

Violet Wound - Um software de Reconhecimento de Biofilme em feridas crônicas aplicando técnicas de super resolução e imunofluorescência utilizando dispositivos móveis.

Matheus Alves Rodrigues
Análise e Desenvolvimento de Sistemas
Instituto Federal da Bahia
Salvador, Brasil
Email: mr634580@gmail.com

Antônio Carlos Santos Souza
Análise e Desenvolvimento de Sistemas
Instituto Federal da Bahia
Salvador, Brasil
Email: antoniocarlos@ifba.edu.br

Resumo—As feridas crônicas são conceituadas como qualquer interrupção na continuidade do tecido corporal, decorrente de traumas ou afecções clínicas que apresenta um processo de cicatrização lento e difícil, ultrapassando a duração de seis semanas. Essas lesões são consideradas um grande problema de saúde pública devido aos gastos realizados no processo de tratamento. Um dos maiores problemas no atraso do processo de recuperação das lesões é a presença de colônia de bactéria que causam infecções, impedindo a cascata de cicatrização. Neste contexto, este trabalho visa aprofundar o uso da tecnologia na medicina, elaborando um software de apoio ao profissional que permita a identificação da carga bacteriana e a bactéria que está prestes a formar o biofilme na ferida crônica através de um dispositivo móvel com super resolução e imunofluorescência em pacientes de uma Unidade de Saúde da Família no município de Salvador.

Keywords—Ferida crônica, colorimetria, biofilme, carga bacteriana, identificação de bactéria, imunofluorescência, luz negra, Visão Computacional.

I. INTRODUÇÃO

Ao longo da história, a tecnologia trouxe diversas modificações para a área da saúde, na forma de relacionamento entre os médicos e pacientes, na gestão das instituições, além das máquinas propriamente ditas, que são amplamente utilizadas na medicina. Atualmente, as ferramentas tecnológicas possuem um alto índice de usabilidade por parte dos médicos para otimizar o acompanhamento dos pacientes, fazendo com que a tecnologia ajude a tomar melhores decisões. Nesse sentido, este estudo visa criar uma nova ferramenta para o auxílio à profissionais da saúde com o tratamento de feridas crônicas. As feridas crônicas são interrupções na continuidade do tecido sem a progressão do processo de cicatrização tecidual em uma média de 12 semanas [1]. Os fatores que estimulam o surgimento da ferida vão desde o comprometimento vascular, presença de doenças sistêmicas e crônicas, cirurgias, traumas, escolha errada do curativo, bem como, o não tratamento da causa da ferida, ocasionando infecções de difícil manuseio clínico [2]. Essas lesões são consideradas um sério problema

de saúde pública devido aos gastos despendidos para o tratamento.

O biofilme é conceituado por placas bacterianas ou amontoado de bactérias que geralmente são formados em toda extensão da lesão crônica, além de que são comunidades que se fixam em diversos tipos de superfícies, entre eles, a ferida. Eles possuem cinco estágios que caracterizam a sua formação: formação de filme e fixação reversível, formação irreversível, multiplicação, amadurecimento, dispersão [2]. Diante disso, é possível notar a complexidade do tratamento de lesões crônicas com presença de biofilme.



Figura 1: Ferida Crônica com Luz UV aplicada, 2023. Fonte: [2].

A complexidade do tratamento de feridas crônicas com a presença de biofilme é um fator motivacional para a implementação desse projeto. Uma das principais barreiras no tratamento é a identificação da carga bacteriana e qual cadeia está construindo o polímero, sendo que atualmente os métodos mais comuns para esta detecção é a biópsia da ferida e a cultura por swab.¹Em ambos, os resultados dos laudos, normalmente, demoram entre 3 e 15 dias. Este fator interfere negativamente na cicatrização por induzir profissionais de saúde a realizarem tratamentos de forma empírica, o que pode afetar diretamente a resistência bacteriana aos antibióticos [2]. Além disso, é interessante mostrar que outros fatores também interferem na

cicatrização da ferida, um deles é o estado nutricional do indivíduo, pois através deste que os macro e micro nutrientes chegam ao local da lesão, auxiliando o processo de evolução da lesão tornando um fator determinante para a cicatrização de feridas. Vale ressaltar também que tanto nesta como em qualquer outra alteração, pode resultar em seu atraso ou falha da cicatrização, além de prejudicar a qualidade de vida da pessoa portadora da lesão e aumentar o índice de mortalidade e dos gastos públicos. Sendo assim, o bom estado nutricional e uma hidratação adequada são essenciais para prevenção e manutenção da integridade das barreiras cutâneas, e a evolução do processo cicatricial [3]. Desta maneira, o uso de tecnologias na área de visão computacional como meio para descoberta da presença de biofilme na lesão infectada em estágios iniciais, vem sendo combustível para grandes estudos na área de saúde [4].

Caracterizada como um dos maiores limitadores para a realização desta pesquisa, o cálculo da carga bacteriana, uma vez realizado através da coleta de pedaços da ferida, ou seja, biópsia, e da cultura das bactérias para que sejam contabilizadas, é a forma que se mostra mais eficiente deste cálculo, no entanto, também existem outros métodos menos precisos e mais estimativos de cálculo. Um deles é o método PCR(Polymerase Chain Reaction), que consiste na coleta de primers de DNA da região de interesse, além dos Testes Imunológicos, usados na identificação de microorganismos, mas que também é menos preciso que a Biópsia [1].

Considerando esta lacuna, o presente trabalho foi desenvolvido tendo como base um projeto de pesquisa do Programa de Pós-graduação em Engenharia de Sistemas e Produtos do Instituto Federal da Bahia (PPGESP-IFBA), a qual participamos como equipe de desenvolvimento, propõe o desenvolvimento de um software capaz de registrar em tempo real, por fluorescência e super resolução, a presença de biofilme nas feridas crônicas, e identificando seu polímero, auxiliando as equipes profissionais no tratamento.

Para o processo de concepção deste trabalho, foi necessária uma revisão bibliográfica tendo como objetivo o levantamento da fundamentação teórica do tema proposto. O objetivo principal deste trabalho é o desenvolvimento de uma ferramenta que permita identificar a presença de bactérias através da colorimetria e da fluorescência.

Dessa maneira, a próxima seção discorre à respeito de conceitos da formação da ferida sobre a pele, custos de tratamento, como é feito atualmente, além de conceitos de detecção de objetos em uma imagem e algoritmos de reestruturação de pixels.

II. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

A pele é considerada o maior órgão do corpo humano, atuando como uma barreira protetora contra agentes externos como vírus e bactérias, além de ser responsável pela regulação térmica e funções sensoriais. Ela é composta pela epiderme,

derme e hipoderme com a presença de vasos sanguíneos, tecido adiposo, células do sistema imune, folículos pilosos, terminações nervosas, colágeno e outros componentes, localizados principalmente na derme e que estão diretamente relacionados a suas funções [5].

A aparição de feridas na pele humana ocorre por meio de agentes térmicos, mecânicos, bacterianos e químicos que causam uma interrupção na continuidade da pele, dessa forma, o processo de cicatrização acontece através de uma série de fenômenos que irão resultar na reparação tecidual. A ferida crônica é definida como uma lesão que causa a descontinuidade da pele e apresenta um processo de cicatrização lento e difícil, excedendo o prazo de seis semanas. Existem diversos fatores internos e externos que podem afetar diretamente o processo de cicatrização[1].

Essas feridas são consideradas um grande problema de saúde pública devido aos gastos que apresentam ao Ministério da Saúde tanto no Brasil como no mundo. São lesões em que o portador pode conviver com ela por anos, ocasionando dificuldades na qualidade de vida. Elas podem ser decorrentes da insuficiência venosa crônica, alterações vasculares, diabetes melitus e lesões por pressão, dessa forma, devido ao longo processo de cicatrização, estão mais vulneráveis a desenvolver infecção, principalmente das bactérias presentes na própria pele [6].

Acredita-se que a falta de acesso a tecnologias de diagnóstico simples, rápidos e de baixo custo contribui consideravelmente para o aumento de doenças infecciosas, principalmente em países subdesenvolvidos [2]. No Brasil, as estatísticas relacionadas as feridas crônicas ainda são iniciais, porém, sabe-se que os idosos são o tipo de população mais suscetível a desenvolver essa condição, principalmente por estar associada a doenças comuns, como insuficiência venosa, pressão alta e diabetes [7].

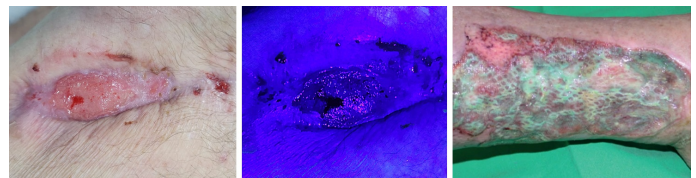


Figura 2: Diferença entre imagem Luz Branca, Luz UV e Biofilme. Fonte: [2].

Para identificar o tipo de microorganismo causador da infecção em feridas, realiza-se exames laboratoriais e através de uma análise qualitativa e/ou quantitativa de amostras adquiridas por cultura através de técnicas como a de Levine ou por biópsia. A técnica considerada mais eficiente é a biópsia, porém, é mais invasiva e tem um maior custo, nesse caso, o swab, que é menos invasivo e de menor custo, é o mais utilizado. Alguns autores acreditam que a técnica com swab é mais superficial e que não é possível identificar as bactérias que estão realmente presente na infecção, entretanto, outros autores acreditam que se a coleta for correta, os

1

Um swab é uma pequena haste ou bastão de plástico ou metal com uma ponta de algodão.

resultados podem ser confiáveis [3].

Devido à resistência medicamentosa decorrente da presença de biofilmes em feridas crônicas e a dificuldade em realizar biópsia, que além de ser uma técnica padrão-ouro de diagnóstico, tem seu resultado demorado em média de 3 a 15 dias, interferindo na agilidade do tratamento das lesões, foi pensado em um método tecnológico e mais ágil para identificação bacteriana e de biofilmes nessas lesões[2]. A terapia tópica e o uso de antibióticos ainda é o tratamento mais utilizado em feridas crônicas infectadas, no entanto, se houver a presença de biofilmes, pode inviabilizar a eficácia dos medicamentos[1]. A partir disso, a ideia é a utilização de algoritmos para a identificar a carga bacteriana e a bactéria presente em determinado biofilme, auxiliando o profissional em um diagnóstico mais rápido, consequentemente, evitando possíveis necroses teciduais.

Para desenvolver a tecnologia proposta acima, será empregado o processamento de imagens digital em que é utilizado um computador para processar imagens digitais por meio de um algoritmo. Ele permite uma gama muito mais ampla que o processamento de imagem analógica, uma vez que os algoritmos são aplicados aos dados de entrada e podem evitar problemas como o acúmulo de ruído e distorção durante o processamento. A geração e o desenvolvimento do processamento digital de imagens são afetados por três fatores: o desenvolvimento dos computadores; O desenvolvimento da matemática, principalmente na criação e melhoria da teoria matemática discreta; E a demanda por uma ampla gama de aplicações em meio ambiente, agricultura, militar, indústria e ciência médica estarem aumentando exponencialmente [8].

Na área de processamento de imagem digital, a aplicação de filtros em imagens é uma das principais ferramentas utilizadas para refinar a qualidade da imagem, recuperando a nitidez de contornos e estruturas presentes e que estejam com ruído. A imagem é uma representação bidimensional de um objeto composta pelos eixos x e y , no qual diversas funções podem ser aplicadas, tal como o filtro Gaussiano que tem como finalidade suavizar imagens através de um cálculo aplicado a todos os pixels da imagem. Outra técnica bastante utilizada e um dos mais poderosos algoritmos para a detecção de objetos na imagem, a transformada de watershed é uma ferramenta de segmentação morfológica na área de topologia. Nesse contexto, também será necessário a utilização do algoritmo de canny, que tem como principal objetivo o desenvolvimento de um detector ótimo para o tipo mais comum em imagens digitais, as bordas do tipo degrau [9].

O operador ótimo é a principal constatação de Canny, sendo semelhante à função gerada pela primeira derivada da função Gaussiana, porém, existem outros operadores que o complementam, como a supressão não máxima que trabalha o afinamento das bordas e a histerese que é baseada em uma dupla limiarização, que elimina fragmentação das bordas causada pelo ruído da imagem [9].

Levando em consideração a área de reconhecimento de

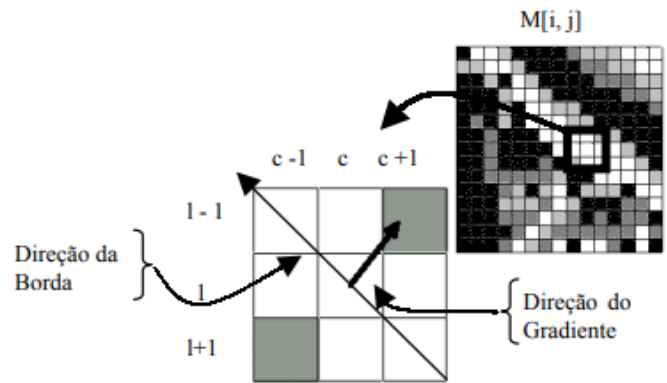


Figura 3: Exemplo de supressão não máxima quando a direção do gradiente é de 45°. Fonte: [9].

bactérias, a Luminescência é o termo utilizado para descrever um processo através do qual a luz é produzida sem a presença de calor. A produção de luz incandescente ocorre com todas as luzes comuns do dia-a-dia. Uma lâmpada incandescente aquece o filamento de arame para emitir luz, no entanto, luz também pode ser produzida por outros processos diferentes em que o calor não esteja envolvido. Vagalumes, pulseiras de festa infantil são alguns exemplos. Existem dois tipos de Luminescência: A fluorescência e a Fosforescência, ambas das formas podem ser identificadas dependendo do tempo de luz emitida. A fluorescência é conceituada à emissão de luz que não dura mais de 10 nanossegundos, já a fosforescência refere-se à emissões maiores que 10 nanossegundos. Essas substâncias possuem diversas aplicações práticas nos dias de hoje, indo desde pulseiras de festas infantis, revestimento de relógios, lâmpadas fluorescentes, entre outros [10].

Podemos definir fluorescência como sendo a luminescência de uma cor visível emitida por uma substância a partir de sua estimulação ou excitação por uma radiação eletromagnética. Isso ocorre quando um feixe de luz ultravioleta excita um elétron e o seu estado é alterado de um nível baixo (fundamental) para um nível alto de energia ou excitação. Quando seu estado retorna ao nível baixo temo então a emissão de fluorescência. Essa mudança para um nível de energia mais alto é conhecida com absorção. O espectro de absorção é dependente do comprimento de onda de luz e esse valor é útil, pois através dele pode-se realizar a identificação e o mapeamento dos compostos [?].

No contexto do tratamento de feridas, o espectro de sinais produzidos depende dos comprimentos de onda de excitação e da composição de fontes biológicas e não biológicas. Esses comprimentos de onda/cores são deveras informativo. O estímulo por luz ultravioleta e por luz violeta desencadeia a emissão de fluorescência vermelha de porfirinas, que é indicativa de bactérias. No entanto, os fluoróforos intrínsecos

presentes no tecido ao redor da ferida também emitem sinais de fluorescência quando estimulados, porém, são menos informativos e obscurecem a capacidade de discernir os comprimentos de onda da região de interesse. Os comprimentos de onda de interesse também podem ser amortecidos pela luz violeta refletida. A luz ultravioleta é conceituada como toda radiação eletromagnética emitida a um comprimento de onda entre 200 e 400 nanômetros (nm). A Luz Negra é um exemplo de Luz Ultravioleta produzida junto a uma pequena quantidade de luz visível. A Luz violeta está dentro do espectro visível do olho humano e é conceituada como a cor de maior frequência que conseguimos observar, por isso também pode ser utilizada na busca por fluorescências da ferida [8].

Os componentes chamados de fluoróforos são moléculas orgânicas que emitem radiação eletromagnética em um comprimento de onda maior, a partir de uma absorção na faixa de UV. Recebem a classificação intrínseca quando são nativos presentes em proteínas como o triptofano, fenilalanina e tirosina. Os fluoróforos extrínsecos são aqueles sendo adicionados aos compostos para serem detectados como sondas fluorescentes [?].

Vale destacar que a *Pseudomonas aeruginosa spp* é um patógeno oportunista da pele humana e a presença do sideróforo pioverdina nos ferimentos está relacionada a alta virulência desta bactéria [11]. A sua síntese que é responsável por emitir a fluorescência quando iluminada pela luz UV. Isto está de acordo com os estudos de Rennie [8], que enfatiza que quando iluminados pela luz violeta de 405 nanômetros, os componentes da matriz extracelular emitem fluorescência ciano para bactérias *pseudomonas aeruginosa spp* produtoras de pioverdinas.

Um estudo realizado por [12] em 2013, demonstrou que as feridas que apresentaram, na cultura por swab, isolamento *P. aeruginosa* têm 3,6 vezes mais chances de desenvolverem infecção quando comparadas àquelas a partir das quais esse microrganismo não foi isolado. Somando este fator com a pesquisa divulgada por [13] (2015) que conclui que a *Pseudomonas spp* apresenta grande resistência aos antibióticos favorecendo a formação dos biofilmes.

Diante disto, conclui-se que é muito importante o desenvolvimento de produtos biomédicos que favoreçam o controle da carga bacteriana das *pseudomonas spp* nas feridas crônicas, pois sua ausência na ferida está associada a uma menor incidência de filme bacteriano e conseqüentemente a uma mais rápida cicatrização. O intuito do VioletWound é exatamente ajudar nesse contexto. Existem também as bactérias que contêm porfirina em sua camada extracelular, elas emitem fluorescência vermelha quando submetidas a iluminação por UV.

Em [4] (2021) rastreamos sinais de fluorescência vermelha induzida por porfirinas em tecidos de pele contaminados por

bactérias e concluíram que elas podem ser identificadas. [14] (2020) explica que isto ocorre, pois, as bactérias convertem o glutamyl-tRNA carregado em ácido δ -aminolevulínico (ALA) com o objetivo de sintetizar a heme que incorpora o ferro e transforma a porfíria em anel. Esta, ao ser excitada com luz ultravioleta ou violeta resulta na emissão de luz na região de comprimento de onda vermelha do espectro de luz.

Existem dois grandes desafios com relação a cepas bacterianas que emitam fluorescência vermelha na excitação por luz UV: a primeira é identificar qual bactéria está sendo observada, pois cada uma delas emitem uma frequência de luz no código de cor RGB. E a outra é medir o quantitativo de Heme em cada uma delas, pois isto determina o potencial de virulência nas feridas [8].

Outro desafio está relacionado ao fato de somente os patógenos alocados nas superfícies das feridas podem ser detectados, pois as emissões de fluorescência vão se diminuindo por conta da dispersão óptica causada pela passagem dos tecidos que estão mais acima. Os componentes mais profundos da derme posteriormente não emitem sinais de fluorescência destacáveis porque a luz ultravioleta não pode penetrar longe o suficiente no tecido [8].

A. *Biblioteca OpenCV*

O OpenCV (Open Source Computer Vision Library) é uma biblioteca originalmente desenvolvida pela Intel Research em 1999 para a área de Visão Computacional. De código aberto, o OpenCV teve como intuito melhorar aplicações de uso intensivo de processamento, sendo parte de uma série de projetos que incluíam Ray tracing e monitores 3D. Possui módulos de processamento de Imagens, Vídeos, Estrutura de dados, Álgebra Linear, GUI Básica (Interface Gráfica do Usuário) com sistema de janelas independentes, controle de mouse e teclado, além de mais de 350 algoritmos de Visão computacional como: Filtros de imagem, calibração de câmera, reconhecimento de objetos, análise estrutural e outros. Diversas linguagens têm suporte para a biblioteca, tais como: C++, Java, Python e Visual Basic [15], no entanto, neste projeto, utilizamos a linguagem python para a implementação dos algoritmos de reconhecimento de biofilmes. Nesse sentido, filtros de imagem do OpenCV foram de grande importância para o desenvolvimento do projeto. A implementação do filtro no OpenCV usa uma estrutura que consiste em envolver uma matriz (Kernel) pela imagem, e as operações são executadas entre os valores da matriz e os pixels. Geralmente o kernel é normalizado, ou seja, cada valor da matriz é dividido pelo tamanho total do kernel, esse processo de normalização é realizado para não distorcer as cores da imagem.

Exemplos de Filtro:

1) Filtro Blur

É um filtro de média e executa com base no cálculo explicado no parágrafo acima. Para aplicar esse filtro basta definir o tamanho do kernel e passar como parâmetro para a

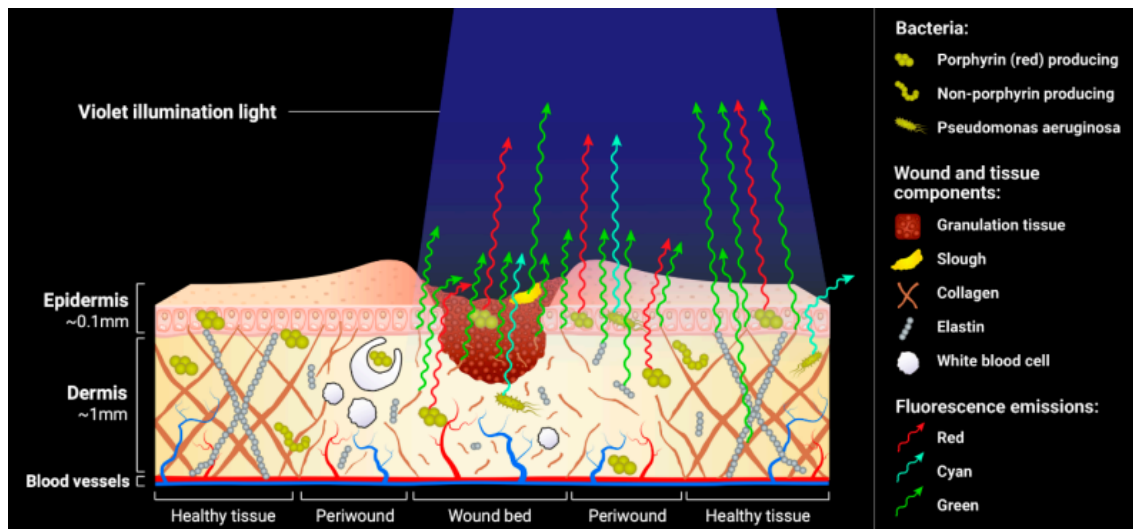


Figura 4: Emissões de Luminescência de tecidos e bactérias. Fonte: [8].

função `cv2.blur()` [16].

2) Filtro *GaussianBlur*

Utiliza o kernel de forma gaussiana, ou seja, em forma de cone no centro do kernel e os valores vão decaindo à medida que se afasta do centro. Além disso, realiza o cálculo de maneira espacial utilizando a média ponderada dos pixels vizinhos [16].

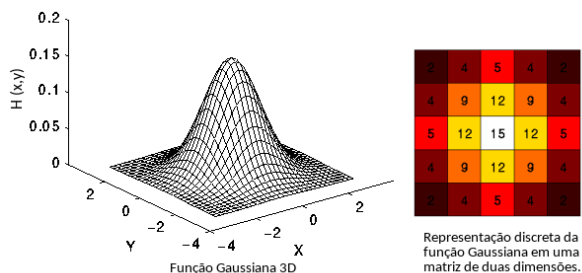


Figura 5: Exemplo de Função Gaussiana em uma matriz de duas dimensões. Fonte: [17].

3) Filtro *Bilateral*

Também utiliza a função gaussiana com uma pequena diferença: A gaussiana do bilateral é uma função de intensidade, somente os pixels com intensidade parecida é considerado o desfoque [16].

4) *MATPLOTLIB*

O Matplotlib é uma biblioteca abrangente para criar visualizações estáticas, animadas e interativas em Python. Foi desenvolvido por John Hunter em 2003, é uma biblioteca de plotagem para a linguagem de programação Python, possui uma comunidade de desenvolvimento ativa, sendo distribuído sob a licença BSD. Em agosto de 2012, pouco antes da

morte de John Hunter, Michael Droettboom, acompanhado por Thomas Caswell, foi nomeado desenvolvedor principal do Matplotlib [18].

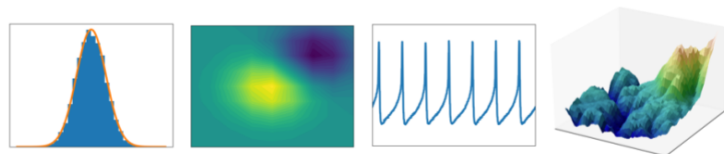


Figura 6: Exemplo prático de utilização do Matplotlib. Fonte: [18].

5) *NumPy*

NumPy é uma biblioteca para a linguagem de programação Python que adiciona suporte aos arrays e matrizes multidimensionais juntamente com uma grande coleção de funções matemáticas de alto nível para operar nessas estruturas de dados. O NumPy é um software de código aberto e possui muitos colaboradores.

III. TRABALHOS CORRELATOS

Abaixo são apontados alguns trabalhos que correlacionam-se, em maior ou menor grau, com algumas das funcionalidades deste projeto, ou serviram de inspiração na concepção e no andamento deste trabalho.

A. Projeto *MolecuLight*

O Projeto MolecuLight [8] tem como objetivo a detecção de padrões de colorimetria em imagens de feridas crônicas com Luz Ultravioleta utilizando um novo dispositivo de imagem de fluorescência portátil e criado por eles para este fim. O dispositivo possui tamanhos um pouco maiores que um smartphone comum, com 32GB de armazenamento, camera de 5 megapixels, sensores de vídeo, estabilizadores de vídeo, gravação em 1080p, emissores fluorescência (Luz

Negra), utiliza o sistema operacional iOS 9.3.5, entre outras características. Além disso, a ótica do dispositivo filtra as bandas de comprimento de onda não informativas do espectro de fluorescência. Somente sinais de comprimentos de onda associados à fluorescência bacteriana (vermelho e ciano) e de uma faixa estreita de autofluorescência de tecido verde (para contexto anatômico) podem passar pelos filtros ópticos para formar a imagem em tempo real.



Figura 7: Dispositivo Portátil - MolecuLight, 2023. Fonte: MolecuLight IX [8].

B. Biofilmes e Feridas Crônicas

Em [19] é feita uma análise sobre as bactérias, como elas crescem em colônia e não individualmente, a forma como se multiplicam, os motivos para a formação do biofilme no hospedeiro, entre outros. Aborda também as fases da lesão, sendo composta por fase inflamatória, fase proliferativa e fase de maturação, que são importantes para a realização de um diagnóstico correto e, posteriormente, um tratamento acertivo.

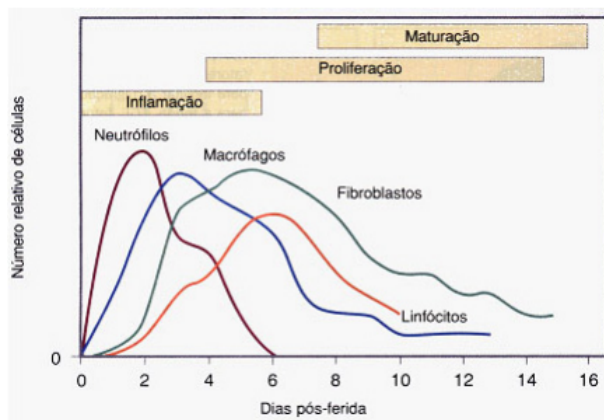


Figura 8: Evolução do número relativo de células sanguíneas e fibroblastos nas fases sequenciais do processo de cicatrização, 2023. Fonte: [19].

Além disso, é feita uma síntese com aos mecanismos enzimáticos, que está relacionado com a produção de diferentes enzimas por parte das bactérias que neutralizam ou inibem os efeitos antimicrobianos. Isto pode acontecer por hidrólise, transferência de um grupo ou processo oxidação-redução. São

exemplos de enzimas que inativam antimicrobianos, as Beta-lactamases e os aminoglicosídeos quinases.



Figura 9: Algumas hipóteses de mecanismos de resistência dos biofilmes aos antimicrobianos, 2023. Fonte: [19].

O objetivo de [19] foi a realização de uma proposta para o desenvolvimento de um algoritmo para a detecção de biofilmes, no entanto, apenas foi criado um fluxograma com os possíveis caminhos e não foi encontrado um algoritmo prático desenvolvido neste projeto. O algoritmo foi proposto servir como um guia para o profissional de saúde na confirmação da presença de um biofilme numa ferida e, conseqüentemente, quais as medidas apropriadas para o gerir.

C. Imunossensores Eletroquímicos

Em [20] é explicado como ocorre a incidência da Luz Ultravioleta na pele humana, além de detalhar os conceitos de fluorescência e do comprimento de onda. Tem como objetivo contribuir para o desenvolvimento de novos métodos de detecção rápida de patógenos, especificamente a bactéria *S. aureus*. Além disso, Analisar e aprofundar os estudos de espectrografia por fluorescência para complementar as metodologias já existentes e contribuir para os estudos de análise de imagens computacionais das aglutinações resultantes de uma reação entre antígeno-anticorpo (Ab-Ag) que possam ser enviadas para um dispositivo portátil de análises como, por exemplo, smartphones.

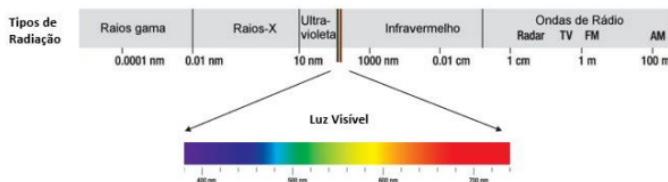


Figura 10: Os diferentes comprimentos de ondas formam o que conhecemos por espectro luminoso é o intervalo de todas as frequências e ondas eletromagnéticas, 2023. Fonte: [20].

D. Dispositivo de imagem de autofluorescência para detecção e rastreamento em tempo real de bactérias patogênicas em pele de rato.

O projeto [21] tem como objetivo a elaboração de um protótipo de um dispositivo para detecção da bactéria *S. aureus* chamado PRODIGI Mobile. Inicialmente, este dispositivo foi idealizado sem a utilização de um smartphone, como é mostrado na figura 11.

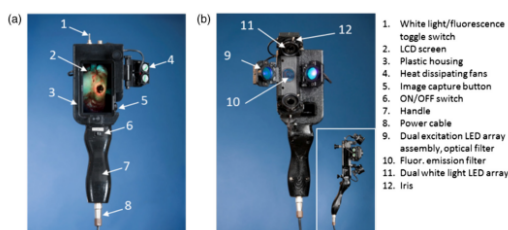


Figura 11: O protótipo portátil do dispositivo de imagem PRODIGI, 2023. Fonte: [21].

Embora o protótipo do dispositivo PRODIGI seja portátil e compacto, seu uso provou ser complicado durante a geração de imagens FL dos camundongos dentro do espaço confinado do gabinete de biossegurança no biotério da instituição. Dessa forma, eles desenvolveram uma versão com a utilização de um smartphone do PRODIGI, que é uma representação fisicamente diferente da mesma tecnologia, operando com base nos mesmos princípios e parâmetros ópticos de imagem FL, e fornecendo a mesma saída de imagem que o dispositivo protótipo.

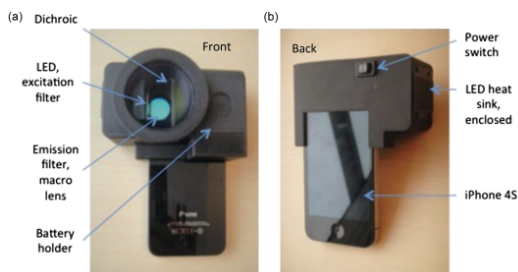


Figura 12: O PRODIGI Mobile, os componentes ópticos e o suporte da bateria do adaptador, 2023. Fonte: [21].

Neste contexto, o presente trabalho ateu-se a construir um produto minimamente viável para auxiliar o profissional de saúde na tomada de decisão em relação ao tratamento da ferida crônica, baseando-se em fluorescência e luminescência, que foram conceitos utilizados no desenvolvimento do algoritmo para a detecção de biofilme, evitando a interferência do viés que poderia causar a análise empírica.

IV. METODOLOGIA DE PESQUISA

Este trabalho foi realizado a partir de um projeto de Mestrado PPGESP-IFBA da Autora Gisela Piloto Rodrigues, a qual ficará responsável pela coleta dos dados para serem submetidos ao algoritmo.

A autora do projeto construiu a proposta a partir do paradigma conexionista, que considera a aprendizagem e a experiência como critérios fundamentais na configuração da rede de modo dinâmico e cognitivo [22]. Quanto ao delineamento do estudo, a natureza foi de pesquisa aplicada e quanto ao método ou abordagem metodológica, a pesquisa seguiu a combinação quali-quantitativa.

Com relação aos procedimentos metodológicos, foi definido o estudo de acurácia (teste de acurácia) e quanto aos objetivos da pesquisa, a classificação foi explicativa, pois buscou primeiramente construir um app para identificar a presença de bactéria bem como sua carga biológica na ferida crônica a partir da análise fotográfica utilizando fotos de lesões crônicas. Posteriormente a essa implementação, o app VioletWound será utilizado para a análise das imagens geradas em tempo real juntamente com a cultura das feridas crônicas.

Inicialmente foram definidos critérios para a inclusão ou exclusão do participante no estudo: Para inclusão, o participante classificado como portador de ferida crônica que apresentava ruptura de pele há pelo menos seis semanas e que fosse maior de 18 anos. Para a exclusão, o participante não poderia estar em tratamento com um medicamento experimental dentro de 1 mês antes da inscrição no estudo, qualquer contraindicação para cuidados de rotina e/ou monitoramentos de feridas e paciente com problemas de pele pré-existent em áreas próximas a ferida.

Na etapa inicial, foram capturadas fotos das lesões crônicas de pele de indivíduos adultos em busca de padrões colorimétricos que indiquem a presença da cadeia de biofilme bacteriano bem como carga bacteriana. Essa coleta de dados aconteceu em uma Unidade de Saúde da Família do Município de Salvador e a amostra populacional foi composta por 05 pacientes adultos com o objetivo de auxiliar a testagem e o desenvolvimento do algoritmo do aplicativo VioletWound. Os resultados desta etapa serão utilizado para análise de dados deste trabalho.

Os participantes foram abordados pela pesquisadora e solicitado o consentimento voluntário para participação da pesquisa através do registro fotográfico da ferida crônica, com assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) em duas vias, entregando uma das vias ao participante. Foi aplicado também, aos participantes, o termo de consen-

timento para uso da imagem da lesão fotografada em apresentação audiovisual, publicações e divulgações acadêmicas, festivais e premiações nacionais e internacionais, assim como disponibilizá-las no banco de imagens resultante da pesquisa. Através da assinatura do Termo de Uso da Imagem da Ferida Crônica fotografada

Vale ressaltar que o grau de risco a que os participantes da pesquisa foram expostos pode ser considerado mínimo ou inexistente, pois a técnica de coleta da imagem da ferida crônica caracteriza-se por ser um procedimento não invasivo, indolor e rápido. A coleta da amostra laboratorial através de swab é um procedimento rotineiro na sala de curativo e é indolor e rápido também. A pesquisa ainda está em fase de desenvolvimento e diante disso a análise de todos os dados ainda estava em fase de conclusão, o resultado divulgado neste estudo é considerado um desfecho primário.

Na etapa de implementação do algoritmo, que está concluída, foram utilizadas a biblioteca OpenCV, a Linguagem de programação Python, a biblioteca Matplotlib e sua extensão NumPy, além disso, foi implementado um aplicativo mobile para apresentação dos resultados. O mesmo foi implementado com o framework Flutter. Após a finalização do algoritmo e do aplicativo, foi realizado um pré-processamento da imagem com a luz ultravioleta, leitura e interpretação dos laudos das coletas das amostras laboratoriais e consequentemente a identificação de um padrão colorimétrico visível ao olho humano. Os resultados analisados por meio de testagem de modelos estatísticos presentes nas bibliotecas utilizadas neste projeto, possibilitaram estimar com sucesso os padrões colorimétricos a partir das imagens geradas nos estudos. Diante disso, foi criado um método para avaliar a coloração das bactérias presentes nas lesões crônicas.

Posteriormente, serão selecionados 20 indivíduos adultos portadores de feridas crônicas com no mínimo seis semanas de evolução. As amostras que forem coletadas serão enviadas para análise pela equipe de bioquímica do Grupo de apoio à criança com câncer da Bahia (GACC-BA) e os laudos das amostras serão disponibilizados via sistema on-line para equipe de pesquisadores. Seguirão a mesma metodologia de aplicação do TCLE aplicado na etapa anterior.

V. SOLUÇÃO DESENVOLVIDA

Com a constante necessidade de avanços tecnológicos na área da biomedicina, em destaque, a de apoio diagnóstico, desenvolvemos um software que identifique qual bactéria está colonizando a ferida crônica, em tempo real, através de fotografia gerada por smartphone com uso da análise colorimétrica utilizando o OpenCV, Matplotlib, entre outras bibliotecas, além do framework flutter para a construção das telas do aplicativo.

Com os avanços tecnológicos dos smartphones que contam com wifi, excelentes câmeras megapixel, sensores integrado de ampliação fotográfica e ainda oferecem sistema operacional Android e iOS [23] que facilitam a criação de app voltados para funções específicas oferecendo soluções compactas, por-

táveis e robustas, optamos por escolher este equipamento para alcançar o objetivo proposto no trabalho.

O software desenvolvido recebeu o nome de **Violet Wound** que na tradução para o português significa feridas violetas, aludindo ao avanço no tratamento de feridas crônicas através da luz ultravioleta.

Para seu funcionamento, o ambiente utilizado para gerar a imagem fotográfica deverá estar isento de luz branca e o profissional deverá estar com o aplicativo baixado em seu smartphone. O mesmo deverá realizar a tarefa conforme descrito no manual de uso.

Como requisito para garantir a qualidade, eficiência e eficácia do laudo gerado, o profissional deverá manter o aparelho na distância de 8 a 10 cm da lesão do paciente e com um ângulo de 90 graus, conforme a figura abaixo.

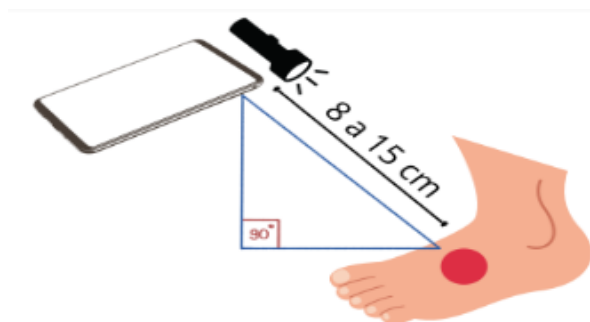


Figura 13: Posicionamento do aparelho para fotografar a ferida. Fonte: [2]

A. Passo a passo do Desenvolvimento do Violet Wound

Inicialmente foi realizado o levantamento de requisitos com o diagramas de Casos de Uso e o diagrama de classes e definidas as tecnologias que seriam utilizadas. Além disso, também foram coletadas as imagens de ferida que posteriormente seriam utilizadas no treinamento do algoritmo. A coleta foi realizada por Gisela R. Piloto [2] na Unidade de Saúde da Família no município de Salvador.

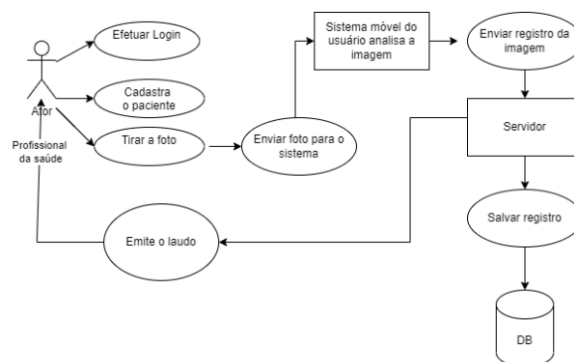


Figura 14: Diagrama de Casos de Uso Simplificado. Fonte: [2].

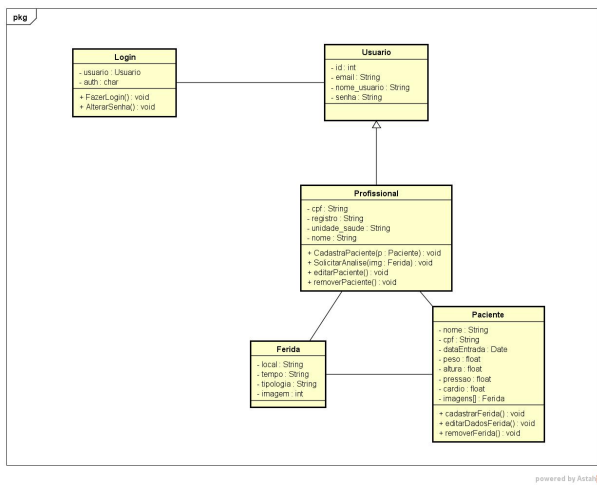


Figura 15: Diagrama de Classes para a aplicação Violet Wound. Fonte: Autor.

1) Etapa de Implementação

Após a modelagem, foi iniciada a etapa de implementação do algoritmo com o desenvolvimento da REST API, com os filtros para detecção das cores, também as rotas HTTP (POST, GET, PUT, DELETE). Nesta implementação foi utilizado o framework Flask para criação das rotas. Para o banco de dados foi utilizado o Google Firebase que é não-relacional (NoSQL) para armazenar os dados de usuários, imagens reportadas, dados de pacientes, entre outros. Para a publicação da API, como este projeto foi realizado em conjunto com a Computação Brasil/Fapex, a API está hospedada em servidor próprio deles, dispensando gastos com domínios ou publicações em ambientes gratuitos que podem ser inseguros.

2) Tecnologias Utilizadas

- **Firestore:** É uma plataforma desenvolvida pelo Google para criar aplicativos móveis e web. Era originalmente uma empresa independente fundada em 2011. Em 2014, o Google adquiriu a plataforma e agora é sua principal oferta para desenvolvimento de aplicativos. Com ele, é possível oferecer experiências de aplicativos mais ricas para o usuário, otimizando a performance e a experiência da plataforma.
- **Flutter:** É um framework (ferramenta) de desenvolvimento com foco multiplataforma em dispositivos móveis. Criado pela Google, é bastante utilizado no mercado e, mais recentemente, permite a criação de aplicações para desktop (Linux, Windows e macOS).
- **Python:** É uma linguagem de programação de alto nível, dinâmica, interpretada, modular, multiplataforma e orientada a objetos, o que possibilita maior controle e estabilidade de códigos para projetos de grandes proporções.
- **Flask Framework:** Lançado em 2010 e desenvolvido por Armin Ronacher, é um micro-framework destinado principalmente a pequenas aplicações com requisitos mais

simples, como por exemplo, a criação de um site com um sistema de rotas básico.

- **OpenCV:** É uma biblioteca de processamento de imagem de código aberto que permite a criação de aplicativos de visão computacional com suporte para diversos sistemas operacionais e linguagens de programação.
- **Git:** É um projeto de código aberto para controle de versão e com manutenção ativa desenvolvido em 2005 por Linus Torvalds, o famoso criador do kernel do sistema operacional Linux.
- **GitLab:** É uma plataforma de hospedagem de código-fonte. Elas permitem que profissionais de desenvolvimento contribuam em projetos privados ou abertos.
- **Android Studio:** É chamado de Ambiente de Desenvolvimento Integrado (IDE), um programa de computador que reúne as características e ferramentas de apoio para a criação de aplicativos para dispositivos móveis para Android. O software foi anunciado pela primeira vez no Google I/O em maio de 2013, e a primeira versão estável foi lançada em dezembro de 2014. O android Studio está disponível para plataformas de desktop Mac, Windows e Linux. Ele substituiu o Eclipse Android Development Tools (ADT) como o IDE principal para o desenvolvimento de aplicativos Android.
- **Matplotlib:** É uma biblioteca de software para criação de gráficos e visualizações de dados de modo estático, animado e interativo. Ela é uma alternativa viável de código aberto e plataforma cruzada ao MATLAB (Matrix Laboratory), uma plataforma de programação licenciada projetada para engenheiros e cientistas de dados. Fornece, a partir de kits de ferramentas de GUI (Graphical user interface) de uso geral, como Tkinter, wxPython, Qt ou GTK, uma API orientada a objetos para plotagem gráfica.

- **NumPy:** É uma biblioteca para a linguagem Python com funções para se trabalhar com computação numérica. Seu principal objeto é o vetor n-dimensional, ou ndarray. Um vetor n-dimensional também é conhecido pelo nome tensor. A principal característica do ndarray é que ele deve ser homogêneo, ou seja, diferentemente do objeto lista, todos os seus elementos devem ser do mesmo tipo.

B. Passo a passo - Fluxo de Funcionamento do Violet Wound

1) Tela de Login

A primeira página, ao entrar no aplicativo, o usuário é recebido pela tela de login, caso não possua um cadastro, o usuário deverá clicar em "Criar Conta", localizada na parte inferior da tela. Caso o usuário já se cadastrou, ao informar suas credenciais e clicar no botão Login, será redirecionado para a Tela Inicial do aplicativo (Figura 21).

2) Tela de Cadastro

Na tela de cadastro, o usuário deve informar seu nome completo, seu e-mail e sua senha. Ao clicar em "Criar", o usuário será redirecionado para Tela de Login, onde poderá realizar a entrada no aplicativo utilizando suas credenciais

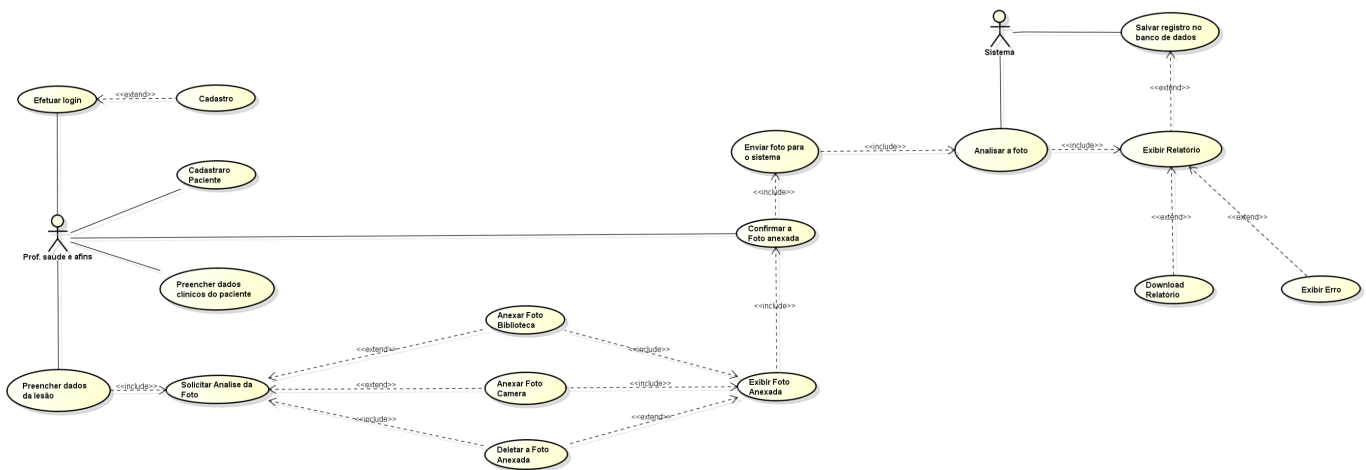
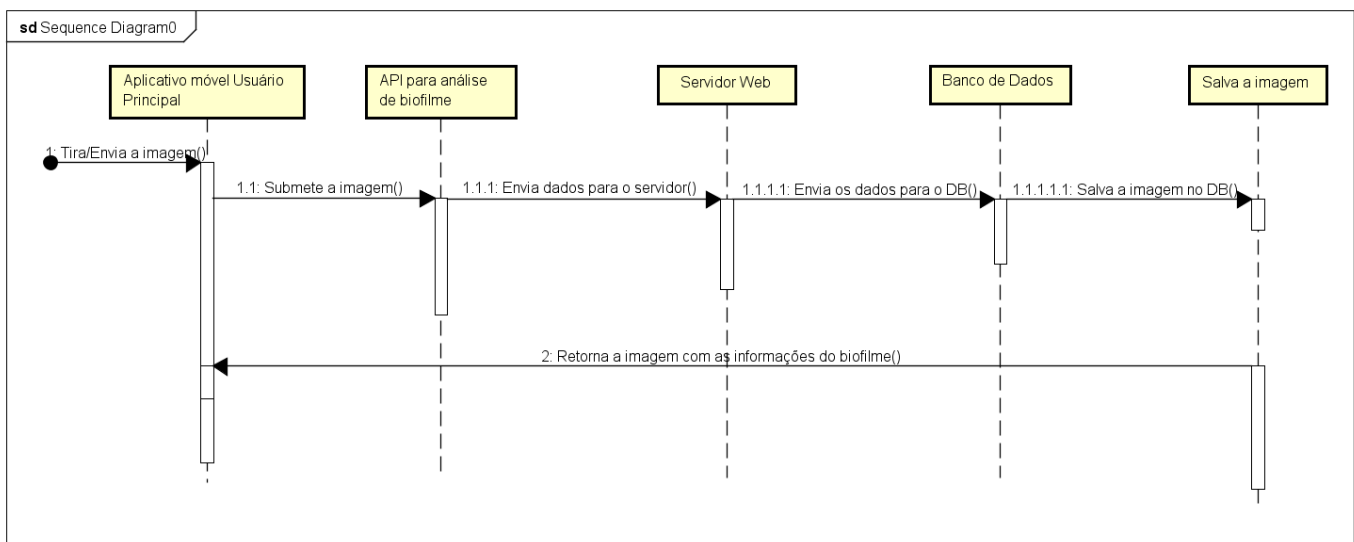


Figura 16: Diagrama de Casos de Uso Completo para a aplicação Violet Wound. Fonte: Autor.



powered by Astah

Figura 17: Diagrama de Sequência - Violet Wound. Fonte: Autor.

cadastradas (Figura 22).

3) Tela Inicial

A tela inicial apresenta os pacientes previamente adicionados, caso seja o primeiro acesso, é apresentada a mensagem "Não há pacientes aqui" e um botão para a adição de novos pacientes. Na parte superior, a tela apresenta o nome do aplicativo e as opções de atalho para configurações e saída (Figura 23).

4) Tela de Adição de Pacientes

Ao clicar no botão da funcionalidade "Adicionar Paciente", permite que o usuário preencha os dados do paciente em questão com o nome, CPF e data de nascimento, Peso, Altura, Pressão Arterial, HGT ² e Frequência Cardíaca. Após o preenchimento, o usuário deve clicar no botão "Atendimento", e será redirecionado novamente para a Tela Inicial, porém,

dessa vez, com o paciente já adicionado (Figura 24).

5) Tela do Paciente

Ao clicar para abrir o paciente criado, o usuário será redirecionado para a tela com todos os dados do paciente e alguns atalhos, são eles: Opção voltar para página anterior, também a opção de editar os dados do paciente, além de uma das principais funções do aplicativo que é a funcionalidade de adicionar uma imagem da ferida que será analisada (Figura 25).

2

A medição de glicemia capilar, também conhecida como HGT (Hemoglobina glicada), é um exame que mede a concentração de glicose (açúcar) no sangue. É utilizado para diagnosticar e monitorar o diabetes, bem como avaliar o controle glicêmico em pacientes diabéticos.

6) Tela Adicionar Ferida

Ao clicar no botão "Adicionar Ferida", o usuário será redirecionado para uma tela para poder informar os dados da ferida, com três campos. São eles: Local da ferida, tempo da ferida e a tipologia da ferida.³Após preencher os dados e clicar em "Tirar a Foto", o usuário terá a opção de tirar a foto com a câmera do dispositivo ou submeter uma imagem diretamente da galeria. Lembrando que todas as fotos submetidas devem estar com a presença da Luz Ultravioleta para que apareça a fluorescência da ferida. (Figura 28)

7) Tela de Análise da ferida

Nesta tela, a imagem é enviada para a nossa API REST⁴ onde são realizados os cálculos para a identificar os níveis de carga bacteriana (fluoresce em vermelho) e da bactéria *Pseudomonas* (fluoresce em Ciano). (Figura 27).

VI. RESULTADOS OBTIDOS

O principal foco desse estudo foi identificar em feridas crônicas, através do Violet Wound, os microrganismos que produzem *pioverdina*, um sideróforo específico produzido por várias bactérias do gênero *Pseudomonas*, incluindo a *P. aeruginosa spp*, em que, uma de suas características é a presença de uma fluorescência natural com capacidade de sintetizar pioverdina, uma substância fluorescente sob a luz UV, que é utilizada pelo Violet Wound para identificação da espécie e carga bacteriana.

A coleta dos materiais para utilização no aplicativo e a análise de dados ainda está em fase de andamento, no entanto, o algoritmo foi desenvolvido e treinado, avaliando as imagens das feridas, nas quais, ele identificou as bactérias através de colorimetria. A cor ciano corresponde a presença da bactéria *Pseudomonas*, a cor vermelha, a quantidade de carga bacteriana presente na ferida. Além disso, este trabalho focou nas bactérias que emitem *pioverdina*.

Como resultado, foi realizada a coleta de dados fotográficos em 3 pacientes acompanhados na Unidade de Saúde da Família no município de Salvador - Bahia. Os três são do sexo masculino, tinham idade de 36, 62 e 76 anos respectivamente e possuíam feridas existentes há mais de 6 semanas. Realizavam trocas programadas de curativo. As lesões tinham tamanho variados com presença de exsudato de aspecto purulento. Quanto as comorbidades presentes, dois pacientes possuíam diabetes mellitos do tipo 2 e um não possuía nenhuma comorbidade.

³

A tipologia da ferida refere-se à classificação ou categorização das feridas com base em suas características e propriedades. Essa classificação ajuda a entender a natureza da ferida, sua etiologia (causa), o estágio de cicatrização e a seleção adequada do tratamento.

⁴

API REST é uma interface de programação de aplicações que está em conformidade com as restrições do estilo de arquitetura REST. REST é a sigla para "Representational State Transfer". Essa arquitetura foi criada pelo cientista da computação Roy Fielding.

A. O primeiro caso:

Paciente jovem, 36 anos, cursou com uma fistula pilórica em região sacra. A mesma foi drenada através de procedimento cirurgico e evoluiu com infecção local. Após 12 dias de internamento, o paciente recebeu alta e foi encaminhado para acompanhamento na sala de curativo do PSF.



Figura 18: Fistula pilórica em região sacra, 2023. Fonte: [2].

Na primeira imagem é possível avaliar a ferida sob a iluminação da luz branca e na segunda a imagem já está submetida a luz ultravioleta. Para registrá-la, seguimos o passo a passo do aplicativo VioletWound e fizemos upload da imagem, onde possível verificar que o algoritmo consegue identificar a cor ciano da bactéria *Pseudomonas SSP* conforme o mesmo foi desenvolvido e conforme descreve as literaturas [4] e [8]. A imagem analisada está nos apêndices na Figura 30

B. O segundo caso:

Paciente do sexo masculino, 76 anos, vítima de infecção pulmonar, ficou internado na Unidade de Terapia Intensiva por 21 dias e foi submetido ao procedimento de drenagem toracica. Evoluiu com lesão em região hipocondrica no local da ferida e após alta hospitalar foi encaminhado para acompanhamento da lesão na atenção basica.

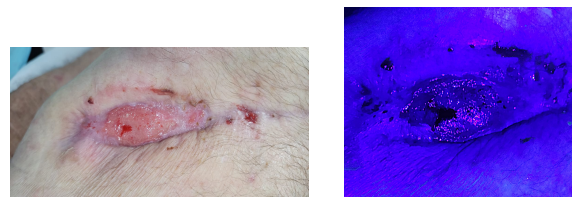


Figura 19: Ferida na Região hipocondrica, 2023. Fonte: [2].

Neste caso, a app não identifica a cor ciano, pois não tem e também não indica a presença da *Pseudomonas*. Mas é possível identificar alta carga bacteriana, pois a presença de iluminação vermelha indica a presença de porfirina e consequentemente de bactérias que sintetizam o Heme conforme

descrito no estudo de Laura Jones, 2021 [14]. O algoritmo foi desenvolvido para identificar porfirias em lesões que possuem a carga bacteriana acima de > 104 CFU/g [8] (31).

C. O terceiro caso:

O terceiro caso refere a um idoso, de 62 anos, portador de uma ulcera venosa crônica há 36 anos, sem acompanhamento na atenção básica. O mesmo informou que a lesão iniciou após um pedaço de madeira bater no pé e nunca ter evoluído para cicatrização.

Neste paciente foi realizado o procedimento de debridamento na lesão durante a troca de curativo. Gisela Rodrigues Piloto, mestranda, autora do projeto e enfermeira desta unidade, dirigiu esse procedimento, que é uma técnica que consiste na remoção de tecido inviável da ferida com o objetivo de prepara o leito da lesão para receber o curativo e consequentemente acelerar o processo de cicatrização [24]. Durante a realização do referido procedimento foi segregado amostras da remoção de parte da pele inviável e foi tirado fotos com o aplicativo 29, resultando na identificação da *Pseudomonas*, como é mostrado na imagem abaixo.

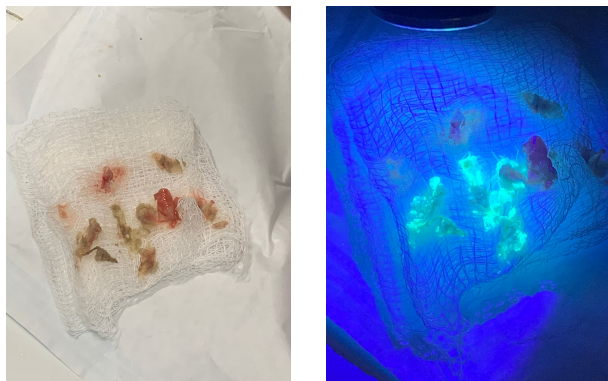


Figura 20: Raspagem da ferida realizada na USF - Barris, 2023. Fonte: [2].

VII. CONCLUSÃO

Apesar dos poucos testes realizados até o presente momento, a pesquisa demonstrou-se promissora e que há a possibilidade da implantação do aplicativo em larga escala. O algoritmo também apresentou um bom comportamento em relação as imagens submetidas com *Pseudomonas* spp e o cálculo da carga bacteriana. Baseados nestes estudos clínicos e nas várias literaturas bibliográficas citada neste estudo, é possível concluir que o algoritmo desenvolvido para o App Violet Wound será capaz de atender o objetivo principal deste projeto e, consequentemente, nortear e direcionar uma nova forma de identificação de bactéria em tempo real nas feridas crônicas. Vale destacar que o projeto ainda está em fase de evolução e a próxima etapa será a coleta de dados para envio laboratorial e comprovação da eficácia do estudo.

VIII. TRABALHOS FUTUROS

A área de reconhecimento de bactérias através da fluorescência deve crescer ainda mais principalmente pela quantidade de pesquisas que estão surgindo com esse tema, além do Moleculight [8] que é uma empresa que produz bastante nessa área.

Olhando para o futuro, é possível acreditar que os estudos gerados para a confecção do Violet Wound tenha grande possibilidade de mudar o curso nacional de identificação bacteriana em outros esperas que não sejam somente de lesão de pele, auxiliando diversos profissionais na condução de diagnósticos e tratamentos de patologias relacionadas á colonias bacterianas.

ACKNOWLEDGMENT

Gostaria de agradecer primeiramente a Deus pela minha vida e pela oportunidade de ultrapassar todos os obstáculos encontrados ao longo do curso.

Aos meus pais, meu irmão e minha noiva que foram os meus maiores incentivadores nos momentos difíceis e compreenderam minha ausência enquanto me dedicava à realização deste trabalho.

Aos professores do curso pelas correções, reprovações e ensinamentos que me permitiram refletir e apresentar um desempenho melhor no meu processo de formação profissional e formação como pessoa.

REFERÊNCIAS

- [1] G. K. S. Lima *et al.*, “Identificação de microrganismos para controle de infecção em feridas crônicas,” 2019.
- [2] G. R. PILOTO, “Software de reconhecimento de biofilme em feridas crônicas aplicando técnicas de super resolução e imunofluorescência,” 2022.
- [3] M. G. d. C. A. Campos, A. T. O. de Sousa, J. d. M. B. Vasconcelos, S. A. P. de Lucena, and S. K. de Assis Gomes, “Feridas complexas e estomias,” *João Pessoa: Ideia*, 2016.
- [4] Q. He, Z. Sun, Y. Li, W. Wang, and R. K. Wang, “Smartphone-enabled snapshot multispectral autofluorescence imaging and its application for bacteria assessments in skin and oral cavity,” *Optics and Lasers in Engineering*, vol. 140, p. 106546, 2021.
- [5] J. Benedetti, “Estrutura e função da pele,” 2021.
- [6] T. Gomes, N. V. Cade, R. V. Rohr, and M. M. Fejoli, “Caracterização das lesões crônicas e os fatores associados em moradores de um território de saúde em vitória, espírito santo,” *Revista Brasileira de Pesquisa em Saúde*, vol. 13, no. 1, 2011.
- [7] C. P. d. B. Vieira and T. M. E. d. Araújo, “Prevalência e fatores associados a feridas crônicas em idosos na atenção básica,” *Revista da Escola de Enfermagem da USP*, vol. 52, 2018.
- [8] M. Y. Rennie, D. Dunham, L. Lindvere-Teene, R. Raizman, R. Hill, and R. Linden, “Understanding real-time fluorescence signals from bacteria and wound tissues observed with the moleculight i: Xtm,” *Diagnostics*, vol. 9, no. 1, p. 22, 2019.
- [9] G. MAIA and V. A. PORFÍRIO, “O processo de detecção de bordas de canny: fundamentos, algoritmos e avaliação experimental,” 2002.
- [10] J. R. Lakowicz, *Principles of fluorescence spectroscopy*. Springer, 2006.
- [11] J.-M. Meyer, A. Neely, A. Stintzi, C. Georges, and I. A. Holder, “Pyoverdinin is essential for virulence of pseudomonas aeruginosa,” *Infection and immunity*, vol. 64, no. 2, pp. 518–523, 1996.
- [12] S. E. Gardner, S. L. Hillis, K. Heilmann, J. A. Segre, and E. A. Grice, “The neuropathic diabetic foot ulcer microbiome is associated with clinical factors,” *Diabetes*, vol. 62, no. 3, pp. 923–930, 2013.
- [13] F. S. Pessanha *et al.*, “Resistência antimicrobiana e tipagem molecular de pseudomonas aeruginosa isoladas de feridas crônicas,” 2015.
- [14] L. M. Jones, D. Dunham, M. Y. Rennie, J. Kirman, A. J. Lopez, K. C. Keim, W. Little, A. Gomez, J. Bourke, H. Ng *et al.*, “In vitro detection of porphyrin-producing wound bacteria with real-time fluorescence imaging,” *Future microbiology*, vol. 15, no. 5, pp. 319–332, 2020.
- [15] G. Bradski and A. Kaehler, *Learning OpenCV: Computer vision with the OpenCV library*. O’Reilly Media, Inc., 2008.
- [16] O. S. C. Vision, “Image filtering,” https://docs.opencv.org/4.x/d4/d86/group_imgproc_filter.html, acesso em: 04/04/2023.
- [17] Visioncompy, “Filtros de imagem com opencv,” <https://visioncompy.com/filtros-de-imagens-com-opencv/#:~:text=No%20filtro%20gaussianoBlur%20%20C3%A9%20espacial,%C3%A9%20considerado%20para%20o%20desfoque.,> 2021, acesso em: 04/04/2023.
- [18] M. Community, “Matplotlib 3.7.1 documentation,” <https://matplotlib.org/stable/index.html>, acesso em: 04/04/2023.
- [19] G. P. N. M. Pinto, “Biofilmes e feridas crônicas,” Ph.D. dissertation, 2016.
- [20] H. A. de Godoy, “Contribuições para a detecção de bactérias em ambientes hospitalares utilizando imunossensores eletroquímicos,” 2021.
- [21] Y. C. Wu, I. Kulbatski, P. J. Medeiros, A. Maeda, J. Bu, L. Xu, Y. Chen, and R. S. DaCosta, “Autofluorescence imaging device for real-time detection and tracking of pathogenic bacteria in a mouse skin wound model: preclinical feasibility studies,” *Journal of biomedical optics*, vol. 19, no. 8, pp. 085 002–085 002, 2014.
- [22] N. I. P. Machado, “Evidencialidade no português brasileiro com verbo ver: Estratégias construcionais com base no uso,” 2017.
- [23] S. Dutta, G. P. Saikia, D. J. Sarma, K. Gupta, P. Das, and P. Nath, “Protein, enzyme and carbohydrate quantification using smartphone through colorimetric digitization technique,” *Journal of biophotonics*, vol. 10, no. 5, pp. 623–633, 2017.
- [24] R. M. Bernardes, “Prevenção e manejo da lesão por pressão: Manejo da lesão por pressão,” http://ceerp.usp.br/feridascrônicas/recurso_educacional_lp_4_4.html, 2018, acesso em: 06/06/2023.
- [25] K. Yin, V. Pandian, K. Kadimisetty, X. Zhang, C. Ruiz, K. Cooper, and C. Liu, “Real-time colorimetric quantitative molecular detection of infectious diseases on smartphone-based diagnostic platform,” *Scientific reports*, vol. 10, no. 1, p. 9009, 2020.
- [26] Q. HE, Z. SUN, Y. LI, W. WANG, and R. K. WANG, “Multispectral imaging realized by unmodified smartphone.”
- [27] G. M. Bampi, “Ação bactericida (in vitro) de gerador de alta frequência sobre culturas bacterianas comumente encontradas em feridas crônicas,” 2016.
- [28] K. Rangel, F. O. Cabral, G. C. Lechuga, M. H. Villas-Bôas, V. Middlej, and S. G. De-Simone, “Effectiveness evaluation of a uv-c-photoinactivator against selected escape-e pathogens,” *International Journal of Environmental Research and Public Health*, vol. 19, no. 24, p. 16559, 2022.
- [29] E. L. Borges, H. M. d. Nascimento Filho, and J. F. Pires Júnior, “Prevalência de lesões crônicas de município da zona da mata mineira (brasil),” *Reme: Revista Mineira de Enfermagem*, vol. 22, 2018.
- [30] V. B. B. Gonçalves, S. A. N. Rabeh, and P. C. Nogueira, “Revisão-terapia tópica para ferida crônica: recomendações para a prática baseada em evidências,” *Estima-Brazilian Journal of Enterostomal Therapy*, vol. 12, no. 1, 2014.
- [31] G. de Almeida Nogueira, B. Guitton Renaud Baptista Oliveira, R. Ferreira Santana, and A. C. Dantas Cavalcanti, “Diagnósticos de enfermagem em pacientes com úlcera venosa crônica: estudo observacional,” *Revista Eletrônica de Enfermagem*, vol. 17, no. 2, 2015.
- [32] D. Cortez, J. Moraes, I. Ferreira, E. Silva, and F. Lanza, “Custos do tratamento de lesões cutâneas na atenção primária à saúde. estima,” *Braz J Enterostomal Ther*, vol. 17, p. e2419, 2019.
- [33] D. Monroe, “Looking for chinks in the armor of bacterial biofilms,” *PLoS biology*, vol. 5, no. 11, p. e307, 2007.

[]

APÊNDICES

A. Anexos para o Passo a Passo - Violet Wound

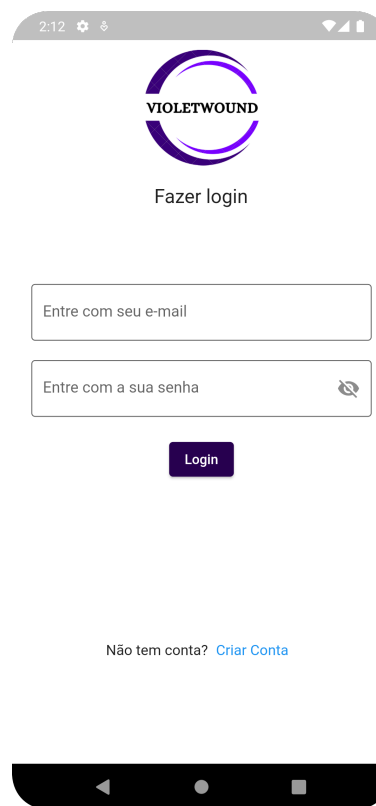


Figura 21: Tela de Login - Violet Wound, 2023. Fonte: Autor.

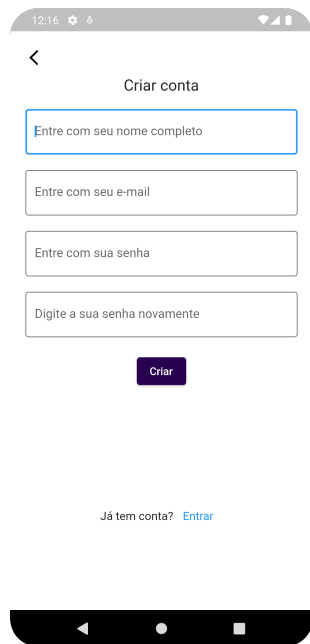


Figura 22: Tela de Cadastro - Violet Wound, 2023. Fonte: Autor.

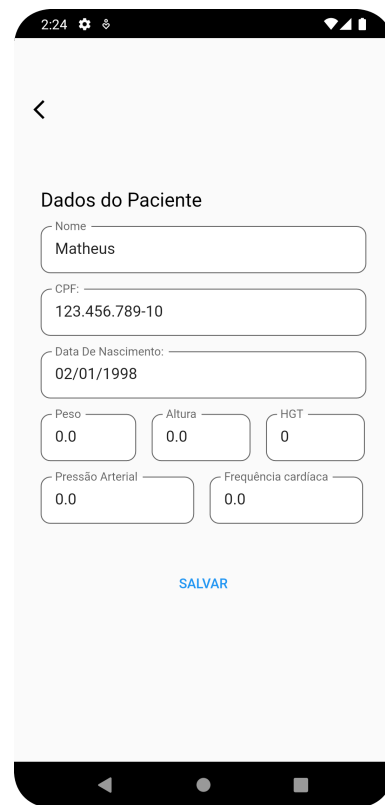


Figura 24: Tela Adicionar Paciente - Violet Wound, 2023. Fonte: Autor.

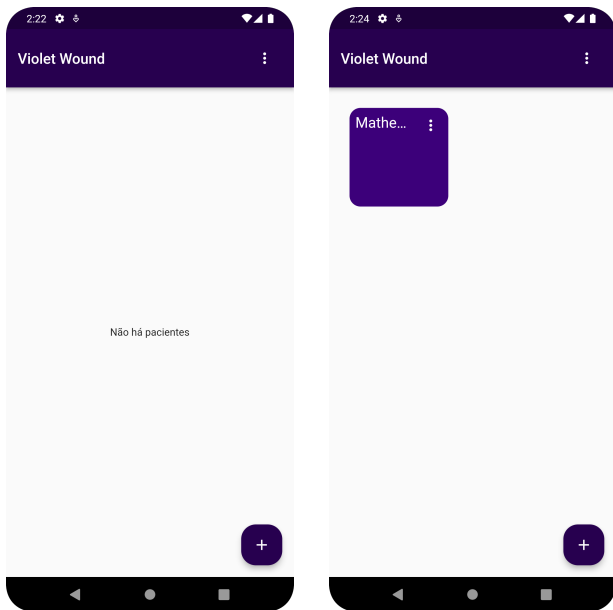


Figura 23: Tela Inicial - Violet Wound, 2023. Fonte: Autor.

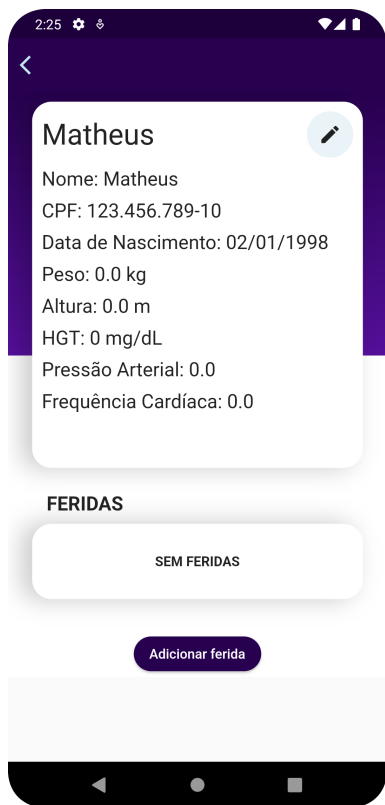


Figura 25: Tela de Dados do Paciente - Violet Wound, 2023.
Fonte: Autor.

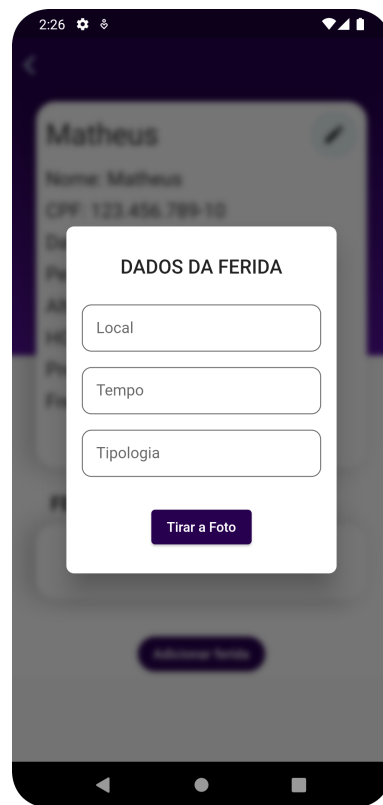


Figura 26: Tela de Dados da Ferida - Violet Wound, 2023.
Fonte: Autor.

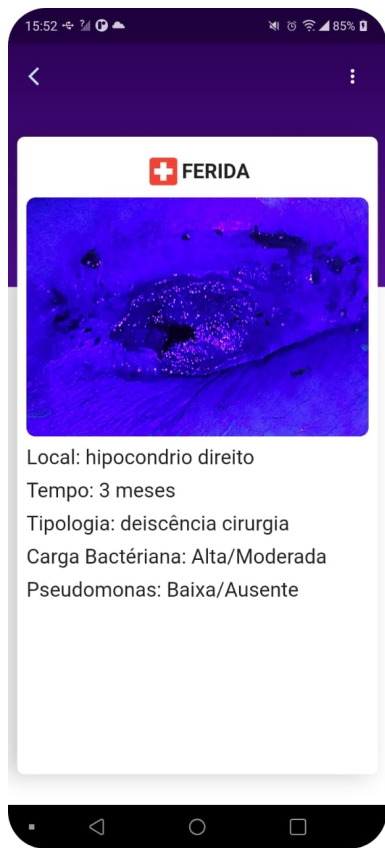


Figura 27: Tela de Análise da ferida - Violet Wound, 2023.
 Fonte: Autor.

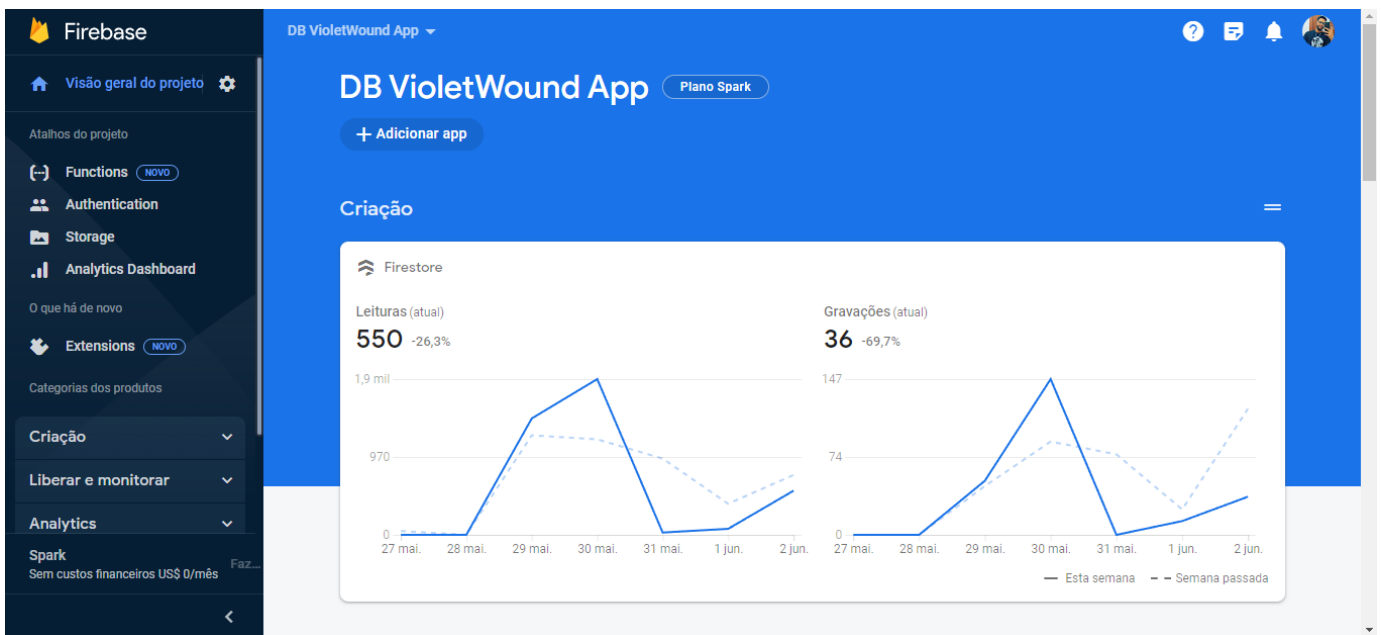


Figura 28: Firebase Analytics - Violet Wound. Fonte: Autor.

B. Anexos de Análise das Feridas dos Pacientes participantes da Pesquisa:

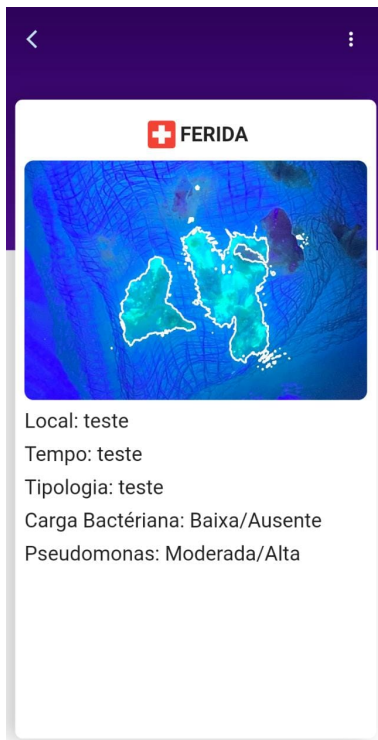


Figura 29: Análise da raspagem. Fonte: Autor.

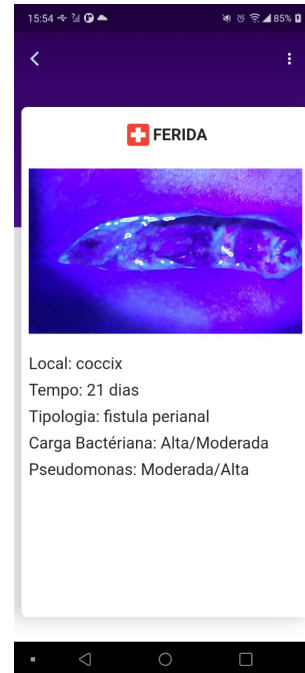


Figura 30: Análise da Ferida na região do Cóccix. Fonte: Autor.

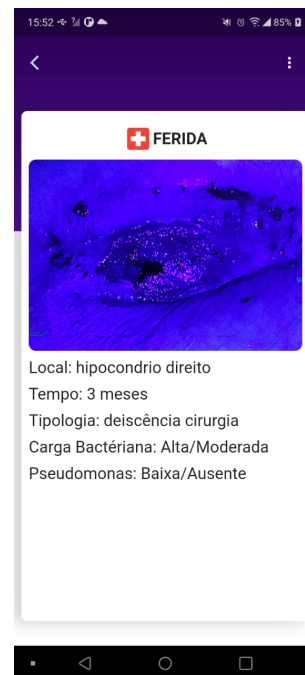


Figura 31: Análise da região do Hipocondrio direito. Fonte: Autor.