



**CLASIFICACIÓN MORFOLÓGICA DE ERITROCITOS EN IMÁGENES
DIGITALES DE FROTIS DE SANGRE PERIFÉRICA MEDIANTE DEEP LEARNING**

María Camila Mena Quintero

Universidad Antonio Nariño

Programa de Ingeniería Biomédica

Facultad de Ingeniería Mecánica, Electrónica y Biomédica

Popayán, Colombia

2021

**CLASIFICACIÓN MORFOLÓGICA DE ERITROCITOS EN IMÁGENES
DIGITALES DE FROTIS DE SANGRE PERIFÉRICA MEDIANTE DEEP
LEARNING**

María Camila Mena Quintero

Proyecto de grado presentado como requisito parcial para optar al título de:

Ingeniero Biomédico

Director (a):

Ph.D. Ingeniero José Luis Narváez Semanate

Línea de Investigación:

E-Salud

Universidad Antonio Nariño

Programa de Ingeniería Biomédica

Facultad de Ingeniería Mecánica, Electrónica y Biomédica

Popayán, Colombia

2021

NOTA DE ACEPTACIÓN

El trabajo de grado titulado

CLASIFICACIÓN MORFOLÓGICA DE ERITROCITOS
EN IMÁGENES DIGITALES DE FROTIS DE SANGRE
PERIFÉRICA MEDIANTE DEEP LEARNING

_____ ,
Cumple con los requisitos para optar

Al título de _Ingeniero Biomédico_____.

Firma del Tutor

Firma Jurado

Firma Jurado

Popayán 2021

DEDICATORIA

Dedico este trabajo en primer lugar a Dios, por su amor infinito, por darme la fuerza y la vida para lograr mis propósitos.

A mis padres, Alirio y Adriana, por ser mi motor, por todo su amor y apoyo incondicional.

A mi hermana Laura, por su compañía y por estar siempre para mí.

A mis abuelos Lizardo y Libia †, Otoniel † y Justina †, por darme siempre su bendición e impulsarme a alcanzar mis objetivos.

A mis tíos Albeyro, Yamhile, Milena, Dario y Blanca, por apoyarme y animarme a seguir adelante.

A Carlos Ernesto, por sus consejos y por creer en mí.

AGRADECIMIENTOS

A mi Director, Ph.D. Ingeniero José Luis Narváez Semanate, por su valiosa orientación para llevar a cabo este trabajo.

Al Doctor Julián Augusto Córdoba Espinosa, Médico especialista en hematología, por su orientación desde la parte médica para el desarrollo de este trabajo.

A la Doctora Alba Rocío Medina, Bacterióloga especialista en hematología, por su aporte en la creación del banco de imágenes.

Al Doctor Franklin Jairo Correa Henríquez, por su orientación desde la parte médica para el desarrollo de este trabajo.

RESUMEN

En hematología, el hemograma es una de las pruebas valorativas empleadas con mayor regularidad en la praxis médica, ya que permite evaluar y cuantificar los diferentes tipos de células presentes en la sangre. Sin embargo, no todas las características de las células sanguíneas pueden detallarse con esta prueba, razón por la cual, se requiere realizar una inspección microscópica del extendido de sangre periférica. La exploración manual del frotis de sangre, permite extraer entre otros, información cualitativa acerca de las células sanguíneas, por medio de una inspección visual con ayuda del microscopio; la inspección es un proceso detallado y ordenado, que se realiza con el objetivo de buscar cambios morfológicos que permitan establecer diferencias entre normalidad y anormalidad.

Dado que se realiza de manera manual, los resultados de este tipo de clasificación, basada en parámetros cualitativos; dependen de la habilidad y experiencia del evaluador, lo que puede implicar errores, gasto de tiempo y dinero.

Teniendo en cuenta lo mencionado, se implementó en Matlab un método de clasificación eritrocitaria, basado en descriptores morfológicos (diámetro, perímetro, área, solidez, circularidad y concavidad), a partir de los cuales se entrenó una red neuronal, a partir de la cual se obtiene un porcentaje de exactitud del 83.3%.

Palabras clave: Método de clasificación, eritrocitos, clasificación morfológica, Deep Learning, red neuronal.

ABSTRACT

In hematology, the hemogram is one of the evaluative tests used with greater regularity in medical practice, since it allows to evaluate and quantify the different types of cells present in the blood. However, not all characteristics of blood cells can be detailed with this test, which is why a microscopic inspection of the peripheral blood smear is required. The manual exploration of the blood smear, allows to extract, among others, qualitative information about the blood cells, by means of a visual inspection with the help of the microscope; The inspection is a detailed and orderly process, which is carried out with the aim of looking for morphological changes that make it possible to establish differences between normality and abnormality.

Since it is carried out manually, the results of this type of classification, based on qualitative parameters; they depend on the skill and experience of the evaluator, which can lead to mistakes, time and money.

Taking into account the aforementioned, an erythrocyte classification method was implemented in Matlab, based on morphological descriptors (diameter, perimeter, area, solidity, circularity and concavity), from which a neural network was trained, from which a percentage of accuracy of 83.3% is obtained.

Keywords: Classification method, erythrocytes, morphological classification, Deep Learning, neural network.

TABLA DE CONTENIDO

INTRODUCCIÓN	1
1. CAPÍTULO 1.....	5
1.1 Planteamiento del Problema.....	5
1.2 Objetivos	7
1.2.1 Objetivo General	7
1.2.2 Objetivos Específicos	7
1.3 Justificación.....	8
2. CAPÍTULO 2.....	11
2.1 Bases teóricas	11
2.1.1 Formación de un eritrocito maduro	12
2.1.2 Morfología de eritrocitos	16
2.1.3 Procesamiento de imágenes	19
2.1.4 Imagen digital.....	19
2.1.5 Vecindad y conectividad de un pixel.....	20
2.1.6 Modelo RGB	21
2.1.7 Histograma	23
2.1.8 Conversión de RGB a grises	24
2.1.9 Binarización de la imagen.....	25
2.1.10 Segmentación de imágenes	25
2.1.11 Método de Otsu	26
2.1.12 Filtrado	27
2.1.13 Operaciones morfológicas.....	28
2.1.14 Rellenar regiones y agujeros de imagen	29
2.1.15 Eliminar objetos pequeños de la imagen	30
2.1.16 Elimina las estructuras de luz conectadas	31
2.1.17 Rasgos geométricos	31
2.1.18 Machine Learning.....	34
2.1.19 Terminología de Machine Learning	34
2.1.20 Algoritmos de Machine Learning.....	37
2.1.21 Redes neuronales y Deep learning.....	39
2.2 Estado del Arte	41
3. CAPÍTULO 3.....	46
3.1 Metodología.....	47
3.1.1 Fase 1. Muestreo.....	47

3.1.2	Fase 2. Exploración	51
3.1.3	Fase 3. Modificación	52
3.1.4	Fase 4. Modelado	53
3.1.5	Fase 5. Evaluación	56
3.2	Limitaciones.....	56
4.	CAPÍTULO 4.....	59
4.1	Resultados	59
4.2	Conclusiones	70
4.3	Recomendaciones.....	71
5.	ANEXOS	73
6.	BIBLIOGRAFÍA	75

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	<i>División de la Célula Madre Sanguínea.....</i>	13
Figura 2	<i>Etapas de Formación de los Eritrocitos.....</i>	14
Figura 3	<i>Eritrocitos Maduros en Extendido de Frotis de Sangre Periférica</i>	17
Figura 4	<i>Morfología Eritrocitaria.....</i>	18
Figura 5	<i>Vecindad y Conectividad de Pixeles Vecinos</i>	21
Figura 6	<i>Histograma</i>	24
Figura 7	<i>Binarización Usando el Método de Otsu.....</i>	27
Figura 8	<i>Ejemplo de Formas Básicas de Elementos Estructurantes Planos ...</i>	29
Figura 9	<i>Operación de Relleno de Regiones y Agujeros en una Imagen ...</i>	30
Figura 10	<i>Rasgos Geométricos</i>	33
Figura 11	<i>Tipo de Algoritmos Utilizados en Machine Learning</i>	38
Figura 12	<i>Arquitectura de una Red Neuronal</i>	40
Figura 13	<i>Fase de Muestreo</i>	50
Figura 14	<i>Características de Color de los Eritrocitos</i>	52
Figura 15	<i>Modificación Realizada a la Imagen Binarizada.....</i>	53

Figura 16	<i>Estructura del Sistema Modelado</i>	56
Figura 17	<i>Resultado del Entrenamiento de la Red</i>	63
Figura 18	<i>Curva ROC</i>	66

LISTA DE TABLAS

Tabla 1	<i>Características Morfológicas de las Etapas de Maduración Eritroide ...</i>	15
Tabla 2	<i>Escala del Modelo Aditivo</i>	22
Tabla 3	<i>Elementos de una Matriz y Notaciones en Machine Learning.....</i>	35
Tabla 4	<i>Terminología de Machine Learning</i>	36
Tabla 5	<i>Aportes y Desventajas de Artículos Científicos</i>	43
Tabla 6	<i>Estructura de la Tabla de Datos Empelada en el Entrenamiento</i>	61
Tabla 7	<i>Elementos de la Matriz de Confusión para Cada Clase</i>	64
Tabla 8	<i>Tabla comparativa.....</i>	67

LISTA DE SÍMBOLOS Y ABREVIATURAS

Símbolos con letras latinas

Símbolo	Término	Definición	
		Unidad SI	
<i>P</i>	Perimetro	m	Ec. (4)
<i>A</i>	Área	m ²	Ec.(5)
<i>Cv</i>	Concavidad	---	Ec.(6)
<i>C</i>	Circularidad	---	Ec.(7)

Abreviaturas

Abreviatura	Término
<i>EPO</i>	Eritropoyetina
<i>BFU-E</i>	Unidades Formadoras de Brote Eritroide
<i>CFU-E</i>	Unidades Formadoras de Colonias Eritroides
<i>PE</i>	Proeritroblastos
<i>EB</i>	Eritroblastos Basofílicos
<i>EPC</i>	Eritroblastos Policromatofílicos
<i>EO</i>	Eritroblastos Ortocromáticos
<i>RET</i>	Reticulocitos

Abreviatura**Término***CEM*

Células Eritroides Maduras

INTRODUCCIÓN

En el campo de la salud, específicamente en áreas dedicadas al análisis hematológico, es usual utilizar equipos y aplicar técnicas para observar y describir características de las células que permitan diferenciar condiciones normales o anormales de las mismas.

Dentro de la hematología, el hemograma es una de las pruebas valorativas empleadas con mayor regularidad en la praxis médica (López, 2016; Niambi, 2005; Torrens, 2015a), ya que permite cuantificar y evaluar los diferentes tipos de células presentes en la sangre (Breerton et al., 2015; Shirazi et al., 2015).

Sin embargo, no todas las características de las células sanguíneas pueden detallarse con esta prueba, razón por la cual, se requiere realizar una inspección microscópica del extendido de sangre periférica (B. H. González, 2009; Kasper, D.Fauci, 2020; Lewis & Bain, 2008; Shirazi et al., 2015; Terry & Mendoza, 2017) como una etapa final y necesaria para el análisis del hemograma. Este tipo de análisis está indicado para todos los hemogramas que muestren alteraciones en el proceso de recuento celular y cuando se presuma la existencia clínica de enfermedades hematológicas primarias, secundarias o en otros órganos (Maya Campuzano, 2008).

La exploración manual del frotis de sangre periférica, la cual se refiere al análisis microscópico detallado y ordenado, se realiza con el objetivo de buscar cambios

morfológicos relevantes para impartir diagnósticos o evaluar la evolución de pacientes (Comar et al., 2017).

Durante años, los fundamentos hematológicos dirigidos al análisis de sangre periférica han aportado valiosa información acerca de las tres series hemáticas (glóbulos rojos, blancos y plaquetas), por lo tanto, realizar inspecciones manuales ha resultado indispensable para detectar buena parte de las alteraciones morfológicas; no obstante, analizar las muestras del frotis de sangre periférica a través de un microscopio, es un método que requiere mucho tiempo, habilidad y experiencia, aunque es propenso a errores(Boonstra et al., 2010; Lorsch et al., 2014; Naugler et al., 2014); debido a que, a menudo, la inspección recae en un solo individuo, los casos varían y pueden sufrir cambios interobservador (Brereton et al., 2015) provocando desaciertos que pueden tener un impacto significativo en la sugerencia de diagnósticos.

En el caso especial de una de las células más abundantes en el cuerpo humano, como son los eritrocitos (glóbulos rojos), el análisis es de gran importancia ya que suele ser uno de los primeros pasos para determinar la condición patológica de un paciente. Los glóbulos rojos normales tienen forma bicóncava con un área central pálida, y cualquier desviación de tamaño, forma, volumen, estructura o color representa una célula anormal (Albertini et al., 2003; Maya Campuzano, 2008; Yoshida et al., 2019).

Se puede evidenciar la importancia de optimizar el reconocimiento morfológico, para la clasificación de células sanguíneas, en varios trabajos (Acharya & Kumar, 2017; Adollah et al., 2008; Aliyu et al., 2018; Almezghwi & Serte, 2020; Benazzouz et al., 2013;

Bergen et al., 2008; Çınar & Tuncer, 2021; Fatichah et al., 2012; Naugler et al., 2014; Parab & Mehendale, 2020; Sahlol et al., 2020; Theera-umpon, 2005; Yi et al., 2016) enfocados a secundar la inspección del frotis de sangre, teniendo en cuenta que la observación morfológica de las células sanguíneas puede ser uno de los procesos que presenta mayor dificultad al momento de realizarse. Dentro de los proyectos que se han desarrollado, se puede destacar el enfoque a la inspección general del extendido de sangre periférica (Naugler et al., 2014), asimismo, al desarrollo de sistemas de microscopía asistidos por computadora para la generación de hemogramas diferenciales (Bergen et al., 2008), la detección y segmentación, especialmente de los glóbulos blancos y rojos (Bergen et al., 2008), la clasificación automática de formas patológicas de eritrocitos humanos (Mejía & Alzate, 2015); ofreciendo una exhaustiva explicación sobre la importancia de la clasificación morfológica en el análisis de imágenes de frotis de sangre periférica en los que se señalan los resultados favorables obtenidos en el apoyo al diagnóstico a partir de las características morfológicas procesadas mediante las respectivas técnicas utilizadas.

ALCANCE

Investigar los procedimientos existentes para reconocer y clasificar objetos dentro del campo de la ingeniería, específicamente aplicaciones en el área de salud, determinando los aspectos más destacables que puedan implementarse en el proyecto. La presentación se realizará según la metodología establecida para lograr un modelo de clasificación morfológica de eritrocitos, que pueda aportar al reconocimiento de estas células.

A partir de un banco de imágenes que está formado por 100 láminas de frotis de sangre periférica, se buscara segmentar eritrocitos normales y anormales, para posteriormente, con ayuda de un Médico Hematólogo clasificar las células, con el propósito de reconocer las características morfológicas presentes en cada una. Se seleccionaran 100 células de 6 tipos (1 normal y 5 anormales) para construir una tabla de información que contenga 6 parámetros morfológicos (área, perímetro, diámetro solidez, circularidad y concavidad) que permitan realizar el entrenamiento de una red neuronal para reconocer el tipo de eritrocito, esto se lograra empleando herramientas disponibles en Matlab.

A través del uso de clasificadores se busca disminuir errores, costos y tiempo en el proceso de identificación y clasificación. En el proyecto, esto se logrará abarcando los descriptores morfológicos más relevantes para diferenciar dichas células.

1. CAPÍTULO 1

En la primera sección de este capítulo se da a conocer la importancia del análisis e inspección microscópica en procesos de identificación y clasificación celular en hematología, seguidamente se presenta situaciones que han llevado a la exploración celular bajo microscopio a convertirse en un proceso complejo y extenuante, finalmente se expone las razones por las cuales automatizar la identificación celular en hematología puede representar beneficios en el campo de la salud.

1.1 Planteamiento del Problema

Para el análisis clínico del hemograma, los laboratorios de hematología suelen disponer de tecnología automatizada que aporta velocidad en el proceso de recuento celular (Arquitectura et al., 2016; Campuzano, 2013; Fink, 2005), sin embargo, no se puede descartar la tradicional exploración microscópica del frotis de sangre periférica (González, 2011; López, 2016; Niambi, 2005; Torrens, 2015b; Vademecun, 2020), puesto que permite al especialista en hematología, reconocer variaciones morfológicas con importancia diagnóstica que no son identificados por los autoanalizadores (Shirazi et al., 2015; Torrens, 2015a).

Durante la revisión microscópica, la observación directa implica altos grados de dificultad y subjetividad para determinar si se trata inicialmente de una célula normal o anormal, que pueda ocasionar variaciones en la sugerencia de un diagnóstico; por consiguiente, dentro de la inspección eritrocitaria, la clasificación de las células considera

los cambios morfológicos que puedan presentarse en estas (Albertini et al., 2003; Maya Campuzano, 2008; Yoshida et al., 2019).

A lo largo del tiempo, se ha recolectado evidencia de que al observar estas células sanguíneas en el microscopio, la descripción y cualificación de las mismas, es frecuentemente realizada de manera errónea (Boonstra et al., 2010; Lorsch et al., 2014; Naugler et al., 2014); durante las etapas de análisis y post análisis donde se llevan a cabo procesos de identificación, interpretación, clasificación, entre otros, se han obteniendo porcentajes de error entre 13% y 46% (De la Salle, 2019), siendo este un obstáculo en campos de estudio, diagnóstico, tratamiento y seguimiento de enfermedades hematológicas y no hematológicas, por ejemplo, por la observación y especificación incorrecta de hipocromía. De la misma forma y por dificultad en la observación del color, forma, tamaño e inclusiones citoplasmáticas de los eritrocitos, se puede estar obviando una alteración hematológica relacionada con anemias ferropénicas y talasemias (Guzmán et al., 2016; Jaramillo & Acevedo, 2013); adicionalmente, errores en la inspección microscópica pueden estar relacionados con la poca cantidad de muestra examinada, con requerir pruebas en el paciente equivocado, contaminación de la muestra, muestras hemolizadas, coaguladas y principalmente a una observación microscópica no detallada, siendo esta última una de las causas relacionadas directamente con las dificultades que pueda presentar el profesional para identificar ciertas características (Boonstra et al., 2010; Carraro & Plebani, 2007; Hammerling, 2012; Naugler et al., 2014), que pueden ser cruciales para clasificar eritrocitos, en otros casos los errores pueden implicar repetir innecesariamente mediciones y exámenes, dando lugar a un aumento del costo y sobre carga laboral para la persona encargada de

analizar la muestra (Cano Corres & Fuentes Arderiu, 2007), en la situación actual la optimización de los recursos, tanto humanos como económicos, es esencial.

1.2 Objetivos

1.2.1 Objetivo General

Implementar un método de clasificación eritrocitaria, basado en descriptores morfológicos, para determinar la normalidad o anormalidad de los eritrocitos en el frotis de sangre periférica, como apoyo a la inspección microscópica en hematología.

1.2.2 Objetivos Específicos

- Desarrollar un método de clasificación basado en Deep Learning a partir de descriptores morfológicos tomados de las imágenes del frotis de sangre periférica, específicamente, la variación del tamaño, la distribución de hemoglobina (color), la variación de la forma e inclusiones citoplasmáticas, para determinar la normalidad o anormalidad de los eritrocitos en el frotis de sangre periférica.
- Construir un banco de imágenes para obtener las características morfológicas más significativas de cada una y lograr que los algoritmos de aprendizaje realicen una correcta asimilación de información para posteriormente evaluar el desempeño del clasificador.

- Utilizando la base de datos anterior, evaluar el método de clasificación mediante la validación profesional de un hematólogo y de herramientas como la matriz de confusión y curvas ROC para visualizar el desempeño del algoritmo de clasificación.

1.3 Justificación

Las técnicas de diagnóstico en hematología que se utilizan actualmente tienen como objetivo lograr resultados fiables; los laboratorios clínicos juegan un papel importante en la toma de decisiones de los médicos sobre sus pacientes, alrededor del 60% al 70% (Arul et al., 2018) de las decisiones clínicas, con respecto al diagnóstico y tratamiento de patologías sanguíneas, se basan en resultados de inspección microscópica en el laboratorio (Abdollahi et al., 2014); sin embargo, pueden ocurrir errores en cualquier fase durante el procesamiento de la muestra, considerando esto como variables incontrolables que puedan generar confusión al momento de entregar resultados (Chhillar et al., 2011; Ibrahim et al., 2012).

Considerando lo anterior, se propone un método de clasificación morfológica eritrocitaria por computadora con la finalidad de facilitar la interpretación de la imagen del frotis de sangre de forma confiable.

Para lograrlo, el desarrollo de técnicas de procesamiento y clasificación de imágenes digitales, basadas en el aprendizaje de características, resulta favorable para la optimización de la revisión manual del frotis de sangre, ya que este tipo de métodos basados en machine

(Villaluenga, 2019), específicamente con el método de aprendizaje deep learning (LeCun et al., 2015), facilitan la detección automática de objetos, minimizan tiempo, costos, y confieren precisión y velocidad, ya que el entrenamiento se realiza usando una red neuronal artificial que permite almacenar la información para clasificaciones a posteriori; este método resulta ser una herramienta de apoyo diagnóstico principalmente, cuando la revisión depende de la habilidad y experiencia del evaluador.

El método de clasificación basado en deep learning que se proyecta, se ve impulsado por el deseo de contribuir, desde la ingeniería biomédica, al desarrollo de sistemas para el fortalecimiento del análisis hematológico, especialmente, para la clasificación de eritrocitos, ya que estos, al ser el grupo más grande de células sanguíneas, desempeñan un papel como primeros indicadores de enfermedades tales como la malaria, anemia, leucemia, entre otras (Mazalan et al., 2014).

2. CAPÍTULO 2

Este capítulo comprende antecedentes y marco teórico, necesarios para organizar la información existente sobre reconocimiento y clasificación morfológica de eritrocitos. La información recopilada es una guía para el desarrollo del proyecto, ya que a partir de la investigación, surgen ideas de cómo hacer el estudio o hacia dónde dirigirlo, la información que se presenta a continuación permite centrar los objetivos en el problema planteado y no desviarse de él.

En la primera sección de este capítulo se presenta una breve descripción de técnicas de reconocimiento y clasificación de células sanguíneas reportadas en la literatura; a partir de las cuales se resaltan aquellos relacionados con el reconocimiento y clasificación eritrocitaria, seguidamente se presenta los fundamentos teóricos necesarios para comprender el proceso de formación de un eritrocito maduro, y cómo a partir del uso de recursos tecnológicos propios del procesamiento de imágenes y datos en ingeniería se puede entrenar una sistema capaz de reconocer parámetros morfológicos de manera autónoma.

2.1 Bases teóricas

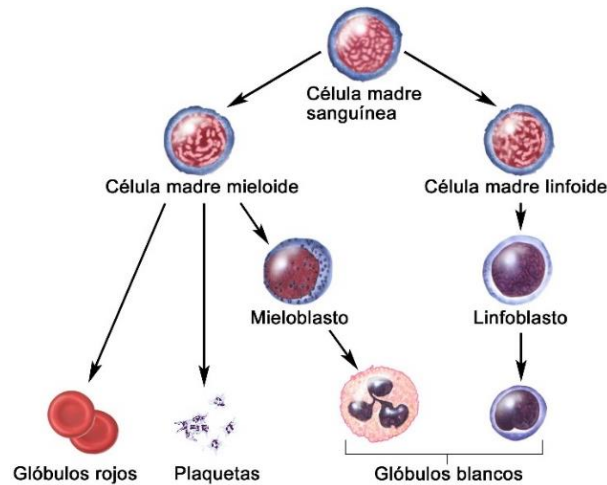
A continuación, se presentan las bases teóricas que sustentan la investigación sobre el desarrollo de sistemas de clasificación basados en la morfología de eritrocitos. En esta sección se abarcan temas que exponen aspectos importantes de la formación morfológica del glóbulo rojo, adicionalmente, se incluye información necesaria para comprender, cómo a partir de una imagen se puede extraer información y diseñar un conjunto de algoritmos de aprendizaje que

emulen la forma en la que el cerebro humano procesa la información y sean capaces de clasificar de manera autónoma.

2.1.1 Formación de un eritrocito maduro

El desarrollo del eritrocito maduro surge a partir de un proceso de formación y maduración denominado hematopoyesis (Rodak, 2010), durante este suceso, las células madres pluripotenciales se renuevan, proliferan, replican y diferencian (Romito & Cobellis, 2016; Yu & Thomson, 2008), dando lugar a los distintos tipos de células maduras (Madhumita & Zon, 2013) que pueden identificarse por su morfología. La hematopoyesis tiene lugar en la médula ósea en donde se forman células madre, precursoras y maduras (Kasper, D.Fauci, 2020), no obstante, una vez el eritrocito se transforma en una célula madura, es liberado hacia la sangre periférica (Adewoyin & Nwogoh, 2014; Kasper, D.Fauci, 2020; Longo, 2012); si se presentaran alteraciones durante la hematopoyesis, podría desarrollarse situaciones de sobreproducción de células hematopoyéticas como las leucemias, o a una producción deficiente de las mismas como en la anemia aplásica (Mayani et al., 2007).

Como se ha mencionado, las células madres pluripotenciales (Romito & Cobellis, 2016) (Romito & Cobellis, 2016) , son células capaces de proliferarse, estas células gracias a factores de crecimiento, se dividen en dos grupos, mieloides y linfoides; las células mieloides son producidas a partir de un proceso conocido como mielopoyesis, mientras que las linfoides resultan de la linfopoyesis (Karpovitch, 2021). La célula madre mieloides (Sepúlveda & Soto, 2014), se transforma en uno de los tres tipos de células sanguíneas, glóbulos rojos, plaquetas y glóbulos blancos. Este proceso se ilustra en la Figura 1.

Figura 1*División de la Célula Madre Sanguínea*

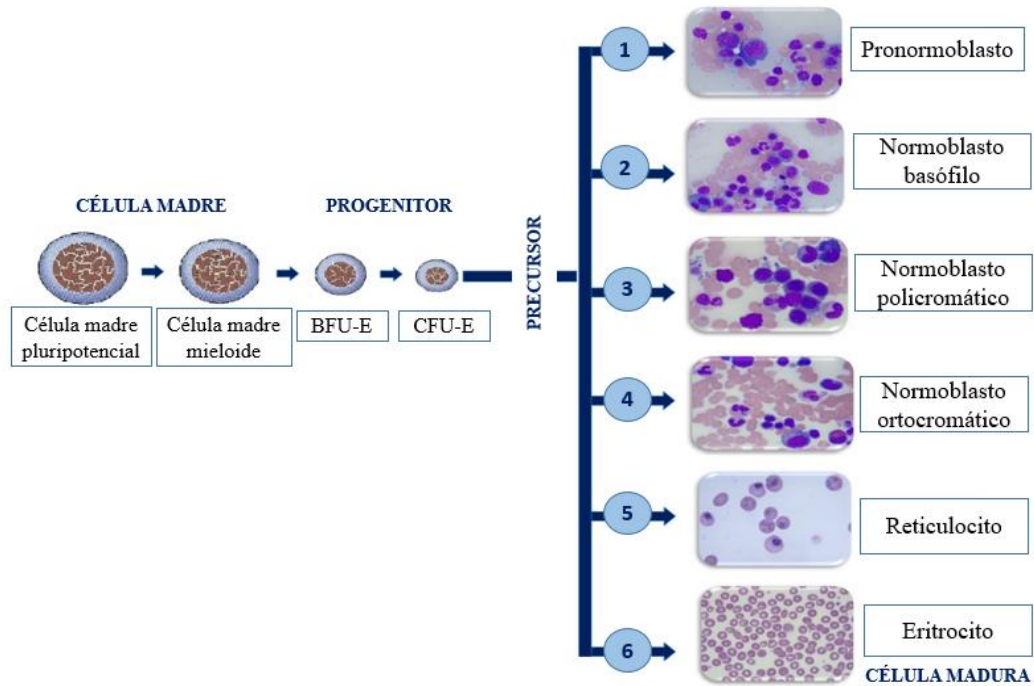
Nota. La célula madre sanguínea da origen a la célula madre mieloide y linfoide, que a su vez originan a los tres tipos de células sanguíneas (glóbulos rojos, glóbulos blancos y plaquetas). Fuente: Figura tomada de (Espinoza, 2016).

A partir de la formación de la célula madre mieloide y gracias a un proceso conocido como eritropoyesis (Tobella, 1982; Universidad militar Nueva Granada, 2020), se estimula la liberación de eritropoyetina (EPO) (Bunn, 2013), una hormona encargada de inducir la proliferación y maduración de los precusores eritroides. En la eritropoyesis el progenitor eritroide da origen a unidades formadoras de brote eritroide (BFU-E), las cuales a su vez originan unidades formadoras de colonias eritroides (CFU-E), para posteriormente dar lugar a proeritroblastos (PE), eritroblastos basofílicos (EB), eritroblastos policromatófilicos (EPC), eritroblastos ortocromáticos

(EO), reticulocitos (RET) y finalmente células eritroides maduras (Fernández et al., 2010; Karpovitch, 2021; Rodak, 2010; Sepúlveda & Soto, 2014). En la Figura 2 se ilustra este proceso.

Figura 2

Etapas de Formación de los Eritrocitos



Nota. En la parte izquierda de la ilustración se presentan las etapas de formación de las células progenitoras, en el lado derecho se evidencia las etapas de formación por las que atraviesa el eritrocito hasta convertirse en una célula madura. Fuente: Parte izquierda de la ilustración adaptada de (Rodak, 2010), la sección derecha de la figura es de origen propio, corresponden a imágenes captadas en el laboratorio de patología clínica, de la clínica “La Estancia”- Popayán.

Como puede apreciarse en la figura anterior, a medida que el eritrocito se desarrolla, presenta características morfológicas propias, que facilitan identificar y distinguir en qué etapa de

formación se encuentra (Tabla 1), conocer la morfología desde la etapa de formación es valioso porque puede dar indicio de formaciones anormales (Tarín et al., 2015; Vademécum, 2020).

Tabla 1

Características Morfológicas de las Etapas de Maduración Eritroide

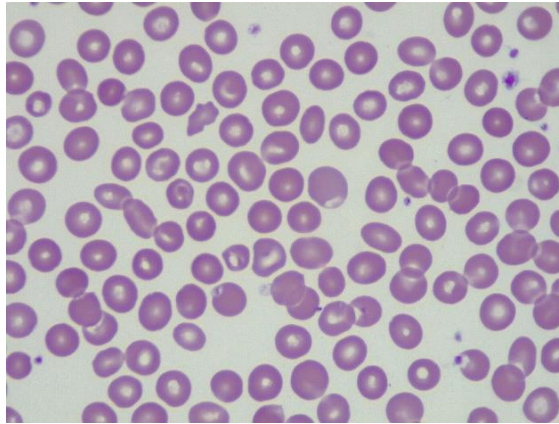
Etapas de Formación	Tamaño	Núcleo	Citoplasma	Localización
Pronormoblasto	12 – 20 μm	Redondo	Azul oscuro	Médula ósea (Pronormoblastos se encuentran en un 1%)
Eritroblastos basófilos	10 – 15 μm	Redondo	Azul oscuro	Médula ósea (Eritroblastos B. se encuentran en un 1-4%)
Eritroblastos policromático	10 – 12 μm	Redondo	Azul grisáceo	Médula ósea (Eritroblastos P. se encuentran en un 10-20%)
Eritroblastos ortocromático	8 – 10 μm	Redondo	Azul salmón	Médula ósea (Eritroblastos O. se encuentran en un 5-10%)
Reticulocito	8 – 8,5 μm	Ausente	Azul salmón	Médula ósea (Reticulocitos se encuentran en un 1%) Sangre periférica (Reticulocitos se encuentran en un 0.5-2%)
Eritrocito maduro	7 – 8 μm	Ausente	Salmón	Sangre periférica: Célula predominante

Pese a la importancia que tienen las características morfológicas del eritrocito en cada una de las etapas de formación, es relevante para el desarrollo del proyecto, conocer a profundidad las características morfológicas del eritrocito maduro, puesto que, es la morfología (tamaño, color, forma, etc.) de esta fase, la que permitirá entrenar el sistema de aprendizaje. Esta tabla ha sido adaptada de (Hamid, 2013; Rafael et al., 2019; Rodak, 2010).

2.1.2 Morfología de eritrocitos

Los eritrocitos, forman parte de alrededor del 45% del total del volumen de la sangre (Zamudio, 2017) , estos nacen en la médula ósea, donde maduran y son liberados al torrente circulatorio. Estas células viven 120 días, en los cuales cumplen con dos funciones importantes, se encargan de proveer oxígeno (O_2) a todas las células y a su vez, recogen dióxido de carbono (CO_2) y productos de desecho del metabolismo celular (Berga, 2009).

El eritrocito es una estructura independiente, anucleada, que tienen la forma de una esfera desinflada, referido como un “disco bicóncavo” (Fernández et al., 2010; Maya Campuzano, 2008; Rodak, 2010), tienen un tamaño que oscila entre 7 y 8 μm (Bjerrum, 2010), un volumen aproximado de 91 fl y un área de casi 135 μm^2 (Tombak, 2019), bajo el microscopio y con la aplicación de técnicas propias de laboratorio (Villatoro & To, 2018), se visualizan como se muestra en la Figura 3, donde se observa el área central pálida y una concentración mayor de la hemoglobina en la periferia.

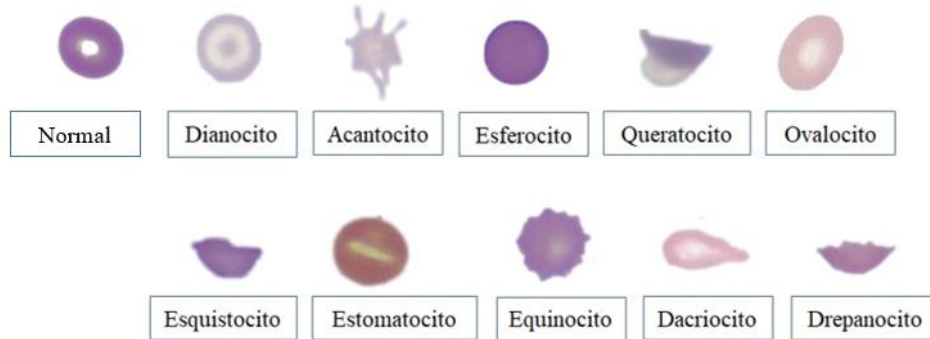
Figura 3*Eritrocitos Maduros en Extendido de Frotis de Sangre Periférica*

Fuente: Propia, imagen captada en el laboratorio de patología clínica, de la clínica “La Estancia”- Popayán.

Partiendo de lo antedicho, para determinar qué características de las que se observan no son normales en la morfología eritrocitaria, se consideran aquellas propiedades físicas que se encuentran fuera de su estado natural o de las condiciones que deberían mantenerse para que pueda considerarse normal (Arquitectura et al., 2016; Rodak, 2010; Simón Pita, 2019; Vademecun, 2020). En la Figura 4 se presenta la morfología eritrocitaria (Jones, 2009), clasificada por tamaño, color, forma, presencia de inclusiones, distribución de células y formación de cristales (Bhargava et al., 2018; Ford, 2013; Lynch, 2011; Pathologists, 2018).

Figura 4

Morfología Eritrocitaria



Fuente: Elaboración propia. Células captadas en el laboratorio de patología clínica, de la clínica “La Estancia”- Popayán.

A nivel clínico, para clasificar a los eritrocitos por color, se dice que, el área de la palidez central de la célula está relacionada con el área total de la célula, esta relación se expresa como $1/3$; que, según la palidez central, permite clasificar a los eritrocitos como, normocrómicos cuando la palidez central = $1/3$, que corresponde a una cantidad normal de hemoglobina, hipocrómicos cuando la palidez central $< 1/3$, que corresponde a una cantidad baja de hemoglobina, e hiperocrómicos cuando la palidez central $> 1/3$, que corresponde a una cantidad alta de hemoglobina (Ford, 2013; Lynch, 2011; Rahman et al., 2021). Estos elementos actúan como tres características discriminatorias, que desempeñan un papel importante en la clasificación de los glóbulos rojos.

Para clasificar a los eritrocitos por su forma y tamaño se considera principalmente la relación entre el área, el perímetro, la solidez, la circularidad y el diámetro, que permiten describir geoméricamente a la célula (Mejía & Alzate, 2015; Rahman et al., 2021).

2.1.3 *Procesamiento de imágenes*

En esta sección del capítulo se presenta una revisión general de la técnica de procesamiento de imágenes, en el que se exponen los diferentes filtros y métodos de análisis existentes, que son utilizados para el cumplimiento de los objetivos de este proyecto. El procesamiento de imágenes es crucial en esta investigación pues son las herramientas de esta área las que permiten mejorar la calidad de las imágenes con el objetivo de prepararlas para la extracción de información. El procesamiento de imágenes digitales implica el uso de ordenadores por medio de los cuales se manipulan las imágenes digitales a fin de mejorar su calidad o modificar su forma (Medrano, 2014).

2.1.4 *Imagen digital*

Una imagen digital es una serie de números enteros, denominados números digitales, cada uno de los cuales cuantifica el nivel de gris o el grado de oscuridad en un elemento en particular (Nucci et al., 2014), haciendo referencia a una función en dos dimensiones $f(x, y)$, donde: x , y son coordenadas espaciales, f corresponde a la amplitud en el punto (x, y) , por tanto una imagen digital es una reproducción pictórica que se divide en una cuadrícula de puntos (x, y) o píxeles ; tanto las coordenadas x , y , como la amplitud de la función f son valores finitos (Gonzales, 2014; Wolf et al., 2014a). En el procesamiento de imágenes digitales, el número digital de cada píxel en una imagen original se ingresa en una computadora, con su ubicación de filas y columnas, seguidamente tras realizar una operación, internamente se realizan acciones sobre el número digital, para

posteriormente almacenar los resultados en otra matriz que corresponde a la imagen nueva o modificada (Wolf et al., 2014b).

2.1.5 *Vecindad y conectividad de un pixel*

Vecindad

- **4 vecinos**

Los 4 vecinos del píxel P , indicados por $N_4(P)$, corresponden a los píxeles ubicados en $(x - 1, y)$, $(x + 1, y)$, $(x, y - 1)$ y $(x, y + 1)$, posicionados respectivamente, arriba (norte), abajo (sur), a la izquierda (oeste) y derecha (este) del píxel P .

- **8 vecinos**

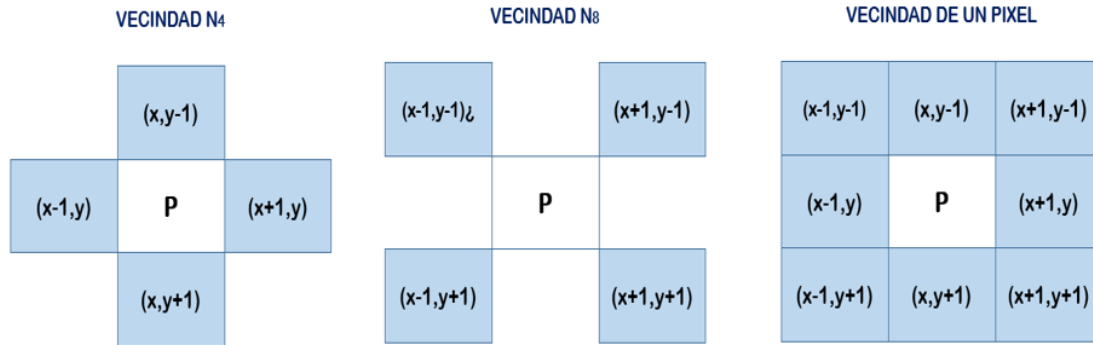
Los 8 vecinos del píxel P , indicados por $N_8(P)$, corresponden a los píxeles ubicados en $(x - 1, y - 1)$, $(x - 1, y + 1)$, $(x + 1, y - 1)$ y $(x + 1, y + 1)$, posicionados en noroeste, noreste, suroeste y sureste del píxel P . En la Figura 5 se muestran los tipos de vecindad.

Conectividad

La conectividad entre dos píxeles P y Q en una imagen, se establece si P y Q son vecinos y además sus niveles de gris se encuentran dentro de la similitud. Se puede establecer tres tipos de adyacencia entre dos píxeles P y Q , la 4 adyacencia, la 8 adyacencia y la m adyacencia.

Figura 5

Vecindad y Conectividad de Pixeles Vecinos



Fuente: Figura adaptada de (Sinecen, 2016).

2.1.6 Modelo RGB

El espectro visible para el ser humano se encuentra entre la luz violeta y la luz roja, la luz se refleja y es capturada por el ojo humano a través de la córnea. La córnea inclina la luz hacia la pupila, que regula la cantidad de luz que llega al cristalino (Colicchia et al., 2008), que a su vez, enfoca la luz en la retina (Zhu et al., 2012).

La retina tiene dos tipos distintos de células que detectan la luz y reaccionan frente a ella, se trata de los conos y los bastones (Baker & Kerov, 2013); los conos, por su lado, contienen pigmentos o moléculas que detectan el color (Puell, 2006), los seres humanos tienen tres tipos de conos: rojo, verde y azul (Ferreruela, 2007), por tanto el ojo humano capta los colores partiendo de la combinación de tres colores primarios: rojo (R), verde (G) y azul (B) (Willoughby et al., 2010). Considerando lo mencionado, se plantea que un modelo de colores es un modelo matemático con

el que es posible representar un color en forma numérica (Pajares, 2001). El modelo RGB, es uno de los modelos más conocidos, su nombre viene de las iniciales de Red, Green y Blue, así mismo los colores se consiguen sumando haces de luz roja, verde y azul en diferentes proporciones, por lo que también es conocido como modelo “aditivo”.

A partir del modelo RGB se forman los colores primarios de la luz, ya que con ellos, se pueden representar todos los colores, siendo negro la oscuridad absoluta y blanco representa la claridad absoluta (Taquiá, 2017). Cada color primario se codifica con un byte (8 bits) de manera que la intensidad de cada una de las componentes se mide según una escala que va del 0 (que significa que tiene nada de intensidad) al 255 (que significa que tiene toda la intensidad) (Tabla 2)(Ordoñez, 2005; Sinecen, 2016; Tyagi, 2018; Zambrano U., 2018).

Tabla 2

Escala del Modelo Aditivo

Color resultante	Rojo (R)	Verde (V)	Azul (A)
Negro	0	0	0
Blanco	255	255	255
Rojo	255	0	0
Verde	0	255	0
Azul	0	0	255
Amarillo	255	255	0
Cian	0	255	255
Magenta	255	0	255

2.1.7 Histograma

El histograma es una representación gráfica de los datos que contienen los distintos tonos de una imagen (Catalán, 2019), definido en la literatura como una función $f(x, y)$ con L niveles de gris dentro de un rango $[0, L-1]$, denotado como $h(rk)$ la cual es una función discreta (Azuela, 2014), como se muestra en la ecuación (1).

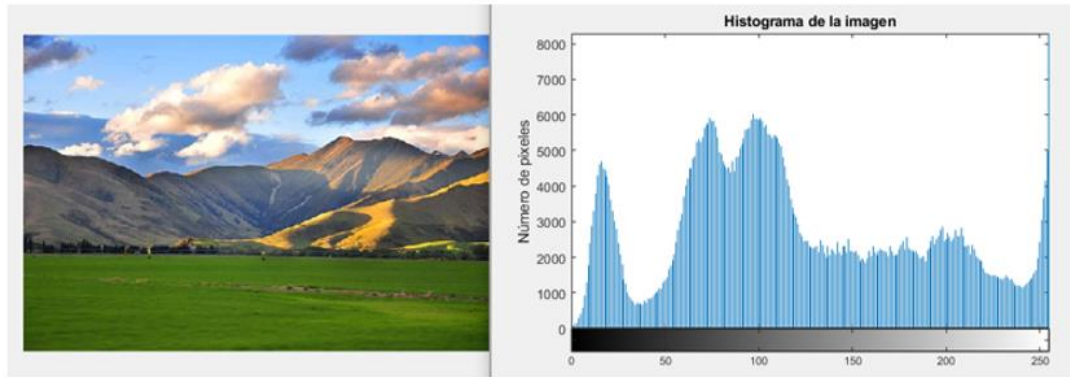
$$h(rk) = \frac{nk}{N} \quad (1)$$

donde rk es el k -ésimo nivel de gris, nk es el número de píxeles en la imagen con el nivel de intensidad rk y N es el número total de píxeles en la imagen.

Un histograma se representa mediante una gráfica de barras que representa la frecuencia relativa de los niveles de intensidad de una imagen (Roberto, 2013), el eje horizontal representa los diferentes tonos de gris desde el negro puro (a la izquierda) al blanco puro (a la derecha) (Depaoli et al., 1903); por lo tanto en un histograma se registra la frecuencia a la que se producen las mediciones o el rango de medición (Stéphane, 2009). La medición para cada tono generalmente se registra en el eje horizontal y la frecuencia o el número de píxeles que contiene la imagen se registran en el eje vertical. Esta descripción se ilustra en la Figura 6.

Figura 6

Histograma



Nota: Es inusual ver que exista una distribución equitativa en el histograma, es más común que tenga forma de una campana (Banday et al., 2020; Gao, 2009). En la figura a) corresponde a la imagen original, b) es el histograma de la imagen. Fuente: Elaboración propia.

2.1.8 Conversión de RGB a grises

En una imagen RGB, los valores de intensidad para cada una de sus componentes están en el rango de 0 a 255 (Ordoñez, 2005). El proceso de conversión a niveles de gris consiste en calcular el promedio de los valores de intensidad de las tres componentes (Domínguez, 1996). Cada valor calculado se redondea para formar una nueva matriz con valores de intensidad que pueden estar en el rango de 0 a 255 (Taquía, 2017).

2.1.9 Binarización de la imagen

Durante el proceso de segmentación, uno de los procesos más importantes es la binarización de la imagen, ya que esto permite convertir los niveles de gris en valores binarios. En una imagen binaria, solo pueden existir 2 valores, 1 los píxeles correspondientes al objeto y con 0 aquellos que corresponden al fondo (R. C. Gonzalez & Woods, 2018; Nucci et al., 2014), la binarización es decisiva para una buena segmentación de la imagen, puesto que esto permitirá separar el fondo de los objetos de interés (Sinecen, 2016).

2.1.10 Segmentación de imágenes

La segmentación de imágenes, consiste en un proceso de división de la imagen, en las partes que la constituyen hasta un nivel de división en el que se aíslan las regiones u objetos de interés (R. Gonzalez & Woods, 2008). Los algoritmos de segmentación se basan en las propiedades básicas de los valores del nivel de gris es decir, la discontinuidad o similitud entre los niveles de gris existentes con los píxeles vecinos (Medrano, 2014). Los algoritmos de segmentación están orientados a utilizar técnicas de reconocimiento de regiones y detección de bordes (Bovik, 2009), estas técnicas respectivamente hacen referencia a la agrupación de píxeles de acuerdo a la similitud que pueda existir entre ellos y a la búsqueda del contorno de los objetos de interés mediante los límites de las regiones.

La umbralización es una técnica de segmentación ampliamente utilizada cuando hay una clara diferencia entre los objetos a extraer respecto del fondo de la escena. Los principios que rigen

son la similitud entre los píxeles pertenecientes a un objeto y sus diferencias respecto al resto. Por tanto, la escena debe caracterizarse por un fondo uniforme y por objetos parecidos (Lopez, 2005).

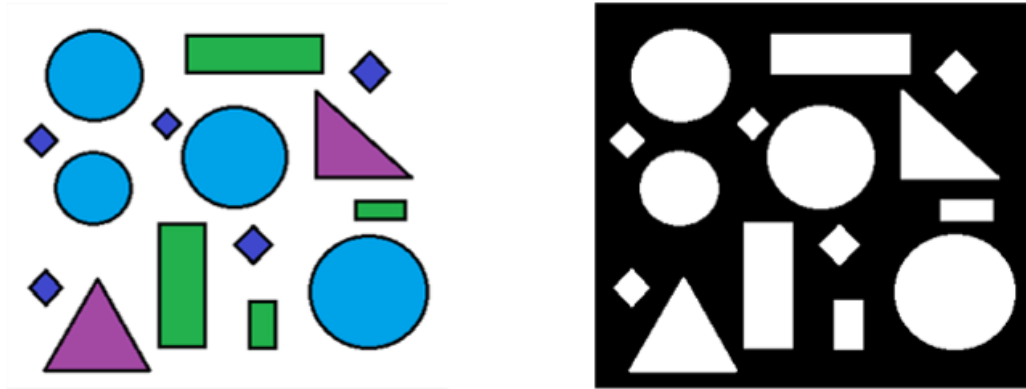
2.1.11 Método de Otsu

El método de umbral de Otsu implica iterar a través de todos los posibles valores de umbral (Bangare et al., 2015) y calcular una medida de dispersión para los niveles de píxeles a cada lado del umbral (Yousefi, 2015). El objetivo es encontrar el valor de umbral en el que la suma de los diferenciales de primer plano y de fondo sea mínima (Liu & Yu, 2009).

La conversión de una imagen en escala de grises a monocromática es una tarea común de procesamiento de imágenes. El método de Otsu, que lleva el nombre de su inventor Nobuyuki Otsu, es uno de los muchos algoritmos de binarización, el método elige un umbral óptimo maximizando la varianza entre las clases utilizando una búsqueda exhaustiva (García, 2008; Szpringer, 1973), esta descripción puede verse en la Figura 7 .

Figura 7

Binarización Usando el Método de Otsu



Nota. La importancia del método de Otsu radica en que es automático, es decir, no necesita supervisión humana ni información previa antes de su procesamiento (Lopez, 2005).

Fuente: Elaboración propia.

2.1.12 Filtrado

Un filtro de imagen es una técnica mediante la cual se resaltan o suprimen, de forma selectiva, información contenida en una imagen a diferentes escalas espaciales, para destacar algunos elementos de la imagen, o también para ocultar valores anómalos. Para transformar la imagen modifican determinados rangos de frecuencia de los píxeles en las imágenes, operan directamente sobre cada píxel en función de sus vecinos. Los filtros se pueden expresar mediante la siguiente ecuación ((2) (Rojas et al., 2018).

$$ND'_{i,j} = \frac{ND_{i-1,j-1} + ND_{i,j-1} + ND_{i+1,j-1} + ND_{i-1,j} + ND_{i,j} + ND_{i+1,j} + ND_{i-1,j+1} + ND_{i,j+1} + ND_{i+1,j+1}}{9} \quad (2)$$

donde i y j representan la fila y la columna de cada pixel, $ND_{i,j}$ su nivel digital y $ND'_{i,j}$ el nivel digital obtenido tras hacer el filtrado.

Mediante diferentes combinaciones de parámetros asignados a los diferentes pixeles circundantes se pueden conseguir diferentes efectos, durante el proceso de segmentación de las imágenes de frotis de sangre periférica, se empleó el filtro mediana.

El filtro mediana es un filtro en el dominio del espacio, es utilizado para eliminar ruido en una imagen, tiene la ventaja de que el valor final del pixel es un valor real presente en la imagen y no un promedio, de este modo se reduce el efecto borroso que pueden tener las imágenes. La mediana se calcula ordenando los valores de los pixeles vecinos en orden y seleccionado el que queda en medio.

2.1.13 Operaciones morfológicas

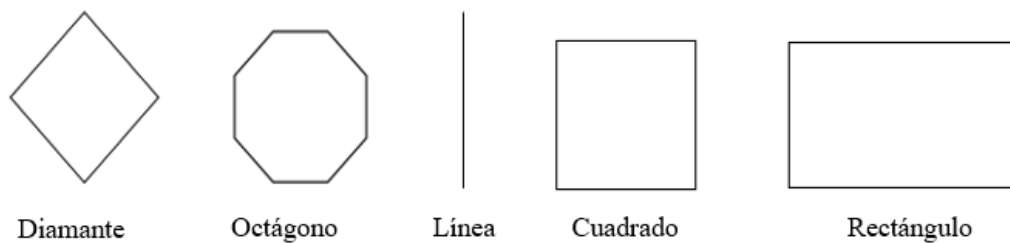
La morfología matemática se basa en el análisis de las estructuras espaciales, sobre las cuales se realiza operaciones de teoría de conjuntos; dicho análisis es morfológico porque se basa en la geometría y la forma de los objetos (Soille, 2001).

La principal aplicación de las operaciones morfológicas es en las imágenes binarias, es usada frecuentemente con el objetivo de suavizar bordes, remover pequeños componentes o unir elementos no conectados, tratando de mantener siempre la forma original de los objetos (Torres &

Bello, 2006), esto se logra por medio de otro conjunto de forma conocida como elemento estructurante. El tamaño y la forma de este elemento se escogen de acuerdo a la morfología del conjunto sobre el que va aplicar y de acuerdo a la extracción de formas que se desean obtener (Zamora, 2002). En la Figura se presentan algunos de los elementos estructurantes más utilizados.

Figura 8

Ejemplo de Formas Básicas de Elementos Estructurantes Planos



Fuente: Elaboración propia.

2.1.14 Rellenar regiones y agujeros de imagen

Consiste en una secuencia de dilataciones, complementos e intersecciones a partir de los cuales se realiza un proceso de relleno, en el que se aplica recursivamente la siguiente ecuación (3).

$$X_k = (X_{k-1} + B) \cap A_c \quad (3)$$

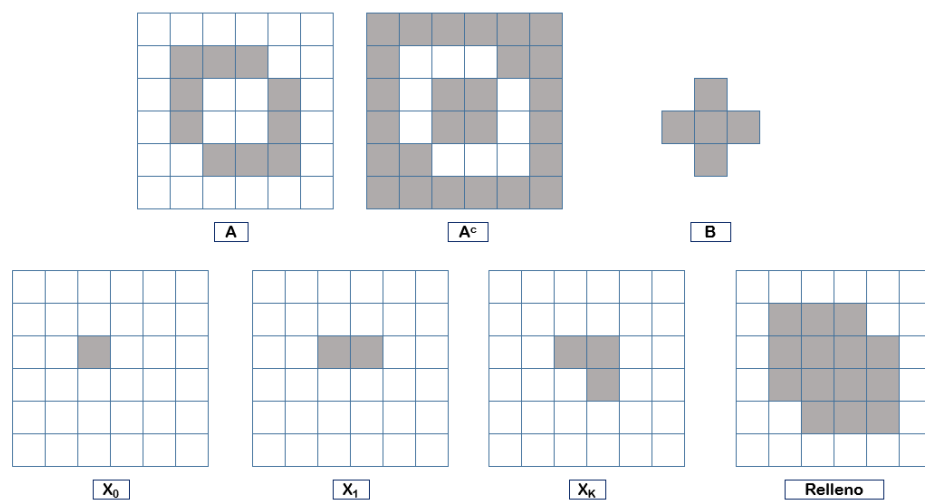
donde:

- $k = 1, 2, 3, 4, \dots$
- B es el elemento estructural siguiente.

El algoritmo se repite "n-veces" hasta que $X_k = X_{k-1}$. La unión de X_k y A es la frontera y la región rellena, es decir, se logra mantener los puntos dilatados siempre dentro de los bordes de la imagen original. En la Figura 9 se ilustra este proceso.

Figura 9

Operación de Relleno de Regiones y Agujeros en una Imagen



Fuente: Elaboración propia.

2.1.15 Eliminar objetos pequeños de la imagen

El cierre morfológico elimina todos los componentes conectados que tienen menos de P píxeles de la imagen binaria, es útil para rellenar pequeños agujeros de una imagen conservando la forma y el tamaño de los objetos de la imagen, esta operación se conoce como apertura de área.

2.1.16 Elimina las estructuras de luz conectadas

Suprime las estructuras en la imagen que son más claras que su entorno y que están conectadas al borde de la imagen.

2.1.17 Rasgos geométricos

Las características geométricas de los objetos en una imagen, son mediciones que pueden obtenerse del número de píxeles de una región de la imagen, la cantidad de píxeles del contorno de un objeto, esquinas de un objeto, o bien puntos característicos del esqueleto de un objeto (Castejón et al., 2007; Matlab, 2017; Rico, 2015).

- **El perímetro**

Corresponde al número total de píxeles que conforman, sin embargo, los píxeles de bordes diagonales se ponderan con raíz de dos ($\sqrt{2}$), como se presenta en la ecuación (4) (Olson, 2011).

$$P = h + v + \sqrt{2} d \tag{4}$$

donde, h corresponde a los componentes horizontales, v corresponde a los componentes verticales y d a los componentes diagonales.

- **El diámetro:** Corresponde a la distancia existente entre dos píxeles del contorno, que se encuentren más alejados. El fragmento que los une se denomina eje mayor y el eje perpendicular a éste, se define como eje menor (Olson, 2011).
- **El área:** Se define como la suma de las áreas de cada pixel individual p que componen la región, expresada como la ecuación (5) (Olofsson, 2014).

$$A = \sum a_p \quad (5)$$

- **Envolvente (Bounding box):** Encierra al objeto de análisis (Olson, 2011).
- **La solidez:** Corresponde a la relación de píxeles del casco convexo que se encuentran en la región, devuelta como escalar (Olson, 2011).
- **Concavidad:** La concavidad de un objeto se puede determinar a través de la división del área total del elemento, por el área interna del elemento (Rahman et al., 2021). Esta descripción se presenta en la ecuación (6).

$$Cv = \frac{At}{Ai} \quad (6)$$

donde , At es el área total y Ai corresponde al área interna.

Circularidad: La circularidad corresponde a la relación entre el perímetro (P) de un círculo y su área (A), que describe la forma de una partícula (Cox, 1927); por tanto, la circularidad puede variar de dos formas, por cambios en el área y por cambios en el perímetro, si el área

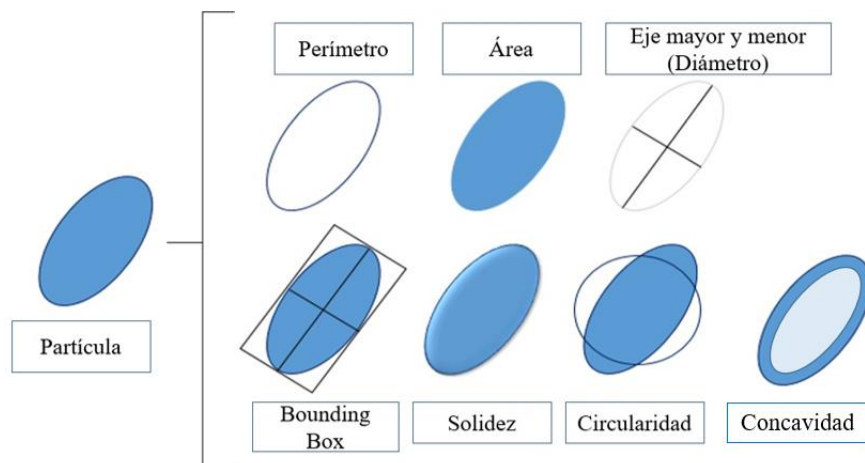
y el perímetro no varían, la circularidad será constante; sin embargo, si el área se mantiene constante y el perímetro aumenta, la circularidad disminuirá (Krumbein, 1941). En consecuencia se presenta un aumento en el valor del perímetro, que representa una disminución de la circularidad de una partícula (Takashimizu & Iiyosh, 2016), la ecuación (7) describe lo expuesto.

$$C = \frac{4\pi A}{P^2} \tag{7}$$

En la Figura 10 se ilustra las características geométricas descritas.

Figura 10

Rasgos Geométricos



Fuente: Ilustración adaptada de (Villavicencio et al., 2014).

2.1.18 Machine Learning

El machine learning es una rama de la inteligencia artificial basada en los llamados big data, que utiliza algoritmos computacionales para emular la inteligencia humana a través del aprendizaje de situaciones específicas del entorno (Kuppusamy, 2019). En los últimos años, se han desarrollado diversas aplicaciones basadas en el aprendizaje automático, para realizar reconocimiento de patrones, detección de rostros, filtros anti-spam para correo electrónico, conducción automática de vehículos, reconocimiento de voz e imágenes (Kuppusamy, 2019), ingeniería de naves espaciales, clasificación de secuencias de ADN, hasta aplicaciones médicas encaminadas a buscar diagnósticos y buscar soluciones para tratar enfermedades (Naqa & Murphy, 2015).

2.1.19 Terminología de Machine Learning

En Machine Learning regularmente se utilizan matrices y notaciones vectoriales para referirse a los datos (Escalona, 2020), dicha notación de referencia se presenta en la tabla 3.

Tabla 3*Elementos de una Matriz y Notaciones en Machine Learning*

Elemento de la matriz	Notación
Fila	Muestra
	Observación
	Dato puntual
Columna	Características
	Atributos
Columna general	Objetivo
(Valor que se pretende predecir)	Etiqueta
	Respuesta

Adicionalmente, existe una terminología empleada a nivel de Machine Learning para hacer referencia a los procesos de manipulación y análisis de datos, que permiten de manera global, la comprensión de la información sin que se presenten ambigüedades (A. González, 2015; Langley & Carbonell, 1984). En la Tabla 4 se presenta la terminología empleada.

Tabla 4*Terminología de Machine Learning*

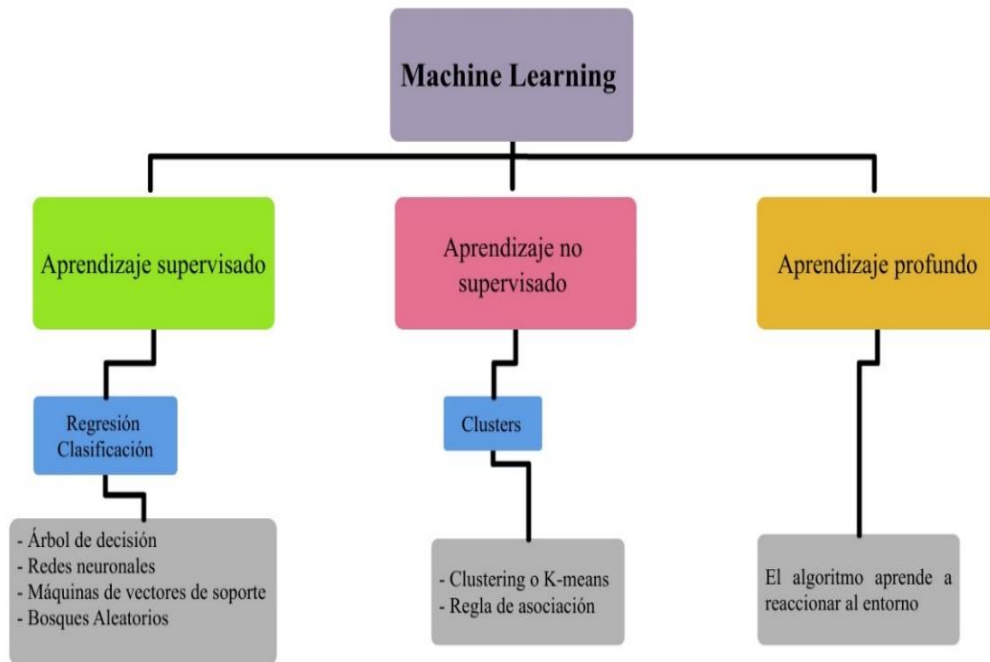
Termino	Definición
Dataset	Conjunto de datos empleados para entrenar un sistema de detección de patrones
Big data	Tipo de fuente de datos que tenga al menos una de cuatro características compartidas: Volumen de datos, variedad de datos, movimiento de datos a alta velocidad y veracidad en los datos.
Clustering	Técnica en la que los objetos con parámetros similares se agrupan respectivamente (clúster).
Minería de datos	La minería de datos descubre patrones anteriormente desconocidos.
Modelo	Salida de información que sirve para hacer predicciones, según los patrones que se han detectado en el entrenamiento.
Clasificación y regresión	Una categoría es predicha por la clasificación, mientras que un número es predicho por una regresión.
Árbol de decisión	A partir de un modelo gráfico, se representan los patrones reconocidos en el proceso de aprendizaje.
Confianza	Probabilidad de acierto dada en porcentaje para cada una de las predicciones.

2.1.20 Algoritmos de Machine Learning

El Machine Learning funciona gracias a la implementación de algoritmos que utilizan un conjunto de datos con los que se entrena un sistema y a partir de los cuales se construye un modelo para predecir y clasificar nuevos eventos desconocidos por el algoritmo, imitando un proceso cognitivo humano (Beunza et al., 2020). Existen diversos tipos de algoritmos de Machine Learning, pero uno de los más populares, sobre todo en el campo de la salud, son las redes neuronales (Page et al., 1996; T. C. W. Poon et al., 2001; Pouliakis et al., 2016; Sáenz Bajo & Álvaro Ballesteros, 2002; Wilding et al., 1994); sin embargo se reconocen tres grandes tipos de aprendizaje de algoritmos de Machine Learning que incluyen aprendizajes supervisados, no supervisados y por refuerzo, que se ilustran en la Figura 11.

Figura 11

Tipo de Algoritmos Utilizados en Machine Learning



Fuente: Imagen adaptada de (Beunza et al., 2020).

Dado el enfoque del proyecto, es relevante conocer únicamente aquellos términos relacionados con el aprendizaje supervisado.

- **Aprendizaje supervisado**

Hace referencia a un tipo de modelo de Machine Learning que trabaja con un conjunto de datos en los que los resultados de salida son conocidos; el modelo aprende de los resultados conocidos y realiza ajustes para adaptarse a los datos de entrada (Grado et al., 2018). Una vez el modelo es entrenado adecuadamente, realiza predicciones adecuadas ante nuevos datos no

procesados previamente (Çelik, 2018). Hay dos aplicaciones principales de aprendizaje supervisado, clasificación y regresión.

- **Clasificación:** El objetivo es predecir las clases categóricas (valores discretos, no ordenados, pertenencia a grupos) (Çelik, 2018).
- **La regresión:** Se utiliza para asignar categorías a datos sin etiquetar, donde se busca encontrar una relación que proporcione un resultado continuo (Çelik, 2018).

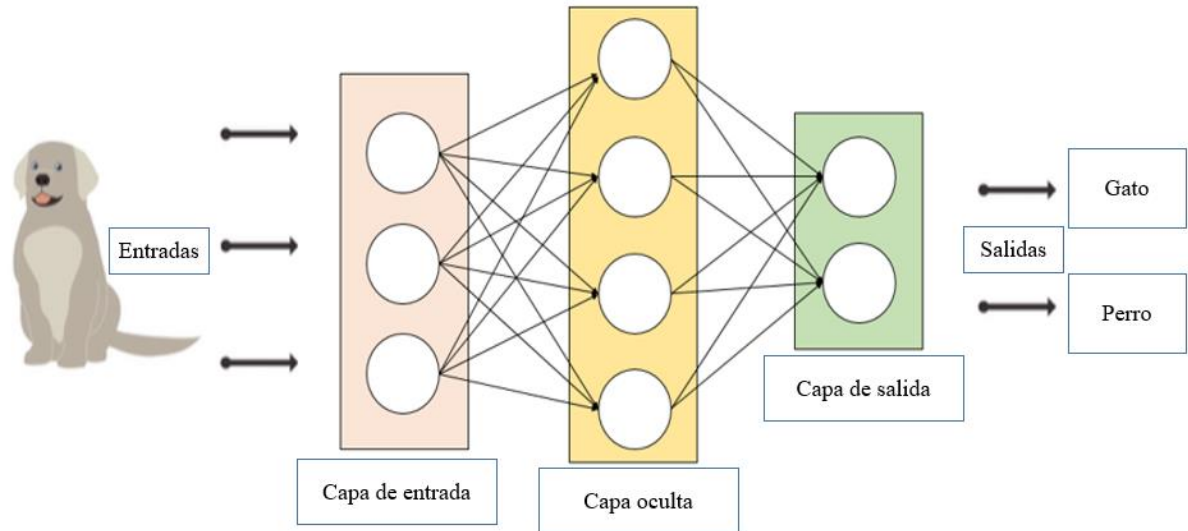
2.1.21 Redes neuronales y Deep learning

Como se ha venido mencionando, una red neuronal intenta imitar la forma en que el cerebro humano resuelve problemas, ya que en su estructura existen varias capas que simulan la conexión neuronal biológica, dentro de las capas de una red artificial, se destaca una capa de entrada, una o varias capas ocultas y una capa de salida (Buscema et al., 2018). Habitualmente, para realizar un entrenamiento, las redes neuronales artificiales permiten el ingreso de datos a través de su capa de entrada, posteriormente los datos se modifican en una capa oculta y finalmente las capas de salida presenta los resultados obtenidos (Langley & Carbonell, 1984), las redes neuronales se utilizan a menudo para el reconocimiento de imágenes y la visión por computadora, en la Figura 12 se evidencia la arquitectura de una red neuronal.

El término Deep Learning se utiliza cuando hay múltiples capas ocultas dentro de una red neuronal; que usan un enfoque iterativo que se adapta y hace inferencias hasta llegar a un punto de parada específico (Langley & Carbonell, 1984).

Figura 12

Arquitectura de una Red Neuronal



Fuente: Ilustración adaptada de (Langley & Carbonell, 1984; Matlab Academy Mathworks, 2020).

2.2 Estado del Arte

El microscopio es una tecnología fundamental para los laboratorios clínicos, ya que los progresos más importantes relacionados con el estudio y descripción de la histología han sido posibles gracias a la invención del microscopio óptico, dado que su desarrollo permitió transformar una realidad imperceptible para el ojo humano en un tema de interés hasta la actualidad (Deshpande & Gite, 2021; María & Rosa, 2015).

Las imágenes de células sanguíneas que logran apreciarse a partir de la inspección microscópica, han permitido al ser humano, realizar procedimientos de contar o categorizar células; dicha actividad otorga al experto la habilidad de clasificar estructuras como normales o anormales. Sin embargo como se ha venido mencionado, este proceso es propenso a errores, y es por esto que la rama investigativa de las ciencias e ingeniería han desarrollado diferentes algoritmos para optimizar procesos.

Dentro del campo de la salud, realizar análisis de la muestra de sangre es necesario para diagnosticar diferentes enfermedades (Lima et al., 2015), en el grupo de las células sanguíneas, los glóbulos rojos son uno de los componentes principales de la sangre (Dean, 2005), por tanto, diseñar sistemas automáticos para clasificarlos implican recurrir a técnicas que extraigan, procesen y entreguen un conjunto de clases basadas en aprendizaje y predicciones. Este es el caso de técnicas como Boosting o redes neuronales (Parab & Mehendale, 2020; Thorat & Uike, 2020), entre otras, que dan origen a sistemas completamente entrenados para clasificar objetos. Para que el

entrenamiento de dichas técnicas sea posible, se cumplen una serie de pasos que se ven de manera reiterativa sin importar qué tipo de técnica de aprendizaje se utilice (Adollah et al., 2008; Albertini et al., 2003; Benazzouz et al., 2013; Çınar & Tuncer, 2021; Delgado et al., 2020; Deshpande & Gite, 2021; Mazalan et al., 2014; Mejía & Alzate, 2015; S. Poon et al., 1992; Shirazi et al., 2015; Theera-umpon, 2005; Thorat & Uike, 2020). En los documentos estudiados, sobre clasificación de células a partir de imágenes, se describe un desarrollo dado en cinco fases (Aliyu et al., 2018; Almezghwi & Serte, 2020; Bergen et al., 2008; Jiang et al., 2018; Parab & Mehendale, 2020), en primer lugar se crea un banco de imágenes, también llamado base de datos, que contiene diferentes imágenes captadas desde un microscopio y a partir de las cuales se trabajará, seguidamente, se realiza un procesamiento previo, donde se prepararan las imágenes de acuerdo al estándar del sistema propuesto, posteriormente, se realiza la segmentación en la que se emplean recursos basados en procesamiento de regiones y métodos morfológicos, a continuación se extraen características como la forma, el color, el tamaño, entre otras y, finalmente, una vez se cuente con los datos necesarios para distinguir entre clases se procede a entrenar el sistema y evaluar su desempeño.

Teniendo en cuenta lo mencionado, resulta favorable incluir las cinco fases dentro de la metodología propuesta para el desarrollo del proyecto, ya que al ser un procedimiento común en diferentes trabajos en los que se realiza reconocimiento y clasificación, se presta para ser modificado y adaptado a las necesidades que se han planteado dentro de los objetivos del proyecto.

En la Tabla 5 se presenta una comparación entre 6 artículos, haciendo énfasis en los aportes y desventajas de cada uno a la segmentación o clasificación celular.

Tabla 5*Aportes y Desventajas de Artículos Científicos*

Nombre del trabajo	Año	Aportes	Desventajas
<p>Automated Analysis of Morphometric Parameters for Accurate Definition of Erythrocyte Cell Shape</p> <p><i>(Análisis automatizado de parámetros morfométricos para una definición precisa de la forma de las células de los eritrocitos)</i></p>	2003	<p>Debido a los elementos empleados para adquirir y procesar las imágenes, se obtienen valores reales de la morfología de las células, por lo tanto, el clasificador diseñado opera en escala real con valores exactos.</p>	<p>La desventaja de este proyecto, parte de los costos elevados para la adquisición del software empleado en la segmentación, adicionalmente el difícil acceso al microscopio y cámaras utilizadas, representan una limitación al momento de recrear el procedimiento.</p>
<p>Blood Cell Image Segmentation: A Review</p> <p><i>(Segmentación de imágenes de células sanguíneas: una revisión)</i></p>	2008	<p>En el esquema propuesto, se realiza un énfasis importante en la técnica empleada para segmentar a los glóbulos blancos, se destaca que deben dividirse en dos componentes, el núcleo y el citoplasma. El aporte de este trabajo es la aplicación del filtrado de espacio de escala y agrupamiento de cuencas hidrográficas, para extraer las regiones de interés. La ventaja es que separan los componentes de dichas células para evitar la variedad y complejidad en la clasificación.</p>	<p>La desventaja de este método es la dificultad para predeterminar el número de clúster, adicionalmente se menciona que la parte más difícil es lograr una correcta segmentación de los glóbulos blancos, pues en el trabajo existe una incertidumbre considerable en las imágenes microscópicas.</p>

Nombre del trabajo	Año	Aportes	Desventajas
<p>Microscopic Image Segmentation Based on Pixel Classification and Dimensionality Reduction</p> <p><i>(Segmentación de imágenes microscópicas basada en píxeles Clasificación y Reducción de Dimensionalidad)</i></p>	2012	<p>La segmentación de la imagen se realiza a eritrocitos maduros e inmaduros, por tanto se extraen cuatro tipos de regiones: núcleo, citoplasma, eritrocitos y fondo. La segmentación se realiza considerando los diferentes espacios de color para tener una segmentación bastante cercana a la verdad básica, para eliminar la redundancia, y especialmente para reducir el tiempo que implica la segmentación.</p>	<p>Las imágenes originales contienen glóbulos rojos con un área clara en el centro, esto hizo que la SVM detectara el centro de los glóbulos rojos como fondo. Se necesita un posprocesamiento para mejorar la calidad de la segmentación.</p>
<p>Automated red blood cells counting in peripheral blood smear image using circular hough transform.</p> <p><i>(Recuento automatizado de glóbulos rojos en una imagen de frotis de sangre periférica mediante la transformada circular de Hough)</i></p>	2014	<p>Se realiza el tratamiento de la imagen, a fin de segmentar las células y determinar las características cualitativas que permitan determinar la morfología de la célula, calcular la distancia existente ente cada una y de esa manera realizar el proceso de recuento de glóbulos rojos.</p>	<p>Para determinar la distancia entre cada célula, es necesario encontrar el radio. La desventaja mencionada en el artículo hace referencia a la detección de células con radio conocido y radio desconocido. Se menciona que la detección de círculos con radio conocido es un proceso sencillo, sin embargo para la detección de círculos con radio desconocido, el proceso es bastante desafiante, porque se emplean tres dimensiones para buscar espacio y se cometen múltiples errores.</p>
<p>A Deep Learning Approach for Segmentation of Red Blood Cell Images and Malaria Detection</p>	2020	<p>En este trabajo, se diseñaron, entrenaron, validaron y probaron dos NN diferentes: una Red neuronal de segmentación</p>	<p>El proceso aborda específicamente la detección de la malaria, al tratarse de una enfermedad infecciosa, la desventaja que existe</p>

(Un enfoque de aprendizaje profundo para la segmentación de la red Imágenes de células sanguíneas y detección de malaria)

(SNN) para la segmentación de imágenes y una red neuronal convolucional (CNN) para la clasificación de imágenes. El primero, tenía el objetivo de segmentar los frotis de sangre y el segundo, clasificar los eritrocitos individuales con respecto a si son parásitos.

en el trabajo, corresponde al tiempo que requiere encontrar las imágenes de células infectadas con dicha enfermedad. Adicionalmente se menciona, que el éxito de la clasificación depende de las habilidades de un patólogo, lo que implica que los proveedores de atención médica puedan tener dificultades para diagnosticar la malaria en lugares donde no es endémica.

Nombre del trabajo	Año	Aportes	Desventajas
<p>A review of microscopic analysis of blood cells for disease detection with AI perspective.</p> <p><i>(Una revisión del análisis microscópico de células sanguíneas para la detección de enfermedades con perspectiva de IA.)</i></p>	2021	<p>Se aplican diferentes técnicas de procesamiento para lograr realizar la separación de los diferentes componentes de la sangre, que incluyen a los glóbulos rojos, glóbulos blancos, plasma y plaquetas.</p> <p>Para lograr una segmentación exitosa, se generaliza las características de los componentes sanguíneos, y se realiza la segmentación.</p> <p>Este proceso separa la región de interés para su posterior clasificación, cada componente (glóbulos rojos, glóbulos blancos, plasma y plaquetas) es clasificado en sus respectivas subclases.</p>	<p>Al abordad en su totalidad los componentes sanguíneos, la desventaja mencionada en el trabajo, es la dificultad para lograr la segmentación de las células superpuestas en el frotis de sangre.</p> <p>Adicionalmente el tiempo empleado para realizar la segmentación es mayor, pues se aplica de manera personalizada técnicas para cada clase y subclase.</p>

3. CAPÍTULO 3

La identificación y clasificación de los eritrocitos es la base para el entrenamiento del sistema, a partir del análisis de muestras de frotis de sangre, se inició la creación del banco de imágenes, que fue construido con base a ilustraciones disponibles en el banco de casos clínicos de la Sociedad Americana de Hematología (ASH, 1958) y por las recolectadas en el laboratorio de patología clínica, ubicado en la clínica “La Estancia”, en la ciudad de Popayán. Se recolecto un total de 100 imágenes de frotis de sangre periférica.

Con la finalidad de evitar subjetividad y errores en la creación del banco de imágenes clasificado, el proceso fue supervisado por los profesionales Especialistas en Hematología, Doctor Julián Augusto Córdoba Espinosa y por la Doctora Alba Rocío Medina.

Como parte de la fase mencionada, las muestras de sangre periférica recolectadas en la clínica “La Estancia”, fueron tratadas con la coloración de Wright y Buffer; la observación de los eritrocitos se realizó con un lente objetivo de 40X y la posterior captura de la imagen se realizó con un lente objetivo de 100X, utilizando un microscopio Leica ICC50 W.

En el desarrollo del proyecto se utilizó el método SEMMA (Sample, Explore, Modify, Model, Assess) (Hernández & Dueñas, 2009) conformado por cinco fases, cuyo objetivo es la implementación de aplicaciones de minería de datos. Las fases del método fueron adaptadas al proyecto de la siguiente manera:

3.1 Metodología

3.1.1 Fase 1. Muestreo

Dado que, en esta etapa se realiza la extracción de una muestra de los datos que permiten representar características comunes para posteriormente comenzar el análisis de los mismos, se procedió a aplicar técnicas de procesamiento digital de imágenes, para normalizar las dimensiones (filas, columnas) de las láminas, para realizar la identificación de características y posterior extracción de las mismas bajo idénticas condiciones, las imágenes fueron normalizadas en un tamaño de 1600 pixeles de ancho por 1200 pixeles de alto (1200x1600), bajo la clase uint8. Se establece dichas dimensiones ya que este tamaño (1200x1600) es establecido por el microscopio Leica ICC50 W para las imágenes capturadas con el lente objetivo de 100X.

Se tomó una a una las imágenes y se aplicó técnicas, de modo secuencial como, la conversión a grises, filtrado tipo mediana, binarización utilizando el método de Otsu, operaciones morfológicas para eliminar estructuras pequeñas y elementos incompletos de los bordes y la partición de la imagen para separar estructuras conectadas, todo esto para lograr la segmentación, a fin de diferenciar las células del fondo y lograr delimitar el borde de cada eritrocito sin perder la información original; estos procesos, con el propósito de extraer características como el perímetro, área, diámetro, circularidad, centralidad, solidez y color (relacionado con la concavidad), que permiten diferenciar morfológicamente a los eritrocitos. El proceso antedicho se indica en el Algoritmo 1 y Algoritmo 2.

Algoritmo 1. Procesamiento de la imagen

- 1: **procedimiento** Procesamiento de la imagen
 - 2: **entrada** Imágenes de frotis de sangre
 - 3: **salida** Imagen procesada
 - 4: **Inicio**
 - 5: **Acceder** A la carpeta que contiene las imágenes
 - 6: **Seleccionar** la imagen para analizar
 - 7: **Leer** imagen_seleccionada;
 - 8: **Aplicar** redimensionamiento (imagen_seleccionada);
 - 9: **Guardar** imagen_seleccionada;
 - 10: **Aplicar** conversión a grises (imagen_seleccionada)
 - 11: **Aplicar** filtro mediana (imagen_seleccionada)
 - 12: **Determinar** Umbral de imagen global (imagen_seleccionada)
 - 13: **Aplicar** binarización por Otsu (imagen_seleccionada)
 - 14: **Aplicar** negación para invertir binarización (imagen_seleccionada)
 - 15: **Variable** imagen_seleccionada, imagen_seleccionada_1
 - 16: **Aplicar** ope. morfológica para eliminar estructuras del borde (imagen_seleccionada)
 - 17: **Aplicar** ope. morfológica para eliminar estructuras del borde (imagen_seleccionada_1)
 - 18: **Aplicar** ope. morfológica para rellenar huecos (imagen_seleccionada)
 - 19: **Aplicar** ope. morfológica para eliminar objetos pequeños (imagen_seleccionada)
 - 20: **Aplicar** ope. morfológica para eliminar las estructuras de luz conectadas (imagen_seleccionada)
 - 21: **Aplicar** partición de la imagen (imagen_seleccionada)
 - 22: **Guardar** Imagen transformada
 - 23: **Fin**
-

Algoritmo 2. Segmentación de la imagen

```
1:      procedimiento Segmentación de la imagen
2:      entrada Imagen transformada
3:      salida Imagen segmentada
4:      Inicio
5:      Aplicar regionprops (Imagen transformada)
6:      Asignar Centro = st.Centroid;
7:      Asignar Perímetro = st.Perimeter;
8:      Asignar Área = st.Area;
9:      Asignar Solidez = st.Solidity;
10:     Asignar Circularidad = st.Circularity;
11:     Asignar BB = st.BoundingBox;
12:     Asignar Diámetro = ([st.MajorAxisLength st.MinorAxisLength],2);
13:     Etiquetas y Enumerar los Boundingbox generales
14:     // Segmentación para el zona central
15:     Aplicar regionprops (Imagen transformada)
16:     Asignar Centro_p = centros.Centroid;
17:     Asignar Área_p = centros.Area;
18:     Asignar Circularidad_p = centros.Circularity;
19:     Asignar BB_p = centros.BoundingBox;
16:     // Determinar el color
17:     Identificar centroide de cada célula total y de cada centro
18:     Relacionar célula total con centro correspondiente
19:     Etiquetar el centro asignado a la célula
20:     Dividir área de centro grande / área de centro pequeño
```

segmentación, extracción y selección de características, para clasificar las células a partir de aspectos morfológicos.

3.1.2 Fase 2. Exploración

La exploración de datos permitió realizar un seguimiento a los mismos para lograr detectar, identificar y, posteriormente, eliminar datos que no corresponden a eritrocitos, es decir datos pertenecientes a elementos como plaquetas, leucocitos u otros, que no son objeto de interés en el trabajo. Para que esto fuese posible, se consideró las variables de mayor relevancia para determinar si se trataba de un eritrocito. De las imágenes analizadas se extrajeron las siguientes características:

- **Características geométricas**

Se empleó la función *regionprops* (función disponible en Matlab para medir las propiedades de las regiones de la imagen) y la propiedad *BoundingBox*, para extraer las características de diámetro, área total, área de palidez central, perímetro, circularidad, concavidad y solidez, de cada una de las células segmentadas (ver Figura 20).

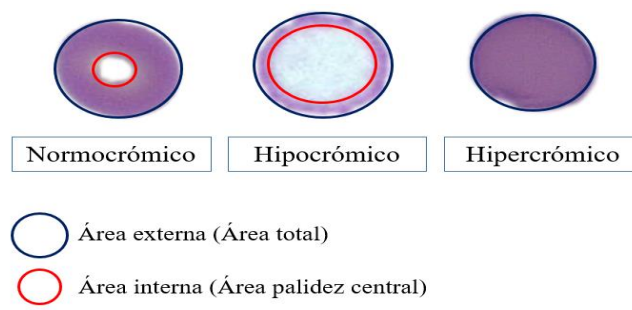
- **Características de intensidad (color)**

Partiendo de la relación establecida a nivel médico para determinar el color normal de un eritrocito (Palidez central = 1/3 del total de la célula), y empleando la definición de concavidad que refiere dicha relación, se empleó las características geométricas extraídas de área central

(palidez central) y de área total, para determinar el color de cada eritrocito. En la Figura 14, se expone lo mencionado.

Figura 14

Características de Color de los Eritrocitos



Fuente: Elaboración propia.

De las 100 imágenes tomadas, se lograron extraer 7.776 células, de las cuales 6.540 corresponden a células normales y las 1.236 restantes corresponden a 11 tipos de células anormales.

Para obtener mejores resultados, se descartan los tipos de células que no representan una cantidad significativa para el entrenamiento, por otra parte, se consideran aquellas clases en las que las células pueden seleccionarse en mayor proporción. Finalmente, la base de datos está conformada por 600 células, en las que se encuentran de forma equitativa 6 clases de eritrocitos.

3.1.3 Fase 3. Modificación

En esta fase se consideró que los eritrocitos son estructuras sólidas bicóncavas, al realizar la binarización de la imagen, aquellas estructuras pertenecientes a la palidez central de la célula se convertían en agujeros que tras aplicar la operación morfológica de cierre de agujeros en la imagen, transformaban a la célula en una estructura plana, es por esto que fue necesario trabajar

simultáneamente con la imagen binarizada aplicando cierre de agujeros para calcular el área total, y con la imagen binarizada antes del cierre morfológico para determinar la palidez central de cada célula. Este proceso se ilustra en la Figura 15.

Figura 15

Modificación Realizada a la Imagen Binarizada



Fuente: Elaboración propia.

3.1.4 Fase 4. Modelado

A partir de los datos obtenidos para la clasificación, se creó y entrenó de manera supervisada, una red neuronal de aprendizaje profundo basada en red de trenes con características numéricas, haciendo uso de comandos y funciones disponibles en Matlab para Deep Learning.

La estructura de esta red se seleccionó porque es sencilla de comprender y los comandos empleados pueden modificarse y adaptarse a diferentes tipos de elementos de entrada (imágenes, códigos, tabla de datos, entre otros), adicionalmente la estructura de la red permite utilizar una colección de datos numéricos que no requieren contar con dimensiones espaciales o temporales, lo

que se considera muy importante pues, los datos empleados en el entrenamiento contienen varios tipos de información, como texto y valores numéricos.

La arquitectura de la red cuenta con una estructura en la que se definió como capa de entrada, el número y las características de las clases, adicionalmente se configuro la capa de entrada para normalizar los datos mediante la normalización de puntuación Z, posteriormente se incluyó una capa totalmente conectada con un tamaño de salida de 50, seguidamente se establece una capa de normalización por lotes y una capa ReLU.

Finalmente para la clasificación, se especificó una capa totalmente conectada con un tamaño de salida correspondiente al número de clases (6 clases), seguida de una capa Softmax y una capa de clasificación. En el Algoritmo 3 se presenta la estructura de la red neuronal.

Algoritmo 3. Estructura de la red neuronal

- | | | |
|-----------|----------------------|---|
| 1: | Procedimiento | Entrenamiento de la red neuronal |
| 2: | Entrada | Clases para entrenamiento |
| 3: | Salida | Resultado de la clasificación |
| 4: | Inicio | |
| 5: | Cargar | tabla de datos. CVS |
| 6: | Convertir | datos a categóricos |
| 7: | Asignar | porcentaje de datos para el entrenamiento |
| 8: | Asignar | porcentaje de datos para la validación |
-

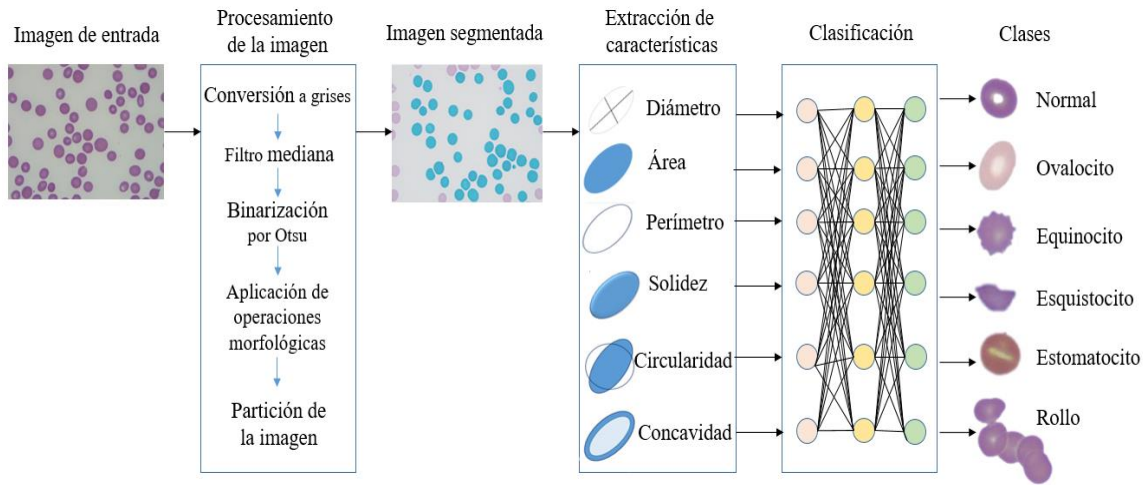
(Continuación)

- 9: **Asignar** porcentaje de datos para la prueba
- 10: **Definir** arquitectura de la red
- 11: **Definir** número y característica de las clases
- 12: **Normalizar** datos mediante puntuación Z
- 13: **Definir** tamaño de salida de capa conectada
- 14: **Normalizar** información por lotes
- 15: **Establecer** capa ReLU
- 16: **Definir** tamaño de capa conectada // **Tamaño del num. de clases**
- 17: **Establecer** capa Softmax
- 18: **Establecer** capa de clasificación
- 19: **Realizar** entrenamiento de la red
- 20: **Obtener** valor de predicción
- 21: **Obtener** valor de prueba
- 22: **Obtener** la precisión del entrenamiento
- 23: **Fin**
-

Se empleó un total de 600 células, a partir de las cuales se formó un conjunto de datos presentados como características numéricas, con las que entrenó y validó la red, que utiliza como capa de entrada, las características del diámetro, el área, el perímetro, la solidez, la circularidad y la concavidad, para predecir a la salida, las clases pertenecientes a un tipo de célula normal y a cinco tipos de células anormales. En la Figura 16 se presenta la estructura del sistema planteado.

Figura 16

Estructura del Sistema Modelado



Fuente: Ilustración adaptada de (Mejía & Alzate, 2015).

3.1.5 Fase 5. Evaluación

La red neuronal basada en Deep Learning fue evaluada mediante una matriz de confusión y gráfica de curva ROC.

3.2 Limitaciones

- La mayor limitación para el desarrollo del trabajo se sustenta en la disponibilidad de tiempo por parte del personal externo a la Universidad, debido a que, durante diferentes fases del proyecto se prolongó el tiempo asignado para determinadas actividades, pues la carga laboral de cada uno de los profesionales limita el tiempo que puede dedicar a otros compromisos.

- Durante la creación del banco de imágenes se logró recolectar 213 imágenes de Frotis de sangre periférica, debido a la disponibilidad de tiempo del personal de hematología, únicamente fue posible clasificar profesionalmente 100 imágenes, a partir de las cuales se entrenó la red.

4. CAPÍTULO 4

4.1 Resultados

Debido a la disponibilidad de tiempo del personal de laboratorio, el proceso de recolección de láminas de frotis de sangre se retardo, razón por la cual se recurrió al banco de casos clínicos de la Sociedad Americana de Hematología (ASH, 1958) para obtener imágenes.

Gracias a esta acción, se logró crear un banco de imágenes con 213 láminas de frotis de sangre periférica, sin embargo, debido a la disponibilidad de tiempo de los médicos Hematólogos, se acordó realizar únicamente la clasificación de 100 láminas, debido a que, manifestaron que es un proceso extenuante y demorado. Pese al compromiso que habían adquirido los profesionales para realizar el acompañamiento en el proceso de clasificación, la actividad no fue seguida por todos, es por esto que la categorización de las células solo fue realizada en su totalidad por uno de los médicos, dando lugar a un solo punto de vista.

El profesional de hematología sugirió que en varias laminas procesos realizados en laboratorio al momento de tratar la muestra, ocasionaron una superposición innecesaria de las células, es decir, se formaron células superpuestas que no pertenecen a un tipo anormal de eritrocitos, provocando que, al momento de segmentarlas se emplearan técnicas especiales para poder llevar a cabo la separación de las mismas.

Para dar inicio a la segmentación, se tomaron las 100 láminas de frotis, y se redimensionaron para obtener los parámetros morfológicos bajo las mismas dimensiones. Una vez realizado este proceso, se empleó técnicas de procesamiento de imágenes para segmentar la mayor cantidad de células presentes en las láminas, cabe resaltar que durante la parte de segmentación, el proceso de separación de las células resultó dificultoso, pues, fue necesario emplear varias técnicas para evitar perder células que podían contener información importante. Al finalizar el proceso, se obtuvo un total de 7.776 células que se entregaron al Hematólogo para que realizara el acompañamiento en la clasificación. Una vez finalizada la categorización, se obtuvieron 6.540 células normales y 1.236 células anormales divididas en 11 clases.

Tras organizar la información se observó que existe una desigualdad en la cantidad de células pertenecientes a cada grupo, lo que podría afectar el desempeño del clasificador, es por esto que, de las 7.776 células se seleccionó 6 clases y para cada una de las clases se tomó 100 células, formando así una base de datos de 600 células. Las clases seleccionadas incluyeron un único tipo de célula normal y cinco tipos de células anormales (Ovalocitos, Equinocitos, Esquistocitos, Estomatocitos y Rollos).

Para cada una de las 600 células, se midió las propiedades de la región de la imagen utilizando la herramienta *regionprops*, esta herramienta permitió encontrar de forma sencilla el área, el perímetro, el diámetro, el radio, la circularidad, la solidez de las células, sin embargo, el parámetro del color requirió más tiempo para encontrarlo; se analizaron técnicas como la dimensión *box-counting*, la relación del casco convexo y el casco interno, el análisis

de fuentes de luz en estructuras 3D, el análisis del histograma, entre otras, siendo la relación del casco convexo y el casco interno la más adecuada para aplicar la definición correspondiente al color en los eritrocitos. Una vez obtenidos los parámetros, se diseñó una tabla con las características de entrada y las clases deseadas para poder entrenar la red.

En la Tabla 6 se presenta la estructura de la base de datos ingresados a la red, en la tabla que se presenta a continuación, únicamente se exhiben 4 filas de cada clase.

Tabla 6

Estructura de la Tabla de Datos Empelada en el Entrenamiento

Área	Perimetro	Diámetro	Solidez	Circularidad	Concavidad	Tipo
8073	322.738	102.229	0.98	0.97	8.444	normal
7058	302.433	95.325	0.98	0.96	9.655	normal
7247	301.036	96.278	0.98	1.004	8.515	normal
7901	314.301	100.434	0.98	1.005	8.103	normal
13244	459.46	140.392	0.96	0.78	1	rollo
12694	438.646	133.93	0.94	0.82	1	rollo
10920	410.302	120.563	0.93	0.81	1	rollo
10255	411.736	123.302	0.94	0.76	1	rollo
14486	460.865	136.718	0.95	0.85	3.437	equinocito
15043	530.288	140.089	0.88	0.67	4.546	equinocito
18526	550.492	154.922	0.92	0.76	3.044	equinocito
15106	477.546	139.379	0.93	0.83	10.057	equinocito
2487	189.578	57.425	0.94	0.86	1	esquistocito
4392	335.498	84.602	0.75	0.49	1	esquistocito
4309	303.327	82.932	0.91	0.58	1	esquistocito
2476	178.628	57.046	0.98	0.97	1	Esquistocito

Área	Perímetro	Diámetro	Solidez	Circularidad	Concavidad	Tipo
14362	434.071	135.673	0.98	0.95	8.15	estomatocito
15870	462.158	142.761	0.97	0.93	4.39	estomatocito
19247	497.933	156.89	0.98	0.97	5.1	estomatocito
17448	480.376	149.147	0.98	0.98	9.66	estomatocito
5001	299.206	91.042	0.97	0.7	1	ovalocito
5754	299.515	92.594	0.97	0.8	1	ovalocito
4439	261.936	81.455	0.97	0.81	1	ovalocito
4214	235.51	74.785	0.98	0.95	1	ovalocito

Para el entrenamiento de la red neuronal se distribuyeron las 600 células de la siguiente manera; para la fase de entrenamiento se emplearon 420 células, para la etapa de validación 60 células y en la etapa de evaluación 120 células.

Se obtuvo un porcentaje de precisión de validación del 83.3% y un porcentaje de precisión de 75.8%, posteriormente se genera la matriz de confusión (ver Fig. 17.), en la que se observa, que de los 120 eritrocitos empleados en la etapa de evaluación, 91 fueron clasificados de manera acertada.

Para analizar los factores que influyen en el porcentaje obtenido, se estudia la clasificación realizada por el médico hematólogo y los valores numéricos obtenidos en la extracción de características; a partir de esto se observa que, grupos celulares como los Equinocitos, Estomatocitos, Ovalocitos y Rollos, presentan características, que a nivel numérico, se encuentran en los mismos rangos paramétricos, por ejemplo, la clasificación realizada por el médico, sugiere que los Equinocitos segmentados, son células macrocíticas,

que a nivel matemático, en lo que corresponde al área y al perímetro de las células (relación que representa el tamaño), toman valores dentro del rango en el que se encuentra el tamaño de los Rollos, razón por la cual, se asume que algunos de ellos son clasificados de manera errónea, otro ejemplo, son los Ovalocitos, las células seleccionadas fueron clasificadas por el médico como normales en tamaño y en color, pero anormales en forma, al observar esta clasificación a nivel numérico, el tamaño de estas células se encuentran en el mismo rango de tamaño que una célula normal, por tanto, algunos son clasificados de forma incorrecta.

Figura 17

Resultado del Entrenamiento de la Red

Clase verdadera	equinocito	12	2		2		5
	esquistocito	1	17		2	2	
	estomatocito		1	15	2		1
	normal				13		
	ovalocito		1	1	3	14	1
	rollo	2			3		20
		equinocito	esquistocito	estomatocito	normal	ovalocito	rollo
		Clase predicha					

Fuente: Elaboración propia.

A partir de la ilustración, se elabora una Matriz de confusión para clasificación de clases múltiples, a través de los valores Verdadero Positivo, Verdadero Negativo, Falso positivo, Falso negativo, para cada clase.

Para evaluar el modelo de aprendizaje automático, se emplearon medidas de valoración para la matriz de confusión, entre ellas, la precisión, la tasa de clasificación errónea, la tasa de positivos verdaderos, la especificidad y el puntaje f1 (Nurçin & Imanov, 2021), elementos necesarios para graficar la curva ROC (Mohajon, 2020). En la tabla 7 se presenta los valores Verdadero Positivo, Verdadero Negativo, Falso positivo, Falso negativo, para cada clase.

Tabla 7

Elementos de la Matriz de Confusión para Cada Clase

Tipo de Eritrocito	Elementos de la matriz de confusión	Métricas
Equinocito	Verdadero positivo: 12	Precisión: 90%
	Verdadero Negativo: 96	Tasa de clasificación errónea: 10%
	Falso Positivo: 3	Tasa de Positivos Verdad.: 57.1%
	Falso Negativo: 9	Especificidad: 96.9%
Esquistocito		Puntaje F1: 66.6%
	Verdadero positivo: 17	Precisión: 92.5%
	Verdadero Negativo: 94	Tasa de clasificación errónea: 7.5%
	Falso Positivo: 4	Tasa de Positivos Verdad.: 77.2%

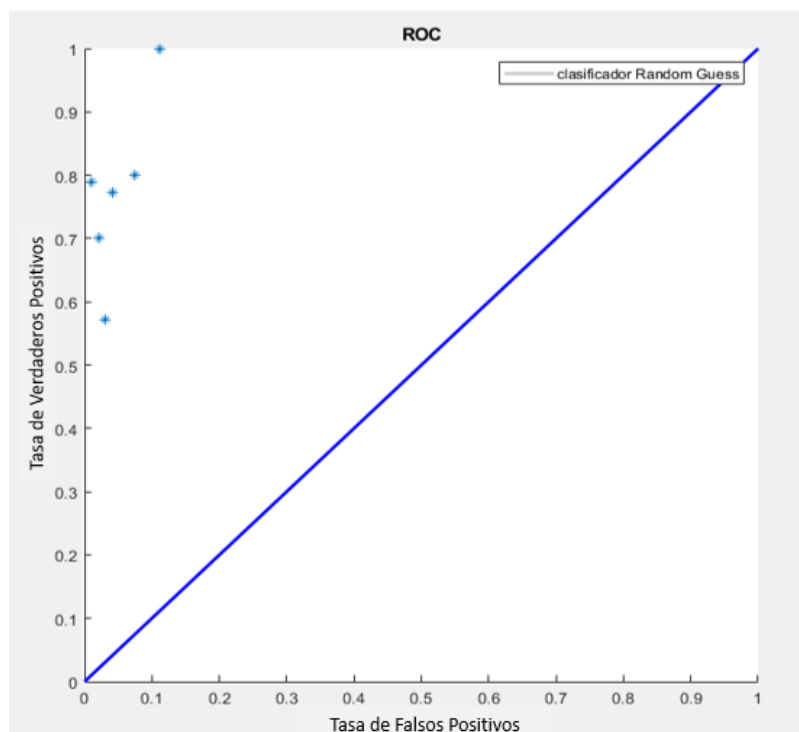
	Falso Negativo: 5	Especificidad: 95.9%
		Puntaje F1: 79%
	Verdadero positivo: 15	Precisión: 95.8%
	Verdadero Negativo:	Tasa de clasificación errón.: 4.1%
Estomatocito 100		Tasa de Positivos Verdad.: 78.9%
	Falso Positivo: 1	Especificidad: 99%
	Falso Negativo: 4	Puntaje F1: 85.7%

Tipo de Eritrocito	Elementos de la matriz de confusión	Métricas
Normal	Verdadero positivo: 13	Precisión: 90%
	Verdadero Negativo: 95	Tasa de clasificación errónea: 10%
	Falso Positivo: 12	Tasa de Positivos Verdaderos: 100%
	Falso Negativo: 0	Especificidad: 88.7%
Ovalocito	Verdadero positivo: 14	Precisión: 93.3%
	Verdadero Negativo: 98	Tasa de clasificación errón.: 6.6%
	Falso Positivo: 2	Tasa de Positivos Verdaderos: 70%
	Falso Negativo: 6	Especificidad: 98%
		Puntaje F1: 77.7%
Rollo	Verdadero positivo: 20	Precisión: 90%
	Verdadero Negativo: 88	Tasa de clasificación errónea: 10%
	Falso Positivo: 7	Tasa de Positivos Verdaderos: 80%
	Falso Negativo: 5	Especificidad: 92.6%
		Puntaje F1: 76.9%

Dado que se desarrolló un clasificador multiclase, la curva ROC presentada en la figura 18, muestra la dispersión de puntos de cada clase en relación al clasificador Random Guess.

Figura 18

Curva ROC



Fuente: Elaboración propia.

Si se analiza la dispersión de los puntos en relación al clasificador Random Guess, se observa que la dispersión se encuentra en la zona considerada como buena para un clasificador, dicha observación se ve soportada en los porcentajes obtenidos en la precisión con la que el clasificador asignó la clase a cada tipo de célula. Finalmente, el porcentaje de

precisión obtenido en el presente trabajo fue de 83.3%, en comparación con los resultados de clasificación reportados bajo la misma temática, sugieren que se obtuvo un buen porcentaje de precisión, por ejemplo, se puede citar el caso de (Piuri & Scotti, 2004) donde se clasificaron leucocitos en diferentes clases y se obtuvo una precisión del 82%, el caso de (Tomari et al., 2014), donde se clasificaron diferentes tipos de células sanguíneas y se obtuvo un porcentaje de precisión de 70.6%, en (Mejía & Alzate, 2015) clasificaron diferentes tipos de eritrocitos y la precisión que se obtuvo fue de 97.3% , finalmente, en (Parab & Mehendale, 2020) la precisión obtenida fue de 98.5%. Se resalta que en los trabajos citados y en los previamente mencionados, la estructura de las redes neuronales entrenadas varían la forma de extraer las imágenes desde laboratorio, las técnicas de segmentación, la cantidad de clases seleccionadas, la cantidad de células empleadas y las características que se extraen son diferentes, por lo cual se considera que son factores que afectan el entrenamiento y resultado final de la red. En la tabla 8 se presenta los porcentajes obtenidos en los trabajos mencionados.

Tabla 8

Tabla comparativa

Título del trabajo	Año de publicación	Descripción de trabajo	Porcentaje de precisión obtenido
Clasificación morfológica de los leucocitos	2004	Este artículo presenta una metodología para lograr una detección y	82 %

<p>sanguíneos por imágenes microscópicas</p>	<p>clasificación automatizada de leucocitos mediante imágenes microscópicas a color. El sistema propuesto primero individualiza en la imagen de la sangre los leucocitos de las demás células sanguíneas, luego extrae índices morfológicos y finalmente clasifica los leucocitos en Basófilo, Eosinófilo, Linfocito, Monocito y Neutrófilo.</p>
--	--

Título del trabajo	Año de publicación	Descripción de trabajo	Porcentaje de precisión obtenido
<p>Sistema asistido por computadora para la clasificación de glóbulos rojos en imagen de frotis de sangre</p>	<p>2014</p>	<p>En este artículo se propone un sistema asistido por computadora para automatizar el proceso de detección e identificación de glóbulos rojos a partir de imágenes de frotis de sangre. Se extrae la información de los glóbulos rojos en función de sus propiedades geométricas, para clasificarlos como normales/anormales mediante el clasificador de red neuronal artificial (ANN).</p>	<p>70.6%</p>
	<p>2015</p>	<p>En este artículo se propone la clasificación de múltiples</p>	<p>97.3%</p>

Clasificación automática de formas patológicas de eritrocitos humanos	clases de eritrocitos y la propuesta de una medida de palidez central altamente discriminante.
---	--

Título del trabajo	Año de publicación	Descripción de trabajo	Porcentaje de precisión obtenido
Clasificación de glóbulos rojos usando procesamiento de imágenes y CNN	2020	El método propuesto ha implicado el uso de procesamiento de imágenes para clasificar los glóbulos rojos con la ayuda de una red neuronal convolucional (CNN). El algoritmo puede extraer la característica de cada imagen de celda segmentada y clasificarla en varios tipos como microcitos, eliptocitos, estomatocitos, macrocitos, glóbulos rojos en forma de lágrima, codocitos, esferocitos, glóbulos rojos de células falciformes y glóbulos rojos de Howell Jolly.	98.5%

4.2 Conclusiones

- Se considera que las técnicas de procesamiento de imágenes que se emplearon fueron acertadas para lograr realizar la segmentación, pues se extrajo la mayor cantidad de células posibles y se evitó la pérdida de información, esto se ve reflejado en la cantidad de células obtenidas (7.776 eritrocitos).
- Se considera que podría mejorarse la técnica para determinar el color pues el punto de luz que se busca para clasificarlas no siempre está presente, lo cual podría representar un valor erróneo en el parámetro de concavidad y por tanto sugerir la presencia de una célula anómala.
- Para el proceso de clasificación se contaba inicialmente con 3 profesionales en Hematología, a pesar de haber adquirido un compromiso para acompañar el proceso de categorización, finalmente la actividad solo fue realizada por uno de ellos.
- Se observa que el porcentaje de la tasa de clasificación errónea es baja para los 6 tipos de eritrocitos, esto debido a que el clasificador fue capaz de distinguir y aprender la información que se ingresó, la cual fue clasificada previamente por el hematólogo, lo cual nos permite inferir que el sistema distingue las diferencias morfológicas entre las células y las agrupa de igual manera que lo realizó el profesional.
- Se considera que la exactitud de validación alcanzada por el clasificador (83.3%), se encuentra dentro de un rango aceptable, en comparación a los porcentajes de precisión obtenidos en la literatura (70.06% - 98.5%), adicionalmente, en la matriz de confusión de cada una de las clases, se observa que el porcentaje de precisión obtenido es superior al 80%, sin

embargo, no logra el 100%, se asume que este suceso se debe a la existencia de células con características morfológicas similares o idénticas que a nivel computacional no logran marcar diferencia y son clasificados erróneamente, en ejemplo particular el tamaño.

- Según el criterio de los especialistas se requiere prestar especial cuidado a las técnicas de preparación del frotis, ya que pueden afectar la morfología celular, de lo cual se evidencia dificultad al momento de aplicar técnicas de procesamiento imágenes, ya que se encuentran células superpuestas que requieren de técnicas más avanzadas para su distinción.
- Se plantea de forma viable, que al aumentar la cantidad de células de cada clase se encuentren características significativas que permitan corregir los parámetros que son similares, y de esta forma marcar una diferencia estadística que aumente la precisión del clasificador.

4.3 Recomendaciones

- **Recomendaciones desde el punto de vista metodológico:** Se sugiere buscar la opinión de más de un médico Hematólogo, para poder crear una clasificación médica más acertada de los tipos de células con las que se va a entrenar el clasificador, adicionalmente, se sugiere incluir otros tipos de eritrocitos anormales, para crear un banco de células más extenso y con mayor información, de esa manera, con la información acertada se puede elaborar el software que sirva como soporte en los laboratorios clínicos. Finalmente, se sugiere incluir otras células sanguíneas como los leucocitos, para enriquecer la base de datos y de esa manera aportar en la línea de E-salud.

- **Recomendaciones prácticas:** En la recolección de imágenes de sangre periférica, se sugiere aplicar correctamente las técnicas de preparación de frotis para evitar modificar la morfología celular y de esta manera evitar obtener características morfológicas erróneas.

5. ANEXOS

Anexo A. Banco de Imágenes.

Anexo B. Tabla para clasificación morfológica para el médico Hematólogo.

Anexo C. Tabla de células seleccionadas para la base de datos.

Anexo D. Código de segmentación celular.

Anexo E. Código de entrenamiento de la red neuronal.

6. BIBLIOGRAFÍA

- Abdollahi, A., Saffar, H., & Saffar, H. (2014). Types and frequency of errors during different phases of testing at a clinical medical laboratory of a teaching hospital in Tehran, Iran. *North American Journal of Medical Sciences*, 6(5), 224–228. <https://doi.org/10.4103/1947-2714.132941>
- Acharya, V., & Kumar, P. (2017). Identification and red blood cell classification using computer aided system to diagnose blood disorders. *2017 International Conference on Advances in Computing, Communications and Informatics, ICACCI 2017, 2017-Janua*, 2098–2104. <https://doi.org/10.1109/ICACCI.2017.8126155>
- Adewoyin, A. S., & Nwogoh, B. (2014). Peripheral blood film: A review. In *Annals of Ibadan postgraduate medicine* (Vol. 12, Issue 2, pp. 71–79). <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25960697%0Ahttp://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=PMC4415389>
- Adollah, R., Mashor, M. Y., Nasir, N. F. M., Rosline, H., Mahsin, H., & Adilah, H. (2008). *Blood cell image segmentation : A review* (pp. 141–144).
- Albertini, M. C., Teodori, L., Piatti, E., Piacentini, M. P., Accorsi, A., & Rocchi, M. B. L. (2003). Automated analysis of morphometric parameters for accurate definition of erythrocyte cell shape. *Cytometry Part A*, 52(1), 12–18. <https://doi.org/10.1002/cyto.a.10019>
- Aliyu, H. A., Sudirman, R., Abdul Razak, M. A., & Abd Wahab, M. A. (2018). Red blood cell classification: Deep learning architecture versus support vector machine. *2nd International Conference on BioSignal Analysis, Processing and Systems, ICBAPS 2018, February 2019*, 142–147. <https://doi.org/10.1109/ICBAPS.2018.8527398>
- Almezghwi, K., & Serte, S. (2020). Improved classification of white blood cells with the generative adversarial network and Deep convolutional neural network. *Computational Intelligence and Neuroscience*, 2020. <https://doi.org/10.1155/2020/6490479>
- Alzate, M. (2016). *rojos en frotis de sangre periférica Automatic classification of red cells in peripheral blood smears*. 48(3), 311–319.
- Arquitectura, E. Y., Introducci, T. I., 赫晓霞, Iv, T., Teatinas, L. A. S., Conclusiones, T. V. I. I., Contemporáneo, P. D. E. U. S. O., Evaluaci, T. V, Ai, F., Jakubiec, J. A., Weeks, D. P. C. C. L. E. Y. N. to K. in 20, Mu, A., Inan, T., Sierra Garriga, C., Library, P. Y., Hom, H., Kong, H., Castilla, N., Uzaimi, A., ... Bain, B. J. (2016). Khan's the physics of radiation therapy, 5th edition. *Medisur*, 15(1), 183–192. <https://doi.org/10.4103/2153-3539.129442>
- Arul, P., Pushparaj, M., Pandian, K., Chennimalai, L., Rajendran, K., Selvaraj, E., & Masilamani, S. (2018). Prevalence and types of preanalytical error in hematology laboratory of a tertiary care hospital in South India. *Journal of Laboratory Physicians*, 10(02), 237–240. https://doi.org/10.4103/jlp.jlp_98_17
- ASH. (1958). *American Society of Hematology*. <https://www.hematology.org/education>
- Azuela, J. H. S. (2014). *Visión Artificial Rasgos Descriptores Para El Reconocimiento De Objetos* (Issue Isbn 9788499641423).
- Baker, S. A., & Kerov, V. (2013). Photoreceptor inner and outer segments. In *Current Topics in Membranes* (Vol. 72, Issue January 2018). <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-417027-8.00007-6>
- Banday, S. A., Mir, A. H., & Malik, S. (2020). Multilevel medical image encryption for secure communication. In *Advances in Computational Techniques for Biomedical Image Analysis* (pp. 233–252). INC. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-820024-7.00012-8>
- Bangare, S. L., Dubal, A., Bangare, P. S., & Patil, S. T. (2015). Reviewing otsu's method for image thresholding. *International Journal of Applied Engineering Research*, 10(9), 21777–21783. <https://doi.org/10.37622/ijaer/10.9.2015.21777-21783>
- Benazzouz, M., Baghli, I., & Chikh, M. A. (2013). Microscopic image segmentation based on pixel classification and dimensionality reduction. *Online in Wiley Online Library*, 7. <https://doi.org/10.1002/ima.22032>
- Berga, L. (2009). Nacimiento, vida y muerte de los glóbulos rojos. El glóbulo rojo visto por un ingeniero. In *Revista de Obras Públicas* (Vol. 156, Issue 3496, pp. 7–18).

- http://ropdigital.ciccp.es/detalle_articulo.php?registro=18730&numero_revista=3496&anio=2009&anio_ini=2000&anio_fin=2009
- Bergen, T., Steckhan, D., Wittenberg, T., & Zeffass, T. (2008). Segmentation of leukocytes and erythrocytes in blood smear images. *2008 30th Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society*, 3075–3078. <https://doi.org/10.1109/IEMBS.2008.4649853>
- Beunza, J. J., Puertas, E., & Condés, E. (2020). Capítulo 4: Tipos de algoritmos de Machine Learning. In *Inteligencia Artificial en entornos sanitarios* (1st ed., p. 100). Elsevier Connect.
- Bjerrum, O. W. (2010). Color Atlas of Clinical Hematology. In *European Journal of Haematology* (Vol. 84, Issue 4). <https://doi.org/10.1111/j.1600-0609.2009.01394.x>
- Boonstra, J. J., Van Marion, R., Beer, D. G., Lin, L., Chaves, P., Ribeiro, C., Pereira, A. D., Roque, L., Darnton, S. J., Altorki, N. K., Schrupp, D. S., Klimstra, D. S., Tang, L. H., Eshleman, J. R., Alvarez, H., Shimada, Y., Van Dekken, H., Tilanus, H. W., & Dinjens, W. N. M. (2010). Verification and unmasking of widely used human esophageal adenocarcinoma cell lines. *Journal of the National Cancer Institute*, *102*(4), 271–274. <https://doi.org/10.1093/jnci/djp499>
- Bovik, A. C. (2009). Introduction to digital image processing. *The Essential Guide to Image Processing*, 1–21. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374457-9.00001-9>
- Brereton, M., De La Salle, B., Ardern, J., Hyde, K., & Burthem, J. (2015). Do we know why we make errors in morphological diagnosis? An analysis of approach and decision-making in hematological morphology. *EBioMedicine*, *2*(9), 1224–1234. <https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2015.07.020>
- Bunn, H. F. (2013). Erythropoietin. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, *3*(3), 1–20. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a011619>
- Buscema, P. M., Massini, G., Breda, M., Lodwick, W. A., Newman, F., & Asadi-Zeydabadi, M. (2018). Artificial neural networks. *Studies in Systems, Decision and Control*, *131*(January 2015), 11–35. https://doi.org/10.1007/978-3-319-75049-1_2
- Campuzano, G. (2013). Interpretación del hemograma automatizado: claves para una mejor utilización de la prueba. *Medicina & Laboratorio*, *19*, 11–68.
- Cano Corres, R., & Fuentes Arderiu, X. (2007). Errores en el laboratorio clínico. *Ifcc*, 1–7. [https://www.ifcc.org/media/214854/Errores en el laboratorio clínico.pdf](https://www.ifcc.org/media/214854/Errores%20en%20el%20laboratorio%20cl%C3%ADnico.pdf)
- Carraro, P., & Plebani, M. (2007). Errors in a stat laboratory: Types and frequencies 10 years later. *Clinical Chemistry*, *53*(7), 1338–1342. <https://doi.org/10.1373/clinchem.2007.088344>
- Castejón, M., Alegre, E., Barreiro, J., & Hernández, L. K. (2007). On-line tool wear monitoring using geometric descriptors from digital images. *International Journal of Machine Tools and Manufacture*, *47*(12–13), 1847–1853. <https://doi.org/10.1016/j.ijmactools.2007.04.001>
- Catalán, A. (2019). *Técnicas de procesamiento digital de imágenes* (pp. 68–71).
- Çelik, Ö. (2018). A Research on Machine Learning Methods and Its Applications. *Journal of Educational Technology and Online Learning*, September 2018. <https://doi.org/10.31681/jetol.457046>
- Chhillar, N., Khurana, S., Agarwal, R., & Singh, N. K. (2011). Effect of pre-analytical errors on quality of laboratory medicine at a neuropsychiatry institute in north India. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*, *26*(1), 46–49. <https://doi.org/10.1007/s12291-010-0082-2>
- Çınar, A., & Tuncer, S. A. (2021). Classification of lymphocytes, monocytes, eosinophils, and neutrophils on white blood cells using hybrid Alexnet-GoogleNet-SVM. *SN Applied Sciences*, *3*(4), 1–11. <https://doi.org/10.1007/s42452-021-04485-9>
- Colicchia, G., Wiesner, H., Waltner, C., & Zollman, D. (2008). A model of the human eye. *The Physics Teacher*, *46*(9), 528–531. <https://doi.org/10.1119/1.3023653>
- Comar, S. R., Malvezzi, M., & Pasquini, R. (2017). Evaluation of criteria of manual blood smear review following automated complete blood counts in a large university hospital. *Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia*, *x x*, 6–8. <https://doi.org/10.1016/j.bjhh.2017.06.007>
- Cox, E. P. (1927). A Method of Assigning Numerical and Percentage Values to the Degree of Roundness of Sand Grains. *Journal of Paleontology*, *1*(3), 179–183. <http://www.jstor.org/stable/1298056>
- De la Salle, B. (2019). Pre- and postanalytical errors in haematology. *International Journal of Laboratory Hematology*, *41*(S1), 170–176. <https://doi.org/10.1111/ijlh.13007>
- Dean, L. (2005). Blood and the cells it contains. *Blood Groups and Red Cell Antigens*, *Md*, 1–6.

- <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK2263/>
- Delgado, M., Molina, A., Alférez, S., Rodellar, J., & Merino, A. (2020). A deep learning approach for segmentation of red blood cell images and malaria detection. *Entropy*, 22(6), 1–16. <https://doi.org/10.3390/e22060657>
- Depaoli, R., Fernández, L., & Diaz, D. (1903). *Optimización de la ecualización del histograma en el procesamiento de imágenes digitales* (pp. 1–5).
- Deshpande, N. M., & Gite, S. (2021). A review of microscopic analysis of blood cells for disease detection with AI perspective. 27. <https://doi.org/10.7717/peerj-cs.460>
- Domínguez, A. (1996). *Procesamiento digital de imágenes* (p. 11). Perfiles.
- Escalona, Y. (2020). Algoritmos para el reconocimiento de estructuras de tablas. *Ingenius*, 25, 50–61. <https://doi.org/10.17163/ings.n25.2021.05>
- Espinoza, M. A. (2016). *Leucemia* (p. 11). <https://docplayer.es/21145502-Leucemia-linfoblastica-aguda-lla.html>
- Fatihah, C., Tangel, M. L., Widyanto, M. R., Dong, F., & Hirota, K. (2012). *Interest-based ordering for fuzzy morphology on white blood cell image segmentation* (Vol. 16, Issue 1).
- Fernández, J., Ariznavarreta, C., Cachofeiro, V., Cardinali, D., Escrich, E., Gil, P., Lahera, V., Mora, F., Romano, M., & Tamargo, J. (2010). Capítulo 21: Fisiología del eritrocito. In *Fisiología humana* (4e ed.). McGraw-Hill Companies, Inc.
- Ferruella, R. (2007). La visión y el ojo. *Apunts. Educació Física i Esports*, 2(88), 8–14–14.
- Fink, N. (2005). Automatización en hematología. *Hematología (B. Aires)*, 9 N° 1: 4-, 4–16.
- Gao, J. (2009). Image enhancement. In *Análisis digital de imágenes de teledetección* (p. 36). The McGraw-Hill Companies. <https://ezproxy.uan.edu.co:2107/content/book/9780071604659/chapter/chapter6>
- García, E. (2008). *Detección y clasificación de objetos dentro de un salón de clases empleando técnicas de procesamiento digital de imágenes*. Universidad Autónoma Metropolitana.
- Gonzales. (2014). Digital image processing using MATLAB. *Igarss 2014*, 1, 1–5.
- González, J. (2011). Técnicas y métodos de laboratorio clínico. In *Journal of Physics A: Mathematical and Theoretical* (Vol. 44, Issue 8). <https://doi.org/10.1088/1751-8113/44/8/085201>
- González, A. (2015). *Conceptos básicos de Machine Learning*. Cleverdata: Conceptos Básicos de Machine Learning. <https://cleverdata.io/conceptos-basicos-machine-learning/>
- González, B. H. (2009). Validación y verificación de métodos de laboratorio aplicados al banco de sangre. *Rev Mex Med Tran @BULLET Enero -Abril*, 2(1), 20–29.
- Gonzalez, R. C., & Woods, R. E. (2018). *Digital image processing 4th ed* (V. Tiwari, T. Kimber, & V. Kumar (eds.); p. 1168). Pearson.
- Gonzalez, R., & Woods, R. (2008). *Digital image processing* (3e ed.). PEARSON.
- Grado, T. D. E. F. I. N. D. E., Boyarshinov, V., Sociedad Argentina de Informática e Investigación Operativa (SADIO), Basyarudin, Silvestre, L. J., de las Heras Mínguez, G., Ramiro, A., Alvarado, V., Javier Merchán Macías, F., Management Solutions, Tfg, T. D. E. L., Autor, T., Salam, E., Data, S. J., Pentakalos, O., Gago Utrera, R., Urcuqui, C., Osorio, J., Navarro, A., ... González, F. A. (2018). Uso de algoritmos automático aplicado a bases de datos genéticos. *Высшей Нервной Деятельности*, 10(2), 44. <http://openaccess.uoc.edu/webapps/o2/bitstream/10609/65426/6/rgagoTFM0617memoria.pdf%0Ahttps://www.managementsolutions.com/sites/default/files/publicaciones/esp/machine-learning.pdf%0Ahttps://sedici.unlp.edu.ar/handle/10915/41722%0Ahttps://books.google.ca/>
- Guzmán, M. J., Guzmán, J., & Llanos de los Reyes, M. J. (2016). Significado de la anemia en las diferentes etapas de la vida. *Enfermería Global*, 15(3), 407. <https://doi.org/10.6018/eglobal.15.3.248221>
- Hamid, G. A. (2013). Clinical hematology. *JAMA*, 180(4), 350. <https://doi.org/10.1001/jama.1962.03050170082030>
- Hammerling, J. A. (2012). A review of medical errors in laboratory diagnostics and where we are today. *Laboratory Medicine*, 43(2), 41–44. <https://doi.org/10.1309/LM6ER9WJR1IHQUY>
- Hernández, C. L., & Dueñas, M. X. (2009). *Hacia una metodología de gestión del conocimiento basada en minería de datos* (pp. 79–95).

- [http://repositorio.uigv.edu.pe/bitstream/handle/20.500.11818/982/COMTEL-2009-80-96.pdf?sequence=1&isAllowed=y#:~:text=La metodología SEMMA \(Sample%2C Explore,de apoyo para el negocio.](http://repositorio.uigv.edu.pe/bitstream/handle/20.500.11818/982/COMTEL-2009-80-96.pdf?sequence=1&isAllowed=y#:~:text=La metodología SEMMA (Sample%2C Explore,de apoyo para el negocio.)
- Ibrahim, F., Dosoo, D., Kronmann, K. C., Ouedraogo, I., Anyorigiya, T., Abdul, H., Sodiomon, S., Owusu-Agyei, S., & Koram, K. (2012). Good clinical laboratory practices improved proficiency testing performance at clinical trials centers in Ghana and Burkina Faso. *PLoS ONE*, 7(6), 1–8. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0039098>
- Jaramillo, P., & Acevedo, P. (2013). Interferencia de las alteraciones morfológicas de los eritrocitos en el plaquetograma en pacientes con anemia de volumen corpuscular medio bajo, hospitalizados en la IPS de la Universidad de Antioquia, sede clínica León XIII. *Universitas Médica*, 54(4), 443–460. <https://doi.org/10.11144/Javeriana.umed54-4.iame>
- Jiang, M., Cheng, L., Qin, F., Du, L., & Zhang, M. (2018). White Blood Cells Classification with Deep Convolutional Neural Networks. *International Journal of Pattern Recognition and Artificial Intelligence*, 32(9). <https://doi.org/10.1142/S0218001418570069>
- Karpovitch, H. M. X. L. (2021). Capítulo 22: Hematopoyesis. In M. R. Pard. JESÚS A. FERNÁNDEZ-TRESGUERRES, VICTORIA CACHOFEIRO, DANIEL P. CARDINALI, EVA DELPÓN MOSQUERA, ENRIQUE REY DÍAZ-RUBIO, EDUARD ESCRICH ESCRICHE, VICENTE LAHERA JULIÁ, FRANCISCO MORA TERUEL (Ed.), *Fisiología humana* (5e ed.). M&N Medical Solutrad S.A. de C.V. <https://ezproxy.uan.edu.co:2105/book.aspx?bookid=2987>
- Kasper, D., Fauci, A. H. (2020). Capítulo 81e: Atlas de hematología y análisis de frotis de sangre periférica. In SILVERCHAIR (Ed.), *Harrison. Principios de medicina interna* (Los eosinó, pp. 1–32). <https://accessmedicina.mhmedical.com/>
- Krumbein, W. (1941). Measurement and Geological Significance of Shape and Roundness of Sedimentary Particles. *SEPM Journal of Sedimentary Research*, Vol. 11(2), 64–72. <https://doi.org/10.1306/D42690F3-2B26-11D7-8648000102C1865D>
- Kuppusamy, P. (2019). Machine Learning Architecture to Financial Service Organizations. *International Journal of Computer Sciences and Engineering*, 7 (11)(November), 21. <https://doi.org/10.26438/ijcse/v7i11.85104>
- Langley, P., & Carbonell, J. G. (1984). Machine Learning for dummies. In C. A. Burchfield (Ed.), *Journal of the American Society for Information Science* (IBM Limite, Vol. 35, Issue 5). Acknowledgments. <https://doi.org/10.1002/asi.4630350509>
- LeCun, Y., Bengio, Y., & Hinton, G. (2015). Deep learning. *Nature*, 521(7553), 436–444. <https://doi.org/10.1038/nature14539>
- Lewis, S. M., & Bain, B. J. (2008). Dacie y Lewis - Hematología práctica. In *Dacie y Lewis. Hematología Práctica* (10th ed.). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-84-8086-229-5.X5001-2>
- Lima, G., Lippi, G., Salvagno, G. L., Picheth, G., & Guidi, G. C. (2015). Laboratory diagnostics and quality of blood collection. *Journal of Medical Biochemistry*, 34(3), 288–294. <https://doi.org/10.2478/jomb-2014-0043>
- Liu, D., & Yu, J. (2009). Otsu method and K-means. *Proceedings - 2009 9th International Conference on Hybrid Intelligent Systems, HIS 2009*, 1(2), 344–349. <https://doi.org/10.1109/HIS.2009.74>
- Longo, D. L. (2012). Chapter 17e: Atlas of Hematology and Analysis of Peripheral Blood Smears. In *Harrison's principles of internal medicine: 18th Edition* (pp. 1–12).
- Lopez, J. (2005). Segmentación por Umbralización Método de Otsu. In *Universidad Nacional de Quilmes* (Vol. 3, pp. 1–4). Universidad Nacional de Quilmes. <http://iaci.unq.edu.ar/materias/vision/archivos/apuntes/Segmentación por umbralización - Método de Otsu.pdf>
- López, S. (2016). La biometría hemática. In *Bol.Med.Inst.Mex.Seguro Soc.* (Vol. 15, Issue 9, pp. 1–4).
- Lorsch, J. R., Collins, F. S., & Lippincottz, J. (2014). Fixing problems with cell lines. *Science*, 346(6216), 1452–1453. <https://doi.org/10.1126/science.1259110>
- Madhumita, B., & Zon, L. (2013). Hematopoiesis. *Development*, 140(12), 2463–2467. <https://doi.org/10.1242/dev.083147>
- María, S. L. R., & Rosa, O. G. N. (2015). *Historia del microscopio y su repercusión en la microbiología* (Vol.

- 15, Issue 2, pp. 355–372).
- Matlab. (2017). *Representación y Descriptores*. Procesamiento Digital De Imágenes. https://www.fceia.unr.edu.ar/dip/Representacion_Descriptores.pdf
- Matlab Academy Mathworks. (2020). *Deep Learning Onramp Course*. <https://matlabacademy.mathworks.com/R2020a/portal.html?course=deeplearning>
- Maya Campuzano, G. (2008). Utilidad clínica del extendido de sangre periférica: los eritrocitos. In *Medicina & laboratorio* (Vol. 14, Issues 07–08, pp. 311–357).
- Mayani, H., Flores, E., Pelayo, R., Montesinos, J. J., Flores, P., & Chávez, A. (2007). Hematopoyesis Cancerología 2. *Hematopoyesis*, 2, 95–107.
- Mazalan, S. M., Mahmood, N. H., & Razak, M. A. A. (2014). Automated red blood cells counting in peripheral blood smear image using circular hough transform. *Proceedings - 1st International Conference on Artificial Intelligence, Modelling and Simulation, AIMS 2013*, 1, 320–324. <https://doi.org/10.1109/AIMS.2013.59>
- Medrano, B. (2014). *Procesamiento de imágenes con MATLAB* (Issue lenguaje M, p. 20). https://personal.us.es/majiro/2014_10_10_clase2.pdf
- Mejía, M., & Alzate, M. (2015). Clasificación automática de formas patológicas de eritrocitos humanos (Automatic classification of pathological shapes in human erythrocytes). *Revista Ingenier{í}a*, 21(1), 31–48.
- Mohajon, J. (2020). *Matriz de confusión para su modelo de aprendizaje automático de clases múltiples*. <https://towardsdatascience.com/confusion-matrix-for-your-multi-class-machine-learning-model-ff9aa3bf7826>
- Naqa, I. El, & Murphy, M. J. (2015). What Is Machine Learning ? In C. Springer (Ed.), *Machine Learning in Radiation Oncology* (pp. 3–11). Springer International Publishing Suiza. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-18305-3>
- Naugler, C., Mohammed, E., Mohamed, M. A., & Far, B. (2014). Peripheral blood smear image analysis: A comprehensive review. *Journal of Pathology Informatics*, 5(1), 9. <https://doi.org/10.4103/2153-3539.129442>
- Niambi, A. (2005). Hematology. In *Hematology* (pp. 1–36).
- Nucci, L., Narvaez, D., & Krettenauer, T. (2014). Digital image processing. In R. Kernan, D. George, V. O'Brien, & A. Dworkin (Eds.), *Dairy Science & Technology, CRC Taylor & Francis Group* (2nd ed., Issue June). Prentice Hall. https://www.researchgate.net/publication/333856607_Digital_Image_Processing_Second_Edition/link/5d096caa299bf1f539cefac4/download
- Nurçin, F. V., & Imanov, E. (2021). Selective Hole Filling of Red Blood Cells for Improved Marker-Controlled Watershed Segmentation. *Scanning*, 2021, 1–9. <https://doi.org/10.1155/2021/5678117>
- Olachea, R. (2012). Reconocimiento y cuantificación de células de peces en imágenes de cortes Histológicos. *Tesis*, 98.
- Olofsson, M. (2014). *Short Matlab Manual*. file:///C:/Users/Usuario/Downloads/introToMatlab.pdf
- Olson, E. (2011). Particle Shape Factors and Their Use in Image Analysis. *Gxp*, 15(1).
- Ordoñez, C. A. (2005). Formatos de imagen digital. *Revista Digital Universitaria*, 5, 10. http://www.google.com.bo/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=2&cad=rja&uact=8&ved=0CCIQFjABahUKEwjri_Wb7ofGAhUEkQ0KHbpNABE&url=http://www.revista.unam.mx/vol.6/num5/art50/may_art50.pdf&ei=c5x5VauGDoSiNrqbqYgB&usq=AFQjCNEyvAYfvH6eDyToM8c51
- Page, M. P. A., Howard, R. J., O'Brien, J. T., Buxton-Thomas, M. S., & Pickering, A. D. (1996). Use of neural networks in brain SPECT to diagnose Alzheimer's disease. *Journal of Nuclear Medicine*, 37(2), 195–200.
- Pajares, G. (2001). *Visión por computador: imágenes digitales y aplicaciones* (Madrid: RA). Universidad Jaén. https://buscaenbujajaen.es/permalink/34CBUA_UJA/df6b9e/alma991002572029704994
- Parab, M. A., & Mehendale, N. D. (2020). Red blood cell classification using image processing and CNN. *SN Computer Science*. <https://doi.org/10.1007/s42979-021-00458-2>
- Piuri, V., & Scotti, F. (2004). Morphological classification of blood leucocytes by microscope images. 2004

- IEEE International Conference on Computational Intelligence for Measurements Systems and Applications, CIMSA, July*, 103–108. <https://doi.org/10.1109/cimsa.2004.1397242>
- Poon, S., Ward, R. K., Palcic, B., Imaging, C., Agency, B. C. C., Columbia, B., Engineering, E., Columbia, B., & W, B. C. V. T. R. K. (1992). *Automated image detection and segmentation in blood smears*. 774, 766–774. <https://doi.org/10.1002/cyto.990130713>
- Poon, T. C. W., Chan, A. T. C., Zee, B., Ho, S. K. W., Mok, T. S. K., Leung, T. W. T., & Johnson, P. J. (2001). Application of classification tree and neural network algorithms to the identification of serological liver marker profiles for the diagnosis of hepatocellular carcinoma. *Oncology*, 61(4), 275–283. <https://doi.org/10.1159/000055334>
- Pouliakis, A., Karakitsou, E., Margari, N., Bountris, P., Haritou, M., panayiotides, J., Koutsouris, D., & Karakitsos, P. (2016). Artificial Neural Networks as Decision Support Tools in Cytopathology: Past, Present, and Future. *Biomedical Engineering and Computational Biology*, 7, BECB.S31601. <https://doi.org/10.4137/becb.s31601>
- Puell, M. (2006). *Óptica Fisiológica: el sistema óptico del ojo y la visión binocular*. https://buscaenbuja.ujaen.es/permalink/34CBUA_UJA/df6b9e/alma991004034929104994
- Rafael, N., Leonard, T., & Mendoza, C. A. (2019). Valor del frotis de sangre periférica como orientación diagnóstica en las anemias hemolíticas. *Medisur*, 17(5), 706–718. <http://medisur.sld.cu/index.php/medisur/article/view/4407>
- Rahman, S., Azam, B., Khan, S. U., Awais, M., Ali, I., & ul Hussen Khan, R. J. (2021). Automatic identification of abnormal blood smear images using color and morphology variation of RBCS and central pallor. *Computerized Medical Imaging and Graphics*, 87(November 2020), 101813. <https://doi.org/10.1016/j.compmedimag.2020.101813>
- Rico, R. M. (2015). *Tema 6: Descriptores topológicos, geométricos y estadísticos de las imágenes digitales* (p. 49). Universidad de Sevilla.
- Roberto, B. (2013). *El histograma* (pp. 229–235).
- Rodak, C. (2010). *Atlas de Hematología Clínica Carr Rodak* (Panamericana (ed.); 3 a). EDITORIAL MEDICA PANAMERICANA S.A.C.E.
- Rojas, J. G., Ariza, L. L. C., & Delgado, B. M. (2018). Filtros. In *Telecomunicación Analógica. Principios de simulación y tratamiento de señal* (pp. 51–66). <https://doi.org/10.2307/j.ctt1zgw22.6>
- Romito, A., & Cobellis, G. (2016). Pluripotent stem cells: Current understanding and future directions. *Stem Cells International*, 2016(Icm). <https://doi.org/10.1155/2016/9451492>
- Sáenz Bajo, N., & Álvaro Ballesteros, M. (2002). Redes neuronales: concepto, aplicaciones y utilidad en medicina. *Atención Primaria*, 30(2), 119–120. [https://doi.org/10.1016/s0212-6567\(02\)78981-6](https://doi.org/10.1016/s0212-6567(02)78981-6)
- Sahlol, A. T., Kollmannsberger, P., & Ewees, A. A. (2020). Efficient classification of white blood cell leukemia with improved swarm optimization of Deep features. *Scientific Reports*, 10(1), 1–11. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-59215-9>
- Sepúlveda, J., & Soto, A. (2014). Capítulo 9: Sangre y hematopoyesis. In McGRAW-HILL (Ed.), *Texto Atlas de Histología. Biología celular y tisular* (2e ed., pp. 1–31). INTERAMERICANA EDITORES, S. A. de C. V. <https://ezproxy.uan.edu.co:2105/book.aspx?bookid=1506>
- Shirazi, S. H., Umar, A. I., Haq, N. U., Naz, S., & Razzak, M. I. (2015). Accurate microscopic red blood cell image enhancement and segmentation. In *Lecture Notes in Computer Science (including subseries Lecture Notes in Artificial Intelligence and Lecture Notes in Bioinformatics)* (Vol. 9043, Issue April, pp. 183–192). https://doi.org/10.1007/978-3-319-16483-0_18
- Sinecen, M. (2016). Digital Image Processing with MATLAB. *Applications from Engineering with MATLAB Concepts*, 1–42. <https://doi.org/10.5772/63028>
- Soille, P. (2001). *Morphological Image Analysis: Principles and Applications* (2nd ed.). Springer, Berlin, Heidelberg. <https://doi.org/10.1007/978-3-642-56680-6>
- Stéphane, M. (2009). Histograms. In *A Wavelet Tour of Signal Processing*. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374370-1.X0001-8>
- Szpringer, M. (1973). A Threshold Selection Method from Gray-Level Histograms. *IEEE Transactions on Systems, Man and Cybernetics*. *Czasopismo Stomatologiczne*, 26(8), 855–860. <https://doi.org/http://dx.doi: 10.1109/TSMC. 1979.4310076>

- Takashimizu, Y., & Iiyosh, M. (2016). New parameter of roundness R: circularity corrected by aspect ratio. *Progress in Earth and Planetary Science*, 3(1). <https://doi.org/10.1186/s40645-015-0078-x>
- Taquía, J. A. (2017). El procesamiento de imágenes y su potencial aplicación en empresas con estrategia digital. *Interfases*, 11–30. <http://repositorio.ulima.edu.pe/handle/ulima/5416>
- Terry, N., & Mendoza, C. (2017). Importancia del estudio del frotis de sangre periférica en ancianos. *Medisur*, 15(3), 362–382.
- Theera-umpon, N. (2005). *White blood cell segmentation and classification in microscopic bone marrow images* (pp. 787–796).
- Thorat, S., & Uike, D. (2020). Computerization Method to classifying of Red Blood Cells using Boosting Technique. *International Journal of Engineering Research And*, V9(06), 1572–1577. <https://doi.org/10.17577/ijertv9is060939>
- Tomari, R., Zakaria, W. N. W., Jamil, M. M. A., Nor, F. M., & Fuad, N. F. N. (2014). Computer aided system for red blood cell classification in blood smear image. *Procedia Computer Science*, 42(C), 206–213. <https://doi.org/10.1016/j.procs.2014.11.053>
- Tombak, A. (2019). Introductory chapter: Erythrocytes - basis of life. *Erythrocyte*, 210. <https://doi.org/10.5772/intechopen.88847>
- Torrens, M. (2015a). Interpretación clínica del hemograma: cell blood count clinical interpretation. *Revista Medica Clinica CONDES*, 26(6), 713–725. [http://www.laboratorioapg.com/cm4all/mediadb/Interpretación del hemograma.pdf](http://www.laboratorioapg.com/cm4all/mediadb/Interpretación%20del%20hemograma.pdf)
- Torrens, M. (2015b). Interpretación Del Hemograma. *Revista Medica Clinica CONDES*, 26(6), 713–725. [http://www.laboratorioapg.com/cm4all/mediadb/Interpretación del hemograma.pdf](http://www.laboratorioapg.com/cm4all/mediadb/Interpretación%20del%20hemograma.pdf)
- Torres, W. J., & Bello, R. J. (2006). Procesamiento de imágenes a color utilizando morfología matemática. *5ta. Conferencia Iberoamericana En Sistemas, Cibernética e Informática, CISCI 2006, Memorias*, 3(June 2006), 160–164.
- Tyagi, V. (2018). Understanding digital image processing. *Understanding Digital Image Processing*, November. <https://doi.org/10.1201/9781315123905>
- Vademecun. (2020). *El diagnóstico de las enfermedades hematológicas*.
- Villaluenga, J. L. (2019). *Reconocimiento automatico de objetos en imagenes mediante machine learning* (p. 62). Universitat Oberta de Catalunya.
- Villatoro, V., & To, M. (2018). *A laboratory guide to clinical hematology* (1st ed.). EDMONTON.
- Villavicencio, G., Cortés, A., Mansilla, J., & Ortiz, J. (2014). *Descriptores de Forma*. <http://www.scian.cl/archivos/uploads/1414263464.935>
- Wilding, P., Morgan, M. A., Grygotis, A. E., Shoffner, M. A., & Rosato, E. F. (1994). Application of backpropagation neural networks to diagnosis of breast and ovarian cancer. *Cancer Letters*, 77(2–3), 145–153. [https://doi.org/10.1016/0304-3835\(94\)90097-3](https://doi.org/10.1016/0304-3835(94)90097-3)
- Willoughby, C. E., Ponzin, D., Ferrari, S., Lobo, A., Landau, K., & Omid, Y. (2010). Anatomy and physiology of the human eye: Effects of mucopolysaccharidoses disease on structure and function - a review. *Clinical and Experimental Ophthalmology*, 38(SUPPL. 1), 2–11. <https://doi.org/10.1111/j.1442-9071.2010.02363.x>
- Wolf, P. R., Dewitt, B. A., & Wilkinson, B. E. (2014a). Digital image analysis. In *Elements of Photogrammetry with Applications in GIS* (4th ed., Issue 1). McGraw-Hill Companies, Inc. <https://www.accessengineeringlibrary.com/content/book/9780071761123/chapter/chapter8>
- Wolf, P. R., Dewitt, B. A., & Wilkinson, B. E. (2014b). Fundamental principles of digital image processing. In *Elements of photogrammetry with applications in GIS* (4th ed.). McGraw-Hill Companies, Inc. [https://www.accessengineeringlibrary.com/content/book/9780071761123/front-matter/preface1%0ADownload as...](https://www.accessengineeringlibrary.com/content/book/9780071761123/front-matter/preface1%0ADownload%20as...)
- Yi, F., Moon, I., & Javidi, B. (2016). Cell morphology-based classification of red blood cells using holographic imaging informatics. *Biomedical Optics Express*, 7(6), 2385. <https://doi.org/10.1364/boe.7.002385>
- Yoshida, T., Prudent, M., & D'Alessandro, A. (2019). Red blood cell storage lesion: Causes and potential clinical consequences. *Blood Transfusion*, 17(1), 27–52. <https://doi.org/10.2450/2019.0217-18>
- Yousefi, J. (2015). Image binarization using Otsu thresholding algorithm. *Research Gate*, May.

-
- <https://doi.org/10.13140/RG.2.1.4758.9284>
- Yu, J., & Thomson, J. (2008). Pluripotent stem cell lines. *Genes & Development*, 22(15), 1987–1997. <https://doi.org/10.1101/gad.1689808>
- Zambrano U., H. M. (2018). Imagen digital y tecnología. *Ñawi*, 2(1), 60. <https://doi.org/10.37785/1002103>
- Zamora, F. G. (2002). Procesamiento morfológico de imágenes en color: aplicación a la reconstrucción geodésica [Universidad de Alicante]. In *Fundamentos de morfología matemática*. <http://hdl.handle.net/10045/10053>
- Zamudio, L. (2017). Cálculos del volumen sanguíneo. In *Rev Mex Med Tran* (Vol. 10, pp. 14–17). <http://www.medigraphic.com/medicinatransfusional/%0A14>
- Zhu, J., Zhang, E., & Rio-Tsonis, K. (2012). Eye anatomy. *ELS*, October. <https://doi.org/10.1002/9780470015902.a0000108.pub2>