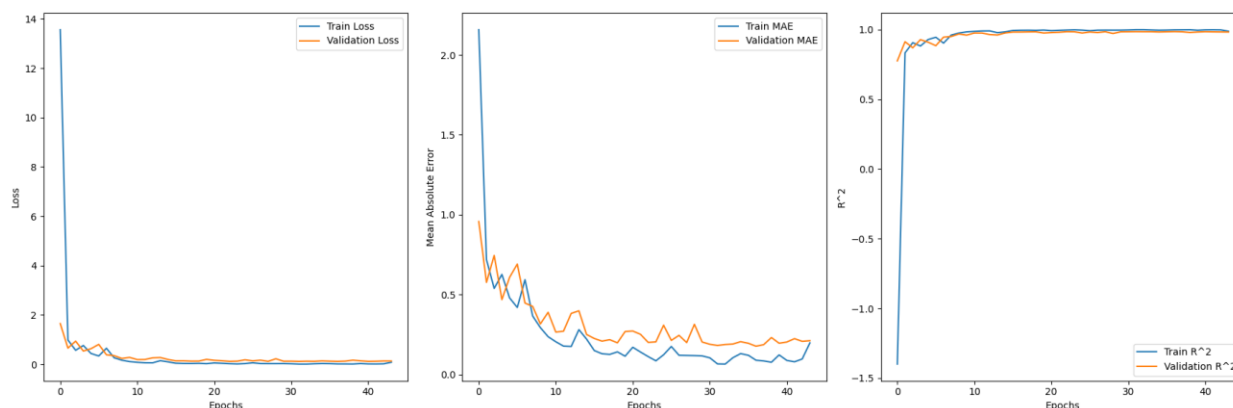


Ilustración 16. Gráficas de resultados obtenidos del modelo destinado para el conteo de células con arquitectura VGG19, de izquierda a derecha se encuentra el comportamiento de valores de error cuadrático medio (Loss), el error absoluto medio (MAE) y el coeficiente de determinación (R²) todos estos en comparación a las épocas que transcurrieron en el proceso de entrenamiento. Fuente: Autores, 2023.

Métricas del modelo:

- Test Loss: 0.304
- Test MAE: 0.400
- Test R²: 0.942

Los anteriores resultados muestran que el modelo de conteo de células basado en la arquitectura VGG19 tiene una pérdida que tanto en el entrenamiento como en la validación disminuyó y estabilizó de manera coherente, lo cual indica que el modelo se ajustó bien a los datos sin signos evidentes de sobreajuste. El error absoluto medio también siguió una tendencia descendente, sugiriendo que las predicciones del modelo se volvieron más precisas a lo largo del entrenamiento y que hubo una buena convergencia entre los datos de entrenamiento y validación.

El coeficiente de determinación R², que empezó con un valor negativo, mejoró significativamente después de algunas épocas, acercándose a 1 tanto para el entrenamiento como para la validación, reflejando que el modelo fue capaz de explicar la mayoría de la variabilidad de los datos. Este alto valor de R² sugiere que el modelo generaliza bien y es capaz de predecir con precisión en datos no vistos durante el entrenamiento.

Con respecto a las métricas obtenidas el valor del Test Loss es bajo, lo que indica que el modelo tiene un buen rendimiento en el conjunto de prueba, el MAE también fue bajo, lo que sugiere que, en promedio, las predicciones del modelo se desvían tan solo 0.4 del valor real. Por último, el valor de R² de 0.942 significa que el modelo es capaz de explicar aproximadamente el 94.2% de la variabilidad en los datos de conteo de células en el conjunto de prueba, lo que refleja un alto nivel de precisión en las predicciones del modelo. A continuación, se muestran algunos ejemplos de predicción realizadas sobre ciertas imágenes del conjunto de prueba:

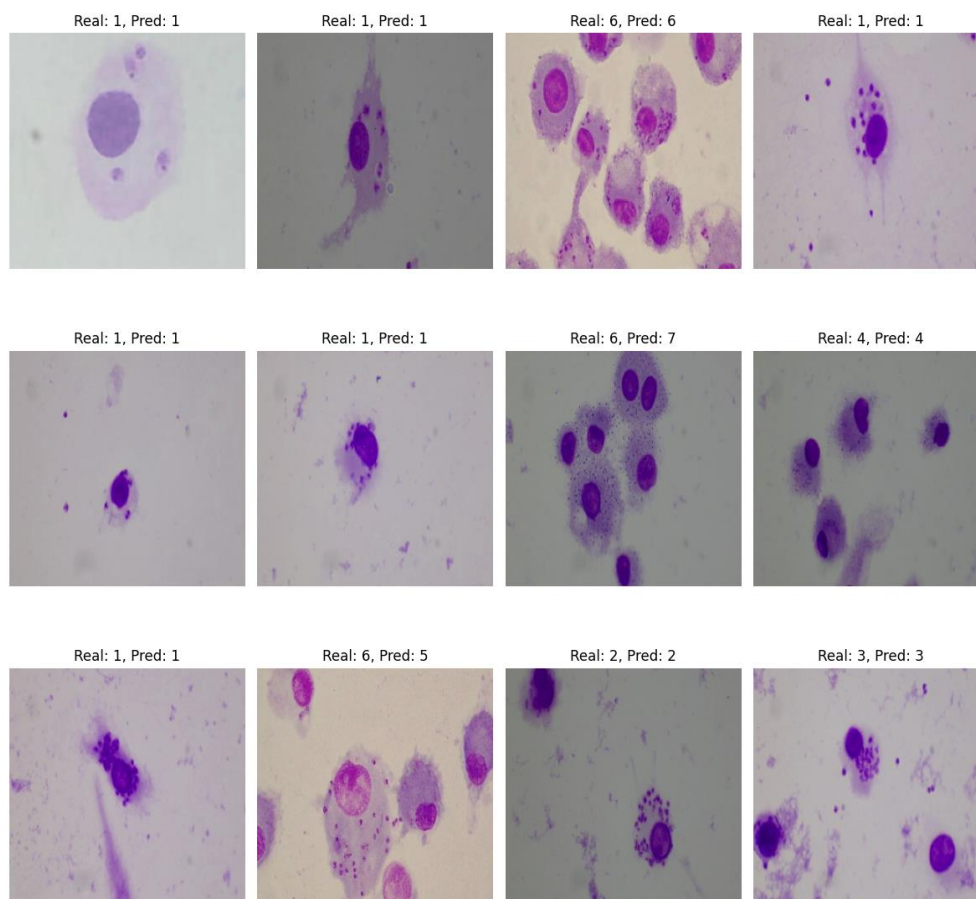


Ilustración 17. Predicciones realizadas por el modelo final de conteo de células aplicado a determinadas imágenes del conjunto de prueba. Fuente: Autores, 2023.

Resultados obtenidos en la tarea de conteo de parásitos

Para el proceso de conteo de parásitos se obtienen las siguientes métricas:

Test de evaluación implementado	RESULTADOS DE MODELOS EVALUADOS PARA CONTEO DE PARASITOS						
	Personalizado**	VGG16*	VGG19*	ResNET 50*	VGG16 con búsqueda**	VGG19 con búsqueda**	ResNET 50 con búsqueda**
Loss	199.59	30.42	51.29	261.8	25.87	38.61	106.94
MAE	11.32	3.7	5.05	11.13	3.66	4.17	8.26
R ²	0.13	0.75	0.58	0	0.79	0.69	0.13

* Evaluación realizada con los modelos base explicados en el anterior capítulo (capítulo 6).
** Evaluación a los diferentes modelos ajustados a partir del proceso de búsqueda de hiperparámetros (capítulo 7).

Tabla 4. Mejores resultados obtenidos del proceso de evaluación a los múltiples modelos para la tarea de conteo de parásitos. Fuente: Autores, 2023.

En la anterior tabla, se presentan únicamente las **mejores** métricas al final del entrenamiento y ajuste de todos los modelos, se excluyen las demás pruebas. Los resultados específicos que se

obtienen del modelo final seleccionado para el proceso de conteo de parásitos presentado en la **Ilustración 15** se muestran a continuación:

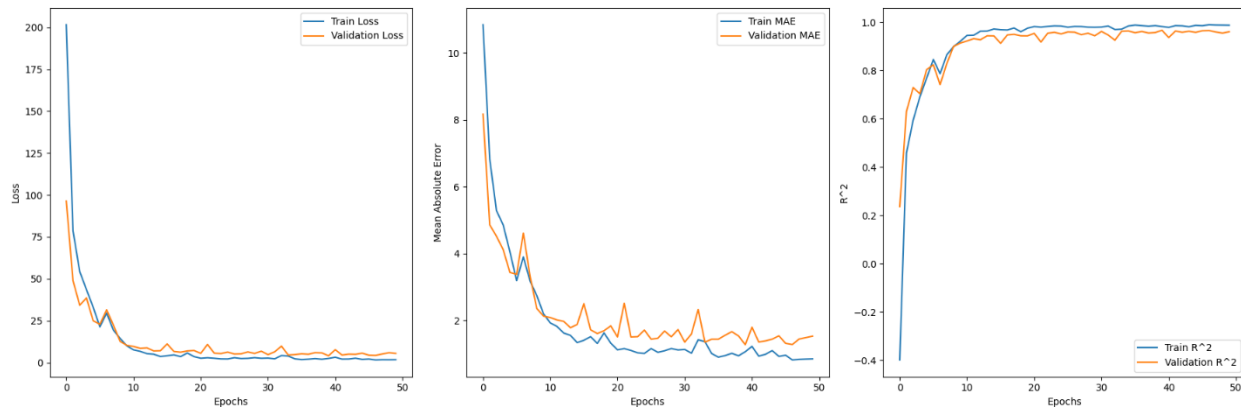


Ilustración 18. Gráficas de resultados obtenidos del modelo destinado para el conteo de parásitos con arquitectura VGG16, de izquierda a derecha se encuentra el comportamiento de valores de error cuadrático medio (Loss), el error absoluto medio (MAE) y el coeficiente de determinación (R^2) todos estos en comparación a las épocas que transcurrieron en el proceso de entrenamiento. Fuente: Autores, 2023

Métricas del modelo:

- Test Loss: 25.911
- Test MAE: 3.677
- Test R^2 : 0.789

Con relación al segundo modelo el gráfico de pérdida (Loss) muestra una rápida disminución en la pérdida tanto para el entrenamiento como para la validación en las primeras épocas, lo que indica que el modelo aprendió rápidamente de los datos. Respecto al MAE, hay una convergencia de las líneas que indica que el modelo generaliza bien y que la diferencia en el error entre los datos de entrenamiento y validación no es grande. Por último, el gráfico de R^2 aumenta rápidamente hacia 1 y después se estabiliza, lo que es positivo y aunque no es tan alto como en el primer modelo, un valor de R^2 de aproximadamente 0.8 en la validación sigue siendo un indicador de un buen ajuste del modelo.

Con respecto a las métricas los valores del Test Loss y MAE son más altos en comparación al modelo de identificación de células, esto puede deberse a que el conteo de parásitos es una tarea considerablemente más desafiante que el conteo de células debido a su menor tamaño, lo cual puede llevar a una variabilidad mayor en las mediciones y, por lo tanto, a un aumento en los valores

de pérdida y error absoluto medio observados. Además, los parásitos a menudo presentan formas irregulares y pueden aparecer superpuestos o camuflados dentro de la imagen, dificultando su identificación precisa y aumentando la probabilidad de errores en el conteo. A esto se le suma que la cantidad de parásitos por imagen en la mayoría de los casos es significativamente mayor que la de células, la tarea de conteo se vuelve aún más complicada, ya que incrementa el riesgo de contar mayor o menor cantidad, afectando tanto la precisión como el error absoluto medio.

A pesar de todos estos desafíos, el modelo consigue un coeficiente de determinación R^2 de 0.789, lo que indica que es capaz de explicar una buena proporción (78.9%) de la variabilidad en los datos de conteo de parásitos, lo cual es una señal muy prometedora de su validez. A continuación, se muestran algunos ejemplos de predicción realizadas sobre ciertas imágenes del conjunto de prueba:

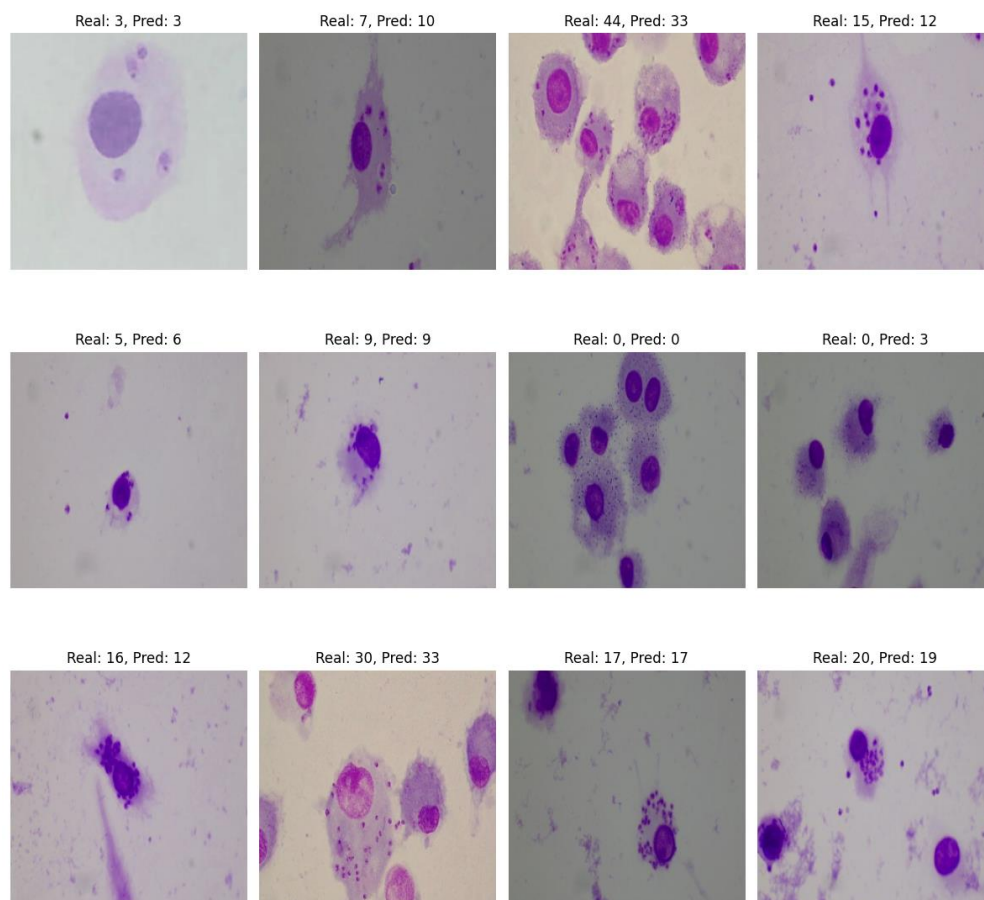


Ilustración 19. Predicciones realizadas por el modelo final de conteo de parásitos aplicado a determinadas imágenes del conjunto de prueba. Fuente: Autores, 2023.

9. CONSTRUCCION DEL INDICE DE MEDIDA

Como un valor agregado al proyecto y respondiendo a una solicitud realizada por el CIDEIM, se desarrolló un índice de carga parasitaria por célula. Este índice representa una métrica innovadora por ejemplo para evaluar la efectividad de distintas intervenciones, como la implementación de nuevos medicamentos. Además, en ese orden de ideas se diseñó una interfaz sencilla y funcional que permite comparar analíticamente dos muestras: un primer momento “Imagen 1”, que representa el estado inicial, y un segundo momento “Imagen 2”, que representa la muestra expuesta a diferentes pruebas de post intervención para ver cómo reaccionan.

Para calcular este índice, primero se realizaron predicciones de la cantidad de parásitos y células en las muestras utilizando los modelos entrenados. Estas predicciones se llevaron a cabo sobre imágenes de prueba, como se muestra a continuación:

Codigo de la foto	Prediccion Parasitos	Prediccion Celulas	Indice Carga Parasitaria	
10	img_11	0.0	1.1	0.0
145	img_167	5.4	1.1	5.1
39	img_54	30.0	6.2	4.8
114	img_136	12.2	1.0	11.7
76	img_98	4.0	0.9	4.4
74	img_96	8.0	1.0	7.7
63	img_85	0.1	6.5	0.0
89	img_111	3.1	4.3	0.7
96	img_118	10.1	1.1	9.6
35	img_46	29.0	4.9	6.0
56	img_78	15.3	1.6	9.3
80	img_102	22.3	2.3	9.7
37	img_52	11.7	1.1	10.5
138	img_160	5.0	1.0	5.0
128	img_150	13.0	2.7	4.8
98	img_120	21.0	1.1	18.4
55	img_77	0.3	7.8	0.0
50	img_72	16.4	1.9	8.6
115	img_137	0.7	4.5	0.2
92	img_114	8.0	1.0	7.7
144	img_166	10.9	1.0	10.4
43	img_62	10.6	2.7	4.0
36	img_51	22.8	1.6	14.6
88	img_110	12.7	2.1	6.0
139	img_161	14.3	1.3	11.2
2	img_3	35.4	2.1	17.1
116	img_138	0.2	1.1	0.2
42	img_61	4.5	10.0	0.4
120	img_142	11.5	3.9	2.9
104	img_126	17.2	1.5	11.8

Tabla 5. Cálculo del índice realizado en el conjunto de imágenes de prueba. Fuente: Autores, 2023.

El índice de carga parasitaria se calculó dividiendo la cantidad predicha de parásitos por la cantidad de células, proporcionando así una medida cuantitativa de la carga parasitaria en cada muestra. La fórmula exacta se muestra a continuación:

$$\text{Índice de carga parasitaria} = \frac{\text{Numero de parásitos}}{\text{Numero de células}}$$

Donde:

Índice de carga parasitaria: Valor calculado con la anterior ecuación.

Número de parásitos: Número de parásitos predicho para la imagen evaluada por el respectivo modelo diseñado para esa tarea.

Número de células: Número de células predicho para la imagen evaluada por el respectivo modelo diseñado para esa tarea.

La interfaz sencilla de usuario diseñada para este propósito incluye botones para cargar imágenes y también para realizar las predicciones. Los usuarios pueden cargar dos imágenes distintas, y al hacer clic en los botones correspondientes, se despliegan las predicciones de células y parásitos, así como el índice de carga parasitaria calculado para cada imagen. Este enfoque interactivo no solo mejora la usabilidad del proyecto, sino que también proporciona una herramienta valiosa para comparar los efectos de diferentes tratamientos o condiciones experimentales en una muestra.

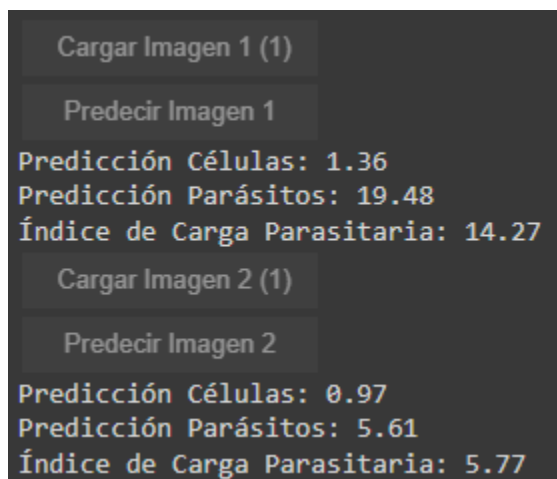


Ilustración 20. Interfaz básica para la comparación y predicción de imágenes de muestra. Fuente: Autores, 2023.

10. ANALISIS DE HALLAZGOS RELEVANTES EN EL DESARROLLO DEL PROYECTO DE GRADO

Los avances en los modelos de Deep Learning para el análisis de imágenes han sido notables, especialmente gracias a la disponibilidad de extensas bases de datos con imágenes etiquetadas. Sin embargo, este proyecto enfrentó un desafío significativo debido a la escasez de imágenes de microscopio de células infectadas por *Leishmania spp.* La cooperación con el Centro Internacional de Entrenamiento e Investigaciones Médicas (CIDEIM) resultó crucial, ya que proporcionaron periódicamente imágenes que permitieron una retroalimentación continua para mejorar el desempeño de los modelos con un conjunto de datos en constante crecimiento.

Gracias a ese trabajo colaborativo se demarcó la importancia fundamental en el trabajo interdisciplinario. La colaboración con expertas en las áreas de microbiología, epidemiología y medicina demostró ser un pilar esencial, no solo para resolver numerosas dudas sino también para asegurar la relevancia y aplicabilidad de los hallazgos. La interacción con estas profesionales proporcionó perspectivas valiosas que enriquecieron el proceso de análisis y mejoraron la calidad de las interpretaciones. Esta sinergia entre la ciencia de datos y las disciplinas tradicionales de la salud demostró ser un enfoque integral e innovador, crucial para el éxito del proyecto.

Durante el desarrollo del proyecto, se identificaron desafíos específicos que requerían una atención detallada para asegurar la eficacia de los modelos de aprendizaje automático. Uno de estos retos fue la presencia de bordes negros en las imágenes, un efecto resultado del ocular del microscopio. Estos bordes oscuros introducían ruido en los datos y afectaban negativamente el rendimiento de la red neuronal, dado que podían llevar a la red a reconocer estos bordes como características relevantes al momento de identificar las células o los parásitos, lo cual era inadecuado para el análisis propuesto. Ante esta situación, se tomó la decisión de ajustar el proceso de captura de imágenes para eliminar estos bordes negros. Esta adaptación implicó una colaboración estrecha con el personal del laboratorio para modificar la técnica de toma de imágenes, asegurando que las nuevas fotografías estuvieran libres de estos bordes no deseados. Este cambio resultó crucial para mejorar la calidad de los datos ingresados en los modelos de aprendizaje automático, facilitando un entrenamiento más eficiente y preciso.

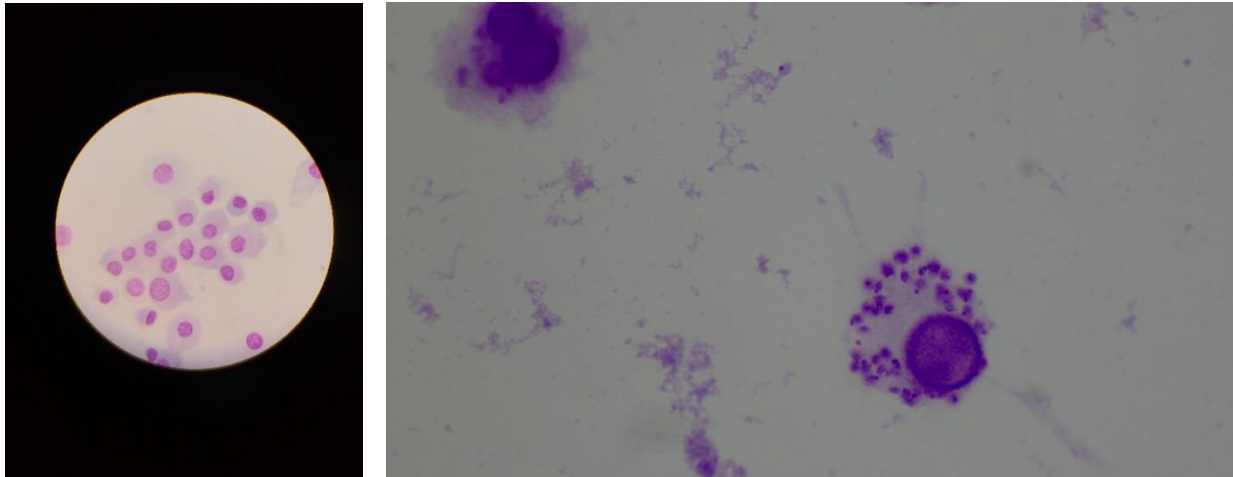


Ilustración 21. Al lado izquierdo se muestra una de las imágenes con borde negro que presentaba inconvenientes al momento de entrenar los modelos, al lado derecho se muestra el ajuste que se llevó a cabo con la técnica de la toma de las últimas imágenes. Fuente: CIDEIM, 2023.

Por otro lado, ante la limitación en la cantidad de imágenes disponibles, se decidió implementar técnicas de aumento de datos, como la rotación y ajustes de tonalidad. Estas estrategias permitieron ampliar de manera significativa la base de datos, incrementándola a 1053 imágenes. Se observó que el número de imágenes tiene un impacto considerable en el rendimiento de los modelos de aprendizaje automático; Por ejemplo, el modelo personalizado inicialmente desarrollado presentó un desempeño subóptimo, una situación que se atribuyó principalmente a la limitada muestra de imágenes. Este fenómeno es común en el aprendizaje profundo, donde una muestra más grande y variada puede ser crucial para evitar el sobreajuste y mejorar la generalización del modelo.

El modelo personalizado, aunque meticulosamente diseñado, enfrentó dificultades debido a varios factores inherentes a la limitada cantidad de datos. Entre estos, la falta de variabilidad en las imágenes disponibles restringió la capacidad del modelo para aprender y adaptarse a nuevas, y posiblemente más complejas, características de las imágenes. Además, las limitaciones en la diversidad de los datos pueden haber llevado a un sesgo en el modelo, reduciendo su efectividad en la identificación precisa de células y parásitos en diferentes contextos y condiciones de imagen.

Estos desafíos llevaron a la adopción de la estrategia de Transfer Learning, utilizando modelos preentrenados con extensas bases de datos. Esta aproximación permitió compensar las limitaciones de la muestra de imágenes que se tenía ya que los modelos preentrenados, como VGG16, VGG19

y ResNet, ya habían aprendido características generales de imágenes a partir de conjuntos de datos mucho más grandes y variados. Al aplicar Transfer Learning, se logró aprovechar este aprendizaje previo, adaptándolo a los requerimientos específicos del conjunto de datos trabajado en este proyecto.

Como se indicó en los anteriores capítulos, se optó por implementar las redes preentrenadas VGG16, VGG19 y ResNet 50. Interesantemente, VGG19 mostró un mejor desempeño en la cuantificación de células, mientras que VGG16 fue más efectivo en el conteo de parásitos. Sin embargo, en todas las pruebas realizadas a lo largo del proyecto, ResNet 50 mostró un rendimiento considerablemente inferior en ambas tareas tanto en cuantificación de células, como en conteo de parásitos. Esto podría deberse a las características intrínsecas de ResNet, especialmente sus conexiones residuales o 'saltos de conexión', estas conexiones están diseñadas para permitir el entrenamiento de redes mucho más profundas evitando el problema de desvanecimiento de gradiente, lo cual es una ventaja teórica significativa. Sin embargo, en el contexto del conjunto de datos trabajado en este proyecto, el cual era limitado y muy específico, esta complejidad adicional no se tradujo en un mejor rendimiento. Una posible razón es la sobreparametrización, donde el modelo, diseñado para aprender de conjuntos de datos grandes y variados, se enfrenta a un conjunto de datos más pequeño y especializado, llevando a un ajuste excesivo y a la incapacidad de generalizar efectivamente.

Además, otro factor que pudo haber influenciado el rendimiento subóptimo de ResNet 50 es la naturaleza de las imágenes con las que este modelo fue preentrenado. Los modelos de ResNet suelen ser entrenados en conjuntos de datos que contienen una amplia gama de imágenes naturales y cotidianas; estas imágenes difieren significativamente de las imágenes de microscopio utilizadas en el presente estudio, tanto en términos de contenido como de características visuales. Por lo tanto, el aprendizaje transferido de estas redes preentrenadas puede no haber sido completamente relevante o adecuado para las tareas específicas que acá se buscaban.

Otro hallazgo evidenciado en el proceso de evaluación fue que bajo el contexto de identificación de células y parásitos utilizando un modelo de regresión para predecir una cantidad numérica (número de células o parásitos) la función Sigmoid no fue del todo eficiente, esto puede

relacionarse a que la función de activación sigmoïdal tiene un rango de salida entre 0 y 1, y es típicamente utilizada para problemas de clasificación binaria. En el contexto de la regresión, su uso puede ser menos ideal, especialmente si los valores objetivo de la regresión no están en ese rango como en el caso específico del presente proyecto de grado.

Por último, se identificó que ciertas modificaciones en la arquitectura y el proceso de entrenamiento de los modelos de aprendizaje automático mejoraron significativamente los resultados. Una de las adaptaciones más efectivas fue la inclusión de capas de *dropout* en la arquitectura del modelo, el uso de estas capas son una técnica que implica desactivar aleatoriamente neuronas durante el entrenamiento, resultando en un método eficaz para evitar el sobreajuste. Esto fue especialmente relevante para el presente proyecto de grado, ya que dado el tamaño limitado del conjunto de datos y por ende el número reducido de características para aprender, el *dropout* ayudó a asegurar que el modelo no se ajustara demasiado a los detalles específicos de las imágenes de entrenamiento, lo que a su vez mejoró su capacidad para generalizar a nuevas imágenes.

11. CONCLUSIONES Y TRABAJOS FUTUROS

11.1. CONCLUSIONES

- El objetivo general de desarrollar un modelo basado en ciencia de datos para el conteo de parásitos protozoarios *Leishmania spp.* en imágenes de microscopio ha sido alcanzado exitosamente. Se implementaron modelos de aprendizaje automático avanzados, incluyendo VGG16 y VGG19, que demostraron ser eficaces en la identificación y cuantificación de los parásitos en las muestras.
- Se logró consolidar una base de datos a partir de imágenes de microscopio de *Leishmania spp.*, superando desafíos como la escasez inicial de imágenes y la necesidad de ajustar la calidad y resolución de estas. La colaboración con el CIDEIM fue crucial en este aspecto, proporcionando imágenes valiosas que enriquecieron el conjunto de datos.
- El análisis y procesamiento de las imágenes almacenadas en la base de datos se llevó a cabo meticulosamente. Se abordaron desafíos específicos como la presencia de bordes negros y se aplicaron técnicas de aumento de datos para ampliar y diversificar el conjunto de datos disponible.
- Los modelos fueron evaluados rigurosamente, y se observó que VGG19 y VGG16 presentaron los mejores resultados en tareas específicas de cuantificación de células y conteo de parásitos, respectivamente. Este hallazgo resalta la importancia de seleccionar la arquitectura de modelo adecuada en función de la tarea específica.

11.2. TRABAJOS FUTUROS

Frente a los trabajos futuros que se pueden desglosar del presente proyecto de grado, se identifican los siguientes:

- **Desarrollo de una interfaz de usuario intuitiva:** Creación de una segunda interfaz gráfica que integre el script desarrollado en este proyecto con un entorno de usuario más amigable. Esto facilitará el uso de la herramienta por parte de un público más amplio, incluyendo personal de laboratorio, investigadores y profesionales de la salud que no necesariamente tienen experiencia en programación o ciencia de datos, pero que están involucrados en el diagnóstico y estudio de la Leishmaniasis.

- **Expansión a otros parásitos y enfermedades:** Integración con otros modelos de inteligencia artificial para la identificación y conteo de una variedad de parásitos y agentes patógenos más allá de *Leishmania spp.* Esto permitirá desarrollar una herramienta más versátil, útil para el diagnóstico de un espectro más amplio de enfermedades parasitarias e infecciones.
- **Automatización de la captura y procesamiento de imágenes:** Desarrollar un sistema automatizado para la captura y procesamiento de imágenes microscópicas, incluyendo la eliminación automática de bordes no deseados y la estandarización de la calidad de las imágenes. Esto mejorará la eficiencia y la fiabilidad del proceso de recopilación de datos.
- **Desarrollo de un sistema de alerta temprana:** Crear un sistema de alerta temprana utilizando el modelo desarrollado, que pueda identificar de manera proactiva posibles brotes de Leishmaniasis en regiones específicas, basándose en análisis de imágenes y datos epidemiológicos.
- **Integración con dispositivos de captura de imágenes móviles:** Adaptar el modelo para su uso con dispositivos móviles o portátiles de captura de imágenes, como microscopios digitales móviles. Esto permitirá su uso en terreno, especialmente en áreas remotas con acceso limitado a laboratorios equipados.
- **Desarrollo de una plataforma educativa en línea:** Crear una plataforma en línea que utilice el modelo para fines educativos, ofreciendo a estudiantes y profesionales de la salud un recurso para aprender sobre la identificación y conteo de parásitos, así como sobre la Leishmaniasis y otras enfermedades parasitarias.

12. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] R. Arenas, E. Torres-Guerrero, M. R. Quintanilla-Cedillo, and J. Ruiz-Esmenjaud, “Leishmaniasis: A review,” *F1000Research*, vol. 6, no. May, pp. 1–15, 2017, doi: 10.12688/f1000research.11120.1.
- [2] J. A. Cotton, “The Expanding World of Human Leishmaniasis,” *Trends Parasitol.*, vol. 33, no. 5, pp. 341–344, 2017, doi: 10.1016/j.pt.2017.02.002.
- [3] E. Santambrosio, M. Ortega, and P. Garibaldi, “Tinción y observación de microorganismos.,” Buenos Aires, Argentina, 2009. [Online]. Available: http://www.frro.utn.edu.ar/repositorio/catedras/quimica/5_anio/biotecnologia/practico4.pdf
- [4] I. M. Acerbi, “Daños en Retina por luz visible - Laboratorio Óptico,” *Gabinete de baja visión del Laboratorio Optico Foucault*, 2021. <https://www.foucaultacerbi.com.ar/baja-vision/danos-en-retina-por-luz-visible/> (accessed Nov. 23, 2022).
- [5] A. Prado, Á. Morales, and J. Molle, “Síndrome de Fatiga ocular y su relación con el medio laboral,” *Med Segur Trab*, vol. 63, no. 249, pp. 345–61, 2017, [Online]. Available: https://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0465-546X2017000400345
- [6] MAYO CLINIC, “Fatiga ocular - Síntomas y causas,” *Mayo Clinic Guide to Better Vision*, Aug. 28, 2020. <https://www.mayoclinic.org/es-es/diseases-conditions/eyestrain/symptoms-causes/syc-20372397> (accessed Nov. 23, 2022).
- [7] J. Zhang, C. Li, Y. Yin, J. Zhang, and M. Grzegorzek, “Applications of artificial neural networks in microorganism image analysis: a comprehensive review from conventional multilayer perceptron to popular convolutional neural network and potential visual transformer,” *Artif. Intell. Rev.*, vol. 56, no. 2, pp. 1013–1070, Feb. 2023, doi: 10.1007/s10462-022-10192-7.
- [8] A. Megías Montijano, J. A. Gómez Campdera, J. Bertó, M. L. Navarro Gómez, and J. M. Hernanz, “Leishmaniasis cutánea,” *Acta Pediatr. Esp.*, vol. 59, no. 8, pp. 450–453, 2001.
- [9] Organización Panamericana de la Salud, “Leishmaniasis - OPS/OMS | Organización Panamericana de la Salud,” *Organización Panamericana de la Salud*, 2021. <https://www.paho.org/es/temas/leishmaniasis> (accessed Dec. 10, 2022).
- [10] Organización Mundial de la Salud, “Leishmaniasis,” *OMS*, Jan. 08, 2022. <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/leishmaniasis> (accessed Dec. 10, 2022).
- [11] S. Scarpini *et al.*, “Visceral Leishmaniasis: Epidemiology, Diagnosis, and Treatment Regimens in Different Geographical Areas with a Focus on Pediatrics,” *Microorganisms*, vol. 10, no. 10, 2022, doi: 10.3390/microorganisms10101887.
- [12] Instituto Nacional de Seguridad y Salud en el Trabajo - Gobierno de España, “Leishmania spp. - Agentes biológicos - Parásito,” *Ministerio de Trabajo y Economía Social*, Sep. 09, 2021. <https://www.insst.es/agentes-biologicos-basebio/parasitos/leishmania-spp>. (accessed Dec. 10, 2022).

- [13] G. Cohen-Freue, T. R. Holzer, J. D. Forney, and W. R. McMaster, “Global gene expression in Leishmania,” *Int. J. Parasitol.*, vol. 37, no. 10, pp. 1077–1086, 2007, doi: 10.1016/j.ijpara.2007.04.011.
- [14] Á. Pereira and M. Pérez, “Leishmaniosis,” *Offarm*, vol. 21, no. 9, pp. 116–124, 2002, [Online]. Available: <https://www.elsevier.es/es-revista-offarm-4-articulo-leishmaniosis-13038008>
- [15] D. Cannova, E. Brito, and M. Simons, “Evaluación de técnicas de coloraciones para el diagnóstico de la Leishmaniasis cutánea,” *Salus*, vol. 20, no. 2, pp. 24–29, 2016, doi: ISSN 1316-7138.
- [16] M. J. Willeminck *et al.*, “Preparing Medical Imaging Data for Machine Learning,” *Radiology*, vol. 295, no. 1, pp. 4–15, Apr. 2020, doi: 10.1148/radiol.2020192224.
- [17] C. Shen, D. Nguyen, Z. Zhou, S. B. Jiang, B. Dong, and X. Jia, “An introduction to deep learning in medical physics: advantages, potential, and challenges,” *Phys. Med. Biol.*, vol. 65, no. 5, p. 05TR01, Mar. 2020, doi: 10.1088/1361-6560/ab6f51.
- [18] Julianna Delua, “Supervised vs. Unsupervised Learning: What’s the Difference? | IBM,” *IBM Analytics, Data Science/Machine Learning*, Mar. 12, 2021. <https://www.ibm.com/cloud/blog/supervised-vs-unsupervised-learning> (accessed Dec. 10, 2022).
- [19] D. Komura and S. Ishikawa, “Machine Learning Methods for Histopathological Image Analysis,” *Comput. Struct. Biotechnol. J.*, vol. 16, pp. 34–42, 2018, doi: 10.1016/j.csbj.2018.01.001.
- [20] G. Litjens *et al.*, “A survey on deep learning in medical image analysis,” *Med. Image Anal.*, vol. 42, pp. 60–88, Dec. 2017, doi: 10.1016/j.media.2017.07.005.
- [21] J. R. Pangilinan, J. Legaspi, and N. Linsangan, “InceptionV3, ResNet50, and VGG19 Performance Comparison on Tomato Ripeness Classification,” in *2022 5th International Seminar on Research of Information Technology and Intelligent Systems (ISRITI)*, Dec. 2022, pp. 619–624. doi: 10.1109/ISRITI56927.2022.10052920.
- [22] P. Varshney, “VGGNet-16 Architecture: A Complete Guide | Kaggle,” 2020. <https://www.kaggle.com/code/blurredmachine/vggnet-16-architecture-a-complete-guide> (accessed Dec. 10, 2023).
- [23] K. Simonyan and A. Zisserman, “Very deep convolutional networks for large-scale image recognition,” *3rd Int. Conf. Learn. Represent. ICLR 2015 - Conf. Track Proc.*, pp. 1–14, 2015.
- [24] K. He, X. Zhang, S. Ren, and J. Sun, “Deep residual learning for image recognition,” *Proc. IEEE Comput. Soc. Conf. Comput. Vis. Pattern Recognit.*, vol. 2016-Decem, pp. 770–778, 2016, doi: 10.1109/CVPR.2016.90.
- [25] O. Russakovsky *et al.*, “ImageNet Large Scale Visual Recognition Challenge,” *Int. J. Comput. Vis.*, vol. 115, no. 3, pp. 211–252, Dec. 2015, doi: 10.1007/s11263-015-0816-y.
- [26] J. Deng, W. Dong, R. Socher, and L.-J. Li, “ImageNet: A large-scale hierarchical image database,” in *2009 IEEE Conference on Computer Vision and Pattern Recognition*, Jun.

- 2009, pp. 248–255. doi: 10.1109/CVPR.2009.5206848.
- [27] P. Jihyun, B. Edward, H. Jackson, Z. Yang, and T. Weiyao, “GitHub - Tang111111/ColonyCountingML: Colony counting for CS4641, created by Jihyun Park, Edward Bateh, Jackson Harmon, Yang Zhang, Weiyao Tang,” *GITHUB*, Jul. 15, 2020. <https://github.com/Tang111111/ColonyCountingML> (accessed Dec. 10, 2022).
- [28] A. Ojeda-Pat, A. Martin-González, and V. Uc-Cetina, “Machine learning methods review to detect Chagas disease parasite,” *Investig. y Cienc. la Univ. Autónoma Aguascalientes.*, vol. 80, pp. 91–98, 2020, doi: issn 1665-4412, e-issn 2521-9758.
- [29] D. K. Das, M. Ghosh, M. Pal, A. K. Maiti, and C. Chakraborty, “Machine learning approach for automated screening of malaria parasite using light microscopic images,” *Micron*, vol. 45, pp. 97–106, 2013, doi: 10.1016/j.micron.2012.11.002.
- [30] A. Olugboja and Z. Wang, “Malaria parasite detection using different machine learning classifier,” *Proc. 2017 Int. Conf. Mach. Learn. Cybern. ICMLC 2017*, vol. 1, pp. 246–250, 2017, doi: 10.1109/ICMLC.2017.8107772.
- [31] T. S. Ferreira *et al.*, “Diagnostic Classification of Cases of Canine Leishmaniasis Using Machine Learning,” *Sensors*, vol. 22, no. 9, pp. 1–13, 2022, doi: 10.3390/s22093128.
- [32] J. Salazar, M. Vera, Y. Huérfano, M. I. Vera, E. Gelvez-Almeida, and O. Valbuena, “Semi-automatic detection of the evolutionary forms of visceral leishmaniasis in microscopic blood smears,” *J. Phys. Conf. Ser.*, vol. 1386, no. 1, 2019, doi: 10.1088/1742-6596/1386/1/012135.
- [33] M. Zare *et al.*, “A machine learning-based system for detecting leishmaniasis in microscopic images,” *BMC Infect. Dis.*, vol. 22, no. 1, pp. 1–6, 2022, doi: 10.1186/s12879-022-07029-7.
- [34] A. Géron, *Book Review: Hands-on Machine Learning with Scikit-Learn, Keras, and Tensorflow, 2nd edition*, O’Reilly home., vol. 2. O’Reilly Media, 2019. Accessed: Apr. 10, 2023. [Online]. Available: https://books.google.com/books/about/Hands_on_Machine_Learning_with_Scikit_Le.htm?id=OCS1twEACAAJ