

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA  
UNIDAD XOCHIMILCO  
DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD  
DEPARTAMENTO DE PRODUCCIÓN AGRÍCOLA Y ANIMAL  
LICENCIATURA EN MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

REPORTE FINAL DE SERVICIO SOCIAL

***“IDENTIFICACIÓN DE ESTROS EN PERRAS POR MEDIO DE DEEP  
LEARNING (redes neuronales)”***

Prestadora de Servicio Social:  
Acevedo Charpenel Jeanine  
Matrícula: 2161700145

Asesores:  
Asesor Interno. Dr. José Ernesto Hernández Pichardo  
No. Económico.16587

Asesor Externo. M. en C. Gustavo Calderón Auza  
Cedula profesional.10157949

Lugar de realización:  
Laboratorio “Manejo de la Reproducción Animal” Universidad Autónoma  
Metropolitana, Unidad Xochimilco.

Fecha de inicio y de término:  
24 de junio al 24 diciembre de 2019.

Contenido	Paginas
1. RESUMEN.....	3
2. INTRODUCCION.....	3
3. MARCO TEORICO .....	4
3.1 Ciclo Estral.....	5
3.2 Inteligencia Artificial.....	5
3.3 Machine Learning.....	6
3.4 Deep Learning.....	8
3.4.1 Deep Learning en medicina veterinaria.....	10
3.5 Métricas de rendimiento para un clasificador.....	11
4. OBJETIVO GENERAL.....	13
5. METODOLOGIA UTILIZADA.....	13
5.1 Obtención De Citologías Vaginales .....	13
5.2 Tinción De Las Citologías Vaginales/ Identificación Celular.....	14
5.3 Base De Datos/Deep Learning.....	16
6. ACTIVIDADES REALIZADAS.....	18
7. OBJETIVOS Y METAS ALCANZADAS .....	18
8. RESULTADOS.....	19
9. DISCUSION.....	21
10. CONCLUSIONES.....	22
11. RECOMENDACIONES.....	22
12. LITERATURA CITADA .....	23

## 1. RESUMEN.

En el presente Servicio Social, se propuso la realización de un programa que facilitara determinar el tipo de células que se encuentran en un frotis vaginal; por medio de un programa de redes neuronales, para llegar a un diagnóstico más inmediato.

Se muestrearon 10 perras durante 5 semanas, obteniendo 50 muestras en total. Los frotis fueron teñidos mediante la tinción de Papanicolau, posteriormente clasificados según el tipo de células que se observaran en: proestro, estro, diestro y anestro. Se procedió a la toma de fotografías de 5 campos de cada uno de los frotis usando un microscopio invertido (objetivo de 40X), con cámara fotográfica integrada.

Se obtuvieron 250 imágenes, 230 imágenes fungieron como entrenadoras, de tal manera que el programa evaluara: formas, tamaños, color de cada una de las células mostradas, para así poder identificarlas y dar un conteo celular preciso. Las otras 20 imágenes fueron expuestas al programa para ponerlo a prueba. Una vez realizado el conteo que solo tarda 3 segundos, se prosiguió a dar nombre de la fase en que considera el número de células identificadas y así comparar con el diagnóstico manual realizado. El programa propuesto tuvo como resultado de exactitud un 81.2%, de acuerdo a la cantidad de imágenes obtenidas, lo que es satisfactorio. Para llegar a un aproximado del 100% se debe de calibrar el programa con una base de datos fotográficos más nutrida.

## 2. INTRODUCCION.

El perro siempre ha sido un pilar fundamental en las diferentes facetas de la vida del hombre. De allí parte la importancia de los perros en la sociedad, no solo para salir a pasear con ellos sino para otras actividades beneficiosas, como; búsqueda y rescate, animales de compañía médica, soporte emocional, caza, pastoreo y protección [Galina y Valencia, 2008].

El objetivo final de todo ser vivo es la perpetuación de la especie. Para lograrlo, deben cumplir con la función de reproducirse, que consiste en la capacidad de todo ser vivo para producir otro individuo semejante. Esta función se convierte en

un hecho biológico trascendente de gran importancia para la supervivencia de la especie, ya que perpetúa la vida más allá del individuo [Galina y Valencia, 2008].

La hembra canina en su vida reproductiva pasa por diferentes fases de actividad y descanso hormonal que se repiten cíclicamente. Es lo que se denomina como ciclo estral y consta de 4 estadios: proestro, estro, diestro y anestro. El primer estro aparece en las perras entre los 6 y los 10 meses de edad, y experimenta un nuevo ciclo ovárico aproximadamente cada 6 meses [Feldman *et al.*, 2007].

El intervalo interestral que es el periodo transcurrido desde el final del estro hasta el comienzo del siguiente proestro, puede variar desde los 3,5 meses hasta los 13 meses [Stornelli *et al.*, 2006], siendo estos valores extremos relacionados con hembras de baja o nula fertilidad, exceptuando algunas razas por ejemplo la Basenji que ciclan de forma rutinaria cada 12 meses [Monachesi, 2010].

La infertilidad canina puede derivar de múltiples etiologías, pero estadísticamente el rechazo de la monta o la mala sincronización ovulación-monta, representan el 80% aproximadamente de las fallas de la reproducción en esta especie. Si bien la inseminación artificial resuelve los rechazos de la monta, esta no será exitosa, si no se efectúa en el momento adecuado, siendo actualmente el frotis vaginal, la mejor manera de determinar ese momento [Kutzel, 2005].

Existe una nueva tecnología en la medicina capaz de diagnosticar patologías como lo haría un médico, pero en mucho menos tiempo, se realiza a través de una herramienta que utiliza macrodatos y un popular método de Inteligencia Artificial (AI) llamado Deep Learning o aprendizaje automático. El algoritmo no solo realiza un diagnóstico correcto, sino que, además, valora la gravedad de cada caso y puede llegar a recomendar el tratamiento más adecuado [Mathworks, 2019].

### 3. MARCO TEORICO

La interpretación de las citologías vaginales, es un proceso al que se le dedica una cantidad de tiempo considerable por su observación en el microscopio y la misma interpretación por parte del médico, misma interpretación que puede llegar a ser subjetiva y mal realizada, provocando pérdidas económicas para los propietarios.

Una tecnología emergente que podría proporcionar una solución a este y otros problemas similares en medicina veterinaria es la inteligencia artificial o, más específicamente, el Deep Learning (DL).

El Deep Learning ha llamado mucho la atención por su potencial utilidad en distintos tipos de aplicaciones en el “mundo real” ya que pueden aplicarse con éxito a grandes volúmenes de datos para su análisis y aplicación de conocimiento, así como a la realización de predicciones a partir de él. [Vinicki *et al.*, 2018].

### 3.1 Ciclo Estral

El estro de la perra es el testimonio de una fisiología sexual con manifestaciones cíclicas y las células observadas en la citología vaginal es el reflejo de todas estas variaciones, del funcionamiento y del estado de su aparato genital [Feldman *et al.*, 2007]. La fisiológica de las perras, suele ser variante, existen hembras en estro que aceptan la monta como en otras especies, algunas otras solo tendrán diapédesis en el proestro y no en el estro, mientras que otras perras presentarán diapédesis en el proestro y estro [Asa, 1998].

En la hembra canina se evalúa, además de su estado físico y peso, la conformación de la vulva y alteraciones o masas en las mamas, así como patrones de conducta, por lo que si se quiere conseguir una mayor tasa de fecundidad (que la hembra quede preñada) y fertilidad (que tenga muchos cachorros) se debe de usar métodos científicos [Sorribas, 2005].

Existen en la actualidad un sin fin de métodos diagnósticos, la mayoría de ellos injustificados y de alto costo, la citología escapa a ellos ya que es precisamente lo contrario a los anteriores, rápido, atraumático y de bajo costo [Esquivel, 1996].

### 3.2 Inteligencia Artificial

La IA es un subcampo de la informática que se creó en la década de 1960, y que trata de solucionar tareas que son sencillas para los seres humanos, pero difíciles para las computadoras. Se trata de un concepto bastante genérico e incluye todo tipo de tareas tales como la planificación, el reconocimiento de objetos y sonidos,

hablar, traducir, realizar actividades creativas (ejemplo crear obras de arte, o poesía), etc. [Ngiam *et al.*, 2011].

### 3.3 Machine Learning

El Machine Learning o aprendizaje automático se ocupa de un aspecto de la IA: a un problema de IA que se puede describir en términos discretos (por ejemplo; un conjunto de posibles acciones para un determinado objetivo, cuál es lo correcto), y disponiendo de una gran cantidad de información sobre el espacio, se determina cual es la acción "correcta", sin que el mecanismo de elección se encuentre previamente programado. Es decir, el sistema aprende de forma autónoma a tomar las decisiones. De forma práctica esto se traduce en una función en la que a partir de una entrada se obtiene una salida, por lo que el problema radica en construir un modelo de esta función matemática de forma automática. Por lo tanto, la principal diferencia radica en que un programa muy inteligente que tiene un comportamiento similar al humano puede ser IA, pero a menos que sus parámetros se aprendan automáticamente a partir de los datos, no es Machine Learning [Schmidhuber, 2015].

Aunque los términos se utilizan a veces como sinónimos, el Deep Learning y el Machine Learning no son lo mismo, siendo el primero un tipo particular del segundo, es decir, el Deep Learning es Machine Learning, pero existen técnicas de Machine Learning que no son Deep Learning [Ngiam *et al.*, 2011].

El Machine Learning, se describe a menudo como un tipo de técnicas de Inteligencia Artificial donde las computadoras aprenden a hacer algo sin ser programadas para ello. Por poner un ejemplo sencillo, se podría programar un ordenador para identificar a un animal como un gato escribiendo un código que indique al programa que elija "gato" cuando se ve una imagen concreta de un gato. Esto funcionaría si el único gato con el que tratase el programa es el de esa imagen, pero no lo haría si el programa tuviera que ver un montón de imágenes de diferentes animales, incluyendo una gran cantidad de gatos, y tuviera que identificar cuáles de ellas representan a un gato [Schmidhuber, 2015].

Los programas de Machine Learning actuarían en ese segundo caso, para lo cual pueden entrenarse de diferentes maneras. En una de ellas al programa se le muestra una gran cantidad de imágenes de diferentes animales, etiquetadas con el nombre del animal correspondiente. El programa aprenderá que los animales que se parecen a los gatos se llaman "gato" sin haber sido programado para llamar "gato" a una imagen concreta de un gato. Para ello el programa debe aprender combinaciones de características visuales que tienden a aparecer juntas, por ejemplo, la forma de los cuerpos y de las caras, haciendo a los gatos visualmente diferentes de otros animales. El programa aprende a asociar esta combinación de características distintivas con la palabra "gato", proceso de aprendizaje conocido como "construcción de un modelo de un gato".

Una vez que se ha construido el modelo de "gato", un programa de Machine Learning prueba dicho modelo al tratar de identificar a los gatos en un conjunto de imágenes que no ha visto antes. El programa mide el éxito obtenido en la identificación de los nuevos gatos y utiliza esta información para ajustar el modelo, de forma que la próxima vez obtendrá mejores resultados. Es decir, el nuevo modelo se prueba, se evalúa su rendimiento, y se realiza otro ajuste. Este proceso iterativo continúa hasta que el programa haya construido un modelo que pueda identificar gatos con un alto nivel de precisión [Schmidhuber, 2015].

Si el entrenamiento es "supervisado", en cada paso iterativo de prueba y perfeccionamiento del modelo se compara la etiqueta asignada a la foto con la "decisión" tomada por el programa, determinando si ha identificado el tipo de imagen correctamente. El entrenamiento supervisado es relativamente rápido y necesita relativamente pocos recursos computacionales. Sin embargo, necesita de la intervención humana para etiquetar las ingentes cantidades de información requeridas para el entrenamiento, lo cual supone un proceso lento y costoso [Ngiam *et al.*, 2011].

### 3.4 Deep Learning.

El Deep Learning lleva a cabo el proceso de Machine Learning usando una red neuronal artificial que se compone de un número de niveles jerárquicos. En el nivel inicial de la jerarquía la red aprende algo simple y luego envía esta información al siguiente nivel. El siguiente nivel toma esta información sencilla, la combina, compone una información algo un poco más compleja (imagen 1), y se lo pasa al tercer nivel, y así sucesivamente [Ngiam *et al.*, 2011].

Continuando con el ejemplo del gato, el nivel inicial de una red de Deep Learning podría utilizar las diferencias entre las zonas claras y oscuras de una imagen para saber dónde están los bordes de la imagen.

El nivel inicial pasa esta información al segundo nivel, que combina los bordes construyendo formas simples, como una línea diagonal o un ángulo recto. El tercer nivel combina las formas simples y obtiene objetos más complejos como óvalos o rectángulos. El siguiente nivel podría combinar los óvalos y rectángulos, formando barbas, patas o colas rudimentarias. El proceso continúa hasta que se alcanza el nivel superior en la jerarquía, en el cual la red aprende a identificar gatos [Ngiam *et al.*, 2011].

El Deep Learning ha llamado mucho la atención por su potencial utilidad en distintos tipos de aplicaciones en el “mundo real”, pueden aplicarse con éxito a grandes volúmenes de datos para el descubrimiento y aplicación de conocimiento, así como a la realización de predicciones a partir de él, principalmente debido a que obtiene tasas de éxito elevadas con entrenamiento “no supervisado”. En el

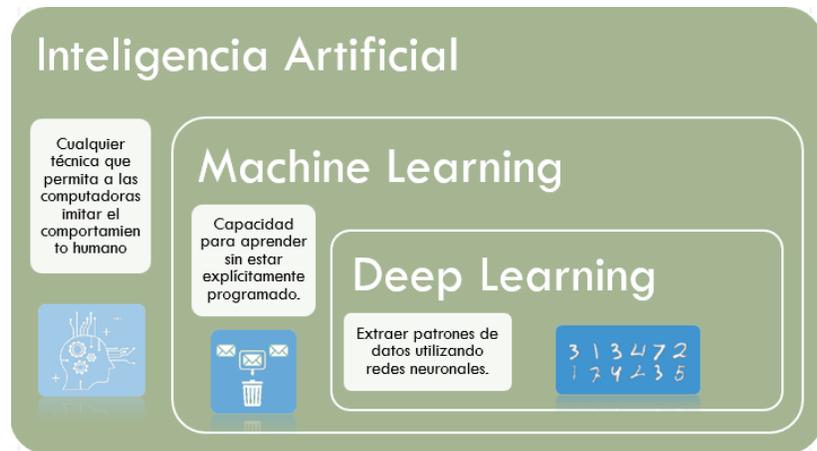


Imagen 1. Inteligencia Artificial, machine learning, Deep learning [Calderón *et. al.*, 2019].

caso del ejemplo, las redes de Deep Learning aprenderían a identificar gatos, aunque las imágenes no tuvieran la etiqueta "gato".

En la actualidad se está aplicando el Deep Learning en los siguientes rubros.

- Utilización de imágenes en lugar de palabras clave para buscar productos de una empresa, o artículos similares.
- Identificar marcas y logotipos de empresas en fotos publicadas en redes sociales.
- Monitorización en tiempo real de reacciones en canales online durante el lanzamiento de productos.
- Orientación de anuncios y predicción de las preferencias de los clientes.
- Identificación y seguimiento de los niveles de confianza de los clientes, sus opiniones y actitud en diferentes canales online y servicios de soporte automatizado al cliente.
- Identificación de clientes potenciales.
- Detección de fraudes, recomendaciones a clientes, gestión de relaciones con los clientes.
- Mejor comprensión de enfermedades, mutaciones de enfermedades y terapias genéticas.
- **Análisis de imágenes médicas, como radiografías y resonancias magnéticas, aumentando la precisión diagnóstica, en un menor tiempo y con un menor coste que los métodos tradicionales.**
- Exploración de la posibilidad de reutilización de fármacos ya conocidos y probados para su uso contra nuevas enfermedades.
- Detección, predicción y prevención de amenazas sofisticadas en tiempo real en el campo de la ciberseguridad.

- Identificación en textos de sentimientos positivos y negativos, temas y palabras clave.
- Localización de caras e identificación de emociones faciales.
- Reconocimiento de voz.
- Clasificación de vídeos.
- Y muchas más... [Ngiam *et al.*, 2011].

#### 3.4.1 Deep Learning en medicina veterinaria.

En algunos aspectos, la medicina veterinaria se puede comparar con la medicina humana. Muchas pruebas básicas de laboratorio siguen siendo demasiado caras para los dueños de mascotas o simplemente no son factibles debido a la falta de métodos automatizados y al gran número de especies diferentes.

Un ejemplo sería el recuento de glóbulos blancos (WBC). En medicina humana, este es uno de los análisis de sangre más básicos y se realiza casi cada vez que se extrae sangre. Por otro lado, en aves y reptiles, esta prueba de laboratorio debe hacerse manualmente (a diferencia de los humanos, los glóbulos rojos en aves y reptiles tienen un núcleo que interfiere con la mayoría de los métodos de conteo automatizados). Sin embargo, debido a la gran cantidad de especies diferentes y las diferencias morfológicas en sus glóbulos blancos, esta prueba solo puede ser realizada por especialistas en este campo y, por lo tanto, rara vez se usa en la práctica [Vinicki *et al.*, 2018].

Esta tecnología emergente podría proporcionar una solución a este y otros problemas similares en medicina veterinaria. En los últimos años, las aplicaciones de aprendizaje profundo se han utilizado para resolver una serie de problemas en las imágenes médicas, lo que arroja una mejora con respecto a los resultados anteriores de última generación [Arsovmngern *et al.*, 2019]. Hasta ahora, por nombrar solo algunos, esta técnica se ha utilizado en la detección de tumores, la cuantificación del flujo sanguíneo, el análisis de imágenes cerebrales y las imágenes de patología [Nguyen *et al.*, 2019]. En algunos casos, estas técnicas de

aprendizaje profundo incluso superaron a los humanos en estas tareas [Vinicki *et al.*, 2018].

Desafortunadamente, a pesar de su uso exitoso en la medicina humana, aún faltan aplicaciones de aprendizaje profundo en imágenes veterinarias. Se argumenta que esto debe cambiar, porque no solo el aprendizaje profundo puede permitir diagnósticos más precisos, más rápidos y menos costosos en medicina veterinaria, sino que, en gran parte gracias a las bibliotecas digitales y manuales, también puede ser implementado fácilmente por cada veterinario en el campo. [Nguyen *et al.*, 2019].

Actualmente ya hay estudios realizados por la Facultad de Medicina Veterinaria de Zagreb en Croacia, que decidieron implementar el aprendizaje profundo en una tarea del mundo real en medicina veterinaria que generalmente se realiza manualmente y que es el porcentaje de reticulocitos en gatos [Vinicki *et al.*, 2018].

### 3.5 Métricas de rendimiento para un clasificador.

En el campo de la inteligencia artificial una **matriz de confusión** es una herramienta que permite la visualización del desempeño de un algoritmo que se emplea en aprendizaje supervisado. Cada columna de la matriz representa el número de

predicciones de cada clase, mientras que cada fila representa a las instancias en la clase real (Imagen 2).

		Predicción	
		Positivos	Negativos
Observación	Positivos	Verdaderos Positivos (VP)	Falsos Negativos (FN)
	Negativos	Falsos Positivos (FP)	Verdaderos Negativos (VN)

Uno de los beneficios

- **VP** es la cantidad de *positivos* que fueron *clasificados correctamente* como positivos por el modelo.
- **VN** es la cantidad de *negativos* que fueron *clasificados correctamente* como negativos por el modelo.
- **FN** es la cantidad de *positivos* que fueron *clasificados incorrectamente* como negativos. **Error tipo 2** (Falsos Negativos)
- **FP** es la cantidad de *negativos* que fueron *clasificados incorrectamente* como positivos. **Error tipo 1** (Falsos positivos)

de las matrices de *Imagen 2. Ejemplificación de una matriz de confusión.*

confusión es que facilitan

ver si el sistema está confundiendo las diferentes clases o resultados de la clasificación [Calderón *et al.*, 2019].

### 1.) La Exactitud.

La Exactitud (en inglés, "Accuracy"), Se refiere a lo cerca que está el resultado de una medición del valor verdadero. En términos estadísticos, la exactitud está relacionada con el sesgo de una estimación. También se conoce como Verdadero Positivo (o "True positive rate"). Se representa por la proporción entre los positivos reales predichos por el algoritmo y todos los casos positivos.

En forma práctica la Exactitud es la cantidad de predicciones positivas que fueron correctas

$$\text{Exactitud} = (VP+VN) / (VP+FP+FN+VN)$$

### 2.) La Precisión.

La Precisión (en inglés "Precision"). Se refiere a la dispersión del conjunto de valores obtenidos a partir de mediciones repetidas de una magnitud. Cuanto menor es la dispersión mayor la precisión. Se representa por la proporción entre el número de predicciones correctas (tanto positivas como negativas) y el total de predicciones.

En forma práctica es el porcentaje de casos positivos detectados.

$$\text{Precisión} = VP / (VP+FP)$$

### 3.) La Sensibilidad.

También se conoce como Tasa de Verdaderos Positivos (True Positive Rate) o TP. Es la proporción de casos positivos que fueron correctamente identificadas por el algoritmo.

$$\text{Sensibilidad} = VP / (VP+FN)$$

### 4.) La Especificidad.

También conocida como la Tasa de Verdaderos Negativos, ("true negative rate") o TN. Se trata de los casos negativos que el algoritmo ha clasificado correctamente. Expresa lo bien que puede el modelo detectar esa clase.

Especificidad =  $VN/(VN+FP)$

#### 4. OBJETIVO GENERAL.

Realizar un programa que facilite la interpretación del ciclo estral de las perras, por medio de los frotis vaginales, realizando un algoritmo de clasificación de imágenes por medio de Deep Learning.

#### 5. METODOLOGIA UTILIZADA.

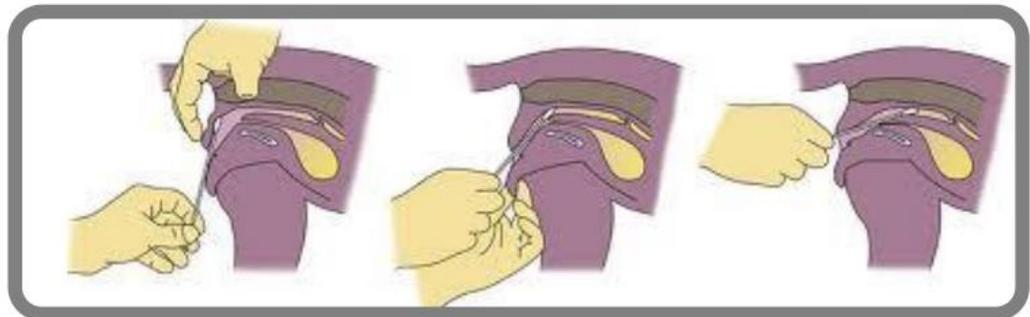
Se seleccionaron 10 perras sanas y con su aparato reproductor completo para el estudio, que fueron proporcionadas por la Brigada de Protección Animal, ubicada en Av. Manuel Ávila Camacho Anillo Periférico S/N, Ciénega Grande, Xochimilco, CDMX. Se les realizó un examen físico, para detectar alguna alteración de sus órganos genitales a través de la existencia de descargas vaginales sanguinolentas o purulentas.

##### 5.1 Obtención De Citologías Vaginales

Las hembras seleccionadas fueron sujetadas con la ayuda de 2 asistentes, una para inmovilizar a la perra y evitar que se moviera y otra sosteniendo la cola para realizar el muestreo. Se le realizó la asepsia de los labios vulvares con algodón humedecido con agua oxigenada o solución iodada.

Las citologías vaginales se obtuvieron introduciendo un hisopo estéril semihúmedos en la comisura dorsal de los labios vulvares de las perras, hasta

atravesar el cingulum (unión vestíbulo - vaginal) para llegar a



la porción caudal de la vagina, en la

*Imagen 3* Secuencia del correcto hisopado de la vagina en las perras.

Nótese que el hisopo contacta la pared caudal dorsal de la vagina.

[Sorribas, 2005].

cual, mediante movimientos circulares del hisopo, se colectó material celular

(Imagen 3). Hecho esto, se retiró el hisopo y se realizó un frotis por rodamiento en un portaobjetos que se fijó con alcohol al 95% durante 10 minutos [Hernández *et al.*, 2008], posteriormente se identificó cada frotis con los nombres de las perras.

## 5.2 Tinción De Las Citologías Vaginales/ Identificación Celular

La tinción de las muestras se realizó con la tinción de Papanicolau, la cual consiste en sumergir cada frotis sucesivamente en alcohol 80%, alcohol 70%, alcohol 50% y agua, 1 minuto en cada líquido. (Imagen 4) A continuación,



Imagen 4. Ejemplo de sumergimiento de frotis

sumergir en Hematoxilina de Harris durante 5 minutos. Posteriormente se lava en agua corriente y se pasan las muestras por alcoholes de grado sucesivo, 50%, 70%, 80% y 96%. Se tiñen con Solución de Papanicolaou

OG 6 durante 10 minutos. Se enjuaga el exceso de colorante en Etanol 96%. Se procede a teñir con Solución de Papanicolaou EA 50 durante otros 10 minutos. Finalmente se lavan en Etanol 96% v/v, Etanol absoluto y se sumergen en Xileno, mezcla de isómeros y Etanol absoluto, Se realiza un aclarado final con Xileno. Para finalmente montar con medio de montaje; resina epoxica y cubre objetos y se realiza el análisis [Hernández, *et al.*, en 2008].

Células	Proestro %	Estro %	Diestro %	Anestro %
Anucleadas	10	90	30	10
Superficiales	30	8	20	10
Intermedias	50	2	20	20
Parabasaes	10	0	30	60
Neutrófilos	±	-	+	++
Eritrocitos	++	+	-	-

Imagen 5. Ejemplo de porcentajes celulares para cada etapa del ciclo estral canideo. [Hernández, *et al.*, 2008].

Una vez teñidas las citologías vaginales, se evaluaron los frotis por medio de la identificación y conteo de 100 células presentes, para así conocer el porcentaje de: parabasales, intermedias, superficiales y escamosas, así como neutrófilos y eritrocitos, (Imagen 7) presentes en cada frotis, de tal manera que según el porcentaje presente se clasifiquen en: proestro, estro, diestro, anestro. (Imagen 5).

Cada uno de los frotis fueron fotografiados en 5 campos, con un microscopio invertido con cámara fotográfica integrada, con el objetivo a 40X, sin zoom, y con el obturador abierto a 2.6.(Imagen 6)



Imagen 7. Microscopio invertido con cámara fotográfica integrada, ajustado a 2.6 de apertura, objetivo 40X

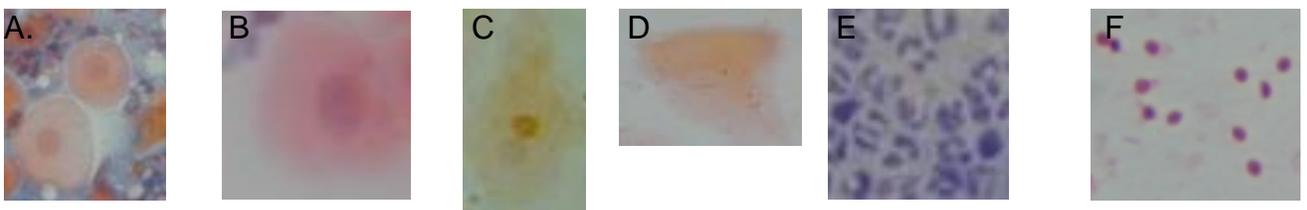


Imagen 8. Tipos celulares epiteliales a reconocer durante un hisopado vaginal; A). Células parabasales, B). Células Superficiales con núcleo picnótico, C). Células intermedias, D). Células anucleadas (escamosas), E. Neutrófilos, F). Hematíes. [Fuente. Propia ,2019].

Se creó una base de datos con las imágenes de las fotografías tomadas de las citologías vaginales (Imagen 8).

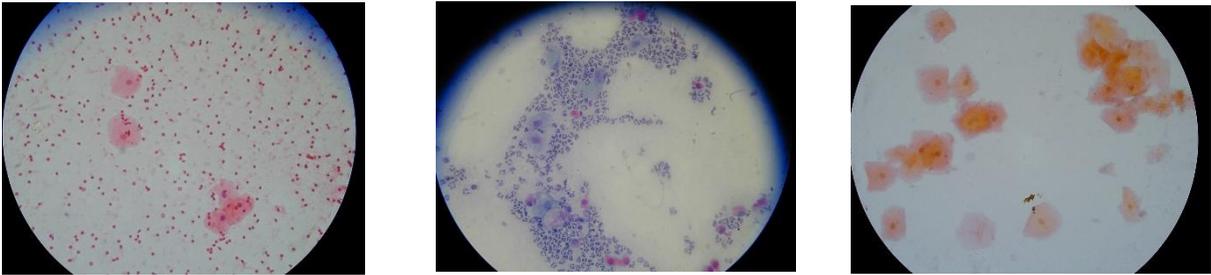


Imagen 9. Ejemplo de imágenes obtenidas con el objetivo a 40X.

### 5.3 Base De Datos/Deep Learning.

El primer paso fue crear la base de datos a partir de las fotografías tomadas, que consta de 250 imágenes, en formato jpg, de tamaño 1600 x 1200 pixeles. (Imagen 9)

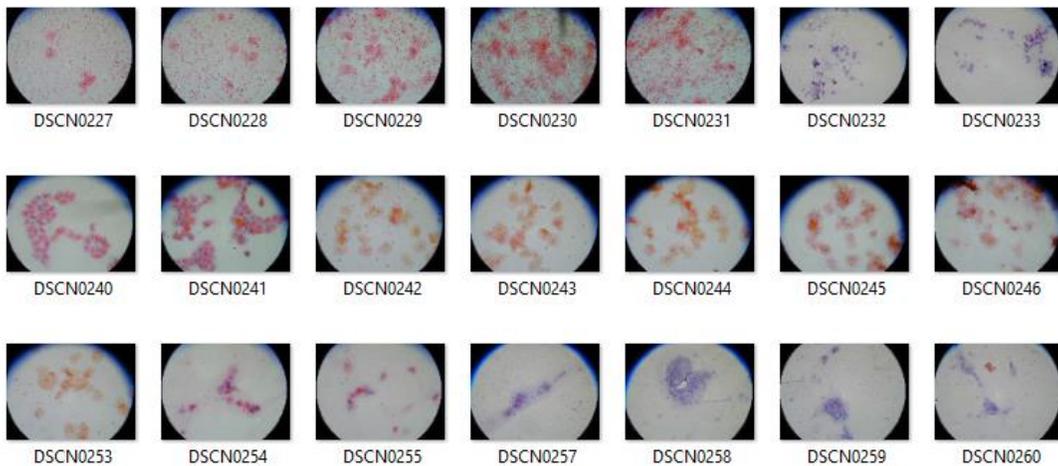


Imagen 10. Ejemplos de algunas imágenes de la base de datos creada

El siguiente paso fue etiquetar manualmente los tipos de células en cada una de las imágenes de la base de datos, esto con ayuda del software de MatLab. (Imagen 10)

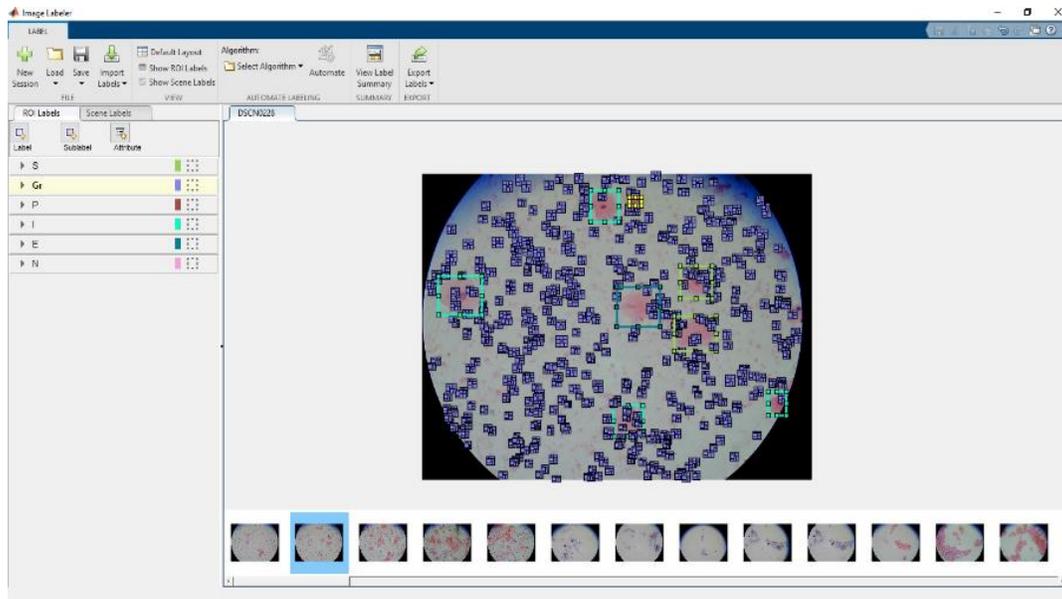


Imagen 11. Captura de pantalla MatLab del etiquetado manual de las imágenes de la base de datos

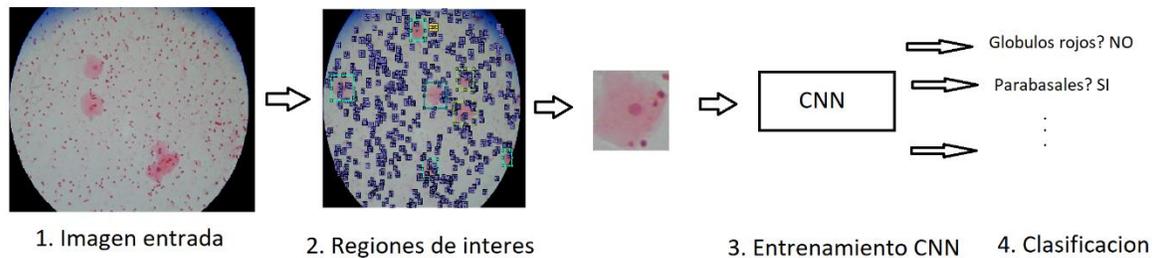
Para poder entrenar una red neuronal convolucional CNN por sus siglas en inglés (Convolutional neural network), para clasificar los tipos de células, se necesitaron las imágenes y sus etiquetas de cada célula en cada imagen (Tabla 1), que es lo que se realizó en el paso anterior. En la siguiente tabla se muestra el nombre de la etiqueta que le dimos a cada tipo de célula.

Etiqueta	Descripción
'P'	Parabasaes
'I'	Intermedias
'S'	Superficiales con núcleos picnoticos
'E'	Escamosas
'Gr'	Glóbulos Rojos
'N'	Neutrófilos

Tabla 1. Etiquetas y su descripción utilizadas para el entrenamiento del algoritmo.

La red CNN aprende de la siguiente forma, de una imagen de entrada extrae las regiones de interés, en este caso las células que etiquetamos en cada imagen, después todas esas regiones de interés pasan por la red CNN que es la que

aprende características únicas de cada tipo de célula y aprende estas características de forma automática las cuales le permitirán clasificar que tipo de célula hay en cada imagen. Con toda la información que tenemos se entrenó la red y obtuvimos buenos resultados que se mostraran en la sección de resultados. (Imagen 11)



*Imagen 12. Pasos de como entrena una red CNN para la detección de tipos de células*

## 6. ACTIVIDADES REALIZADAS

- Se recolectaron 50 citologías vaginales de 10 perras alojadas en el albergue de la Brigada de Protección Animal. Realizando 5 visitas/muestreos durante 5 semanas para así dar seguimiento a las perras que pudieran entrar en estro.
- Se realizó la tinción de Papanicolaou a cada una de las muestras obtenidas y se agruparon de acuerdo a la fase del ciclo que se encuentren.
- Se fotografió cada una de las muestras, con el microscopio invertido con cámara fotográfica integrada, en total se obtuvieron 250 imágenes.
- Se agregaron las imágenes para entrenar el algoritmo de clasificación, seleccionando manualmente cada tipo de células presentes en el frotis, indicando que tipo de célula es.
- Se dispuso a probar el algoritmo de reconocimiento celular.
- Se obtuvo la métrica de rendimiento.

## 7. OBJETIVOS Y METAS ALCANZADAS

El objetivo de este Servicio Social fue la creación de un programa que ayude, agilizando en 3 segundos el proceso de detección de manera automática la cantidad y tipo de células presentes en un frotis de citología vaginal canina, lo cual

se logró realizar en un 100%, después de haber realizado las citologías vaginales de perras enteras, analizándolas por medio de la tinción de Papanicolaou, para posteriormente tomar fotografías de la mismas para alimentar el programa. No se realizaron las pruebas para determinar niveles de progesterona en sangre de las perras a las que se tomaron las muestras de citología vaginal, debido a la dificultad de poderse realizar en algún centro de investigación y a lo caro de esta prueba para realizarse en forma particular.

## 8. RESULTADOS.

Utilizando un modelo de CNN para nuestro algoritmo, el cual fue entrenado con las imágenes que etiquetamos y ajustándolo con solo 250 imágenes que tiene nuestra base de datos, el modelo clasificó con una precisión del 81.7% los tipos de células en las imágenes tomadas. Para complementar el algoritmo, se realizó el conteo del tipo de células que hay en cada imagen una vez que fueron detectadas y clasificadas. (Imagen 12)

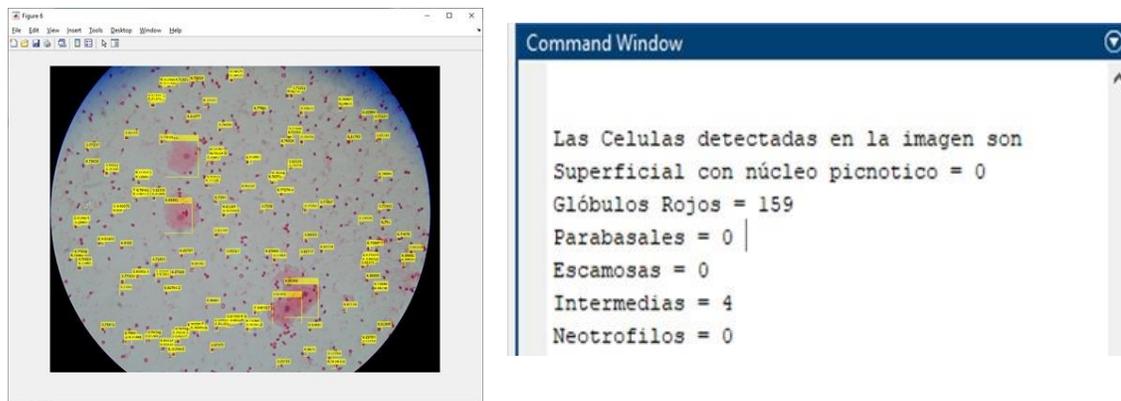


Imagen 13. Visualización de las predicciones del modelo, una imagen prueba y el resultado del conteo de tipo de células de la imagen

A cada frotis se le tomaron de 3 a 6 fotografías de diferentes campos, dándonos como resultado un estimado de las células visibles, diferenciándolas por tipo. Es así como en la siguiente imagen (Imagen 13) se muestra el conteo de células realizado por el programa y el diagnóstico manual realizado previamente.

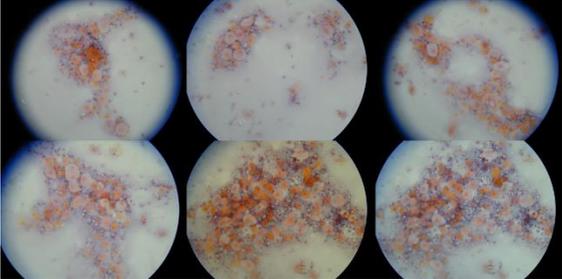
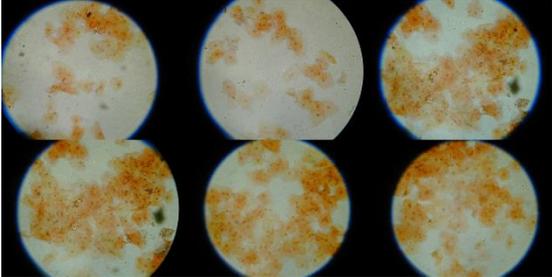
Imágenes por frotis	Diagnóstico de la red neuronal entrenada	Diagnostico por conteo de células manual
	<p>El total de Celulas detectadas en la imagen son:</p> <p>Superficial con núcleo picnotico = 0 -&gt;&gt;&gt;0.00%            Parabasales = 54 -&gt;&gt;&gt;76.06%            Escamosas = 1 -&gt;&gt;&gt;1.41%            Intermedias = 16 -&gt;&gt;&gt;22.54%            Glóbulos Rojos = 0            Neutrofilos = 30</p> <p>Esta citologia corresponde a un ANESTRO</p>	Anestro
	<p>El total de Celulas detectadas en la imagen son:</p> <p>Superficial con núcleo picnotico = 17 -&gt;&gt;&gt;17.00%            Parabasales = 3 -&gt;&gt;&gt;3.00%            Escamosas = 71 -&gt;&gt;&gt;71.00%            Intermedias = 9 -&gt;&gt;&gt;9.00%            Glóbulos Rojos = 0            Neutrofilos = 0</p> <p>Esta citologia corresponde a un ESTRO</p>	Estro

Imagen 15 Demostración del conteo celular para una citología previamente diagnosticada

En la siguiente tabla se muestra la métrica de rendimiento del programa realizado.

Tabla 2. Métricas de evaluación del rendimiento del sistema propuesto.

<b>Exactitud</b>	<b>81.25%</b>
<b>Precisión</b>	<b>83.33%</b>
<b>Sensibilidad</b>	<b>90.91%</b>
<b>Especificidad</b>	<b>60.00%</b>

## 9. DISCUSION

La muestra de programa realizada, dio un 81.2% de exactitud ya que para poder alcanzar un aproximado de 100%, se requieren más imágenes para sensibilizar el programa a las diferentes características que se encuentran en cada una de las células de los frotis vaginales. La cantidad de imágenes requerida pueden llegar a ser de 1000, 1500, 2000 o más ya que mientras más imágenes se presenten al programa, este podrá adquirir la capacidad de reconocimiento más especializado; de la misma manera con los porcentajes de precisión; que fue de 83.3%, que nos indica que no fueron pocas las imágenes presentadas para poder tener resultados, pero si insuficientes, ya que en 2012 se presentó un modelo de aprendizaje basado en CNNs, en el concurso anual de ILSVRC (Large Scale Visual Recognition Challenge), en donde se emplearon un subconjunto de datos de ImageNet, (una base de datos compuesta por cientos de miles de imágenes), así fue como Alex Krizhevsky *et al.* (2012), consiguieron arrojar los mejores resultados publicados de métricas de rendimiento, cerca de un 95% de precisión.

La sensibilidad fue del 90.91% ya que hubo uniformidad en los frotis presentados, pero para poder llegar al casi 100%, el sistema deberá tener más información para que exista mayor divergencia, como demostros Alex Krizhevsky en su estudio del 2012.

El 60% de especificidad indica que el programa aun no es capaz de diferenciar el tipo de células en su totalidad, por lo que se requiere más imágenes para alimentar el sistema, mismo caso que se ha demostrado en estudios con más imágenes en juego.

Además de lo anterior la calidad de la imagen también es un factor que influye en los resultados anteriores, ya que todas las imágenes fueron capturadas con la misma cámara, la cual se procuró que las imágenes fueran sin zoom y con la apertura del obturador a 2.6, con el objetivo a 40X del microscopio, ya que de usarse a 20X las células son casi imperceptibles, caso contrario si se usará un objetivo más alto, solo se vería una célula a la vez. La calidad de la imagen es un factor relevante para la creación del sistema o sistemas que se quieran elaborar

con Deep Learning, ya que la nitidez de está facilita la detección de la imagen. (Krizhevsky et al, 2012).

El evaluar con el Deep learning, en comparación con el método manual, es más objetivo y más rápido para contar las células de las imágenes, realizando en menos de 3 segundos el conteo de todo tipo de células que hay en la imagen.

## 10. CONCLUSIONES

Los procedimientos de evaluación manual, pese a la precisión que se puede garantizar gracias a la clasificación de las muestras por parte de un médico experto, son incapaces de evolucionar y aprender de esta retroalimentación recibida, además de ser costoso para el personal médico al tener que realizar un estudio riguroso de los parámetros en la diferenciación de cada tipo de célula vaginal.

La realización de un algoritmo de clasificación de imágenes por medio de Deep Learning, puede ser una herramienta para diagnosticar el estro en perras, a partir de fotografías obtenidas de frotis de citologías vaginales de perras. El cual se puede realizar en un tiempo mínimo (3 segundos), en comparación al conteo manual de células (15 minutos).

## 11. RECOMENDACIONES.

Este método se puede mejorar si se recopilan y clasifiquen más imágenes de citologías vaginales de perras, lo que aumentara el tamaño del conjunto de datos y se desarrollan mejores algoritmos de aprendizaje.

## 12. LITERATURA CITADA

1. Arsomngern, P., Numcharoenpinij, N., Piriataravet, J., Teerapan, W., Hinthong, W., Phunchongharn, P. (2019). Computer-Aided Diagnosis for Lung Lesion in Companion Animals from X-ray Images Using Deep Learning Techniques. In 2019 IEEE 10th International Conference on Awareness Science and Technology (iCAST) :(pp. 1-6). IEEE.
2. Asa, C. S., Valdespino, C. (1998). Canid reproductive biology: an integration of proximate mechanisms and ultimate causes. *American Zoologist*, 38(1): 251-259.
3. Calderón, G., Calderón, Pérez, A., Pérez, Nakano, M., Toscano, Nakano, K., Toscano, Quiroz, H. Quiroz., Pérez, H. (2019). Pérez, "CNN-Based Quality Assessment for Retinal Image Captured by Wide Field of View Non-Mydriatic Fundus Camera," 2019. 42<sup>nd</sup> International Conference on Telecommunications and Signal Processing (TSP), Budapest, Hungary, 2019: 282-285.
4. Esquivel, Carlos (1996), Ciclo estral de la perra y su seguimiento a través de la citología vaginal exfoliativa, Curso de Actualización en Reproducción en caninos AMVEPE Laguna y AMMVEPE.12/04/1996
5. Galina C, Valencia J. (2008). Reproducción de animales domésticos. México D.F. 3<sup>a</sup>. Ed. Ed. Limusa, (2008).
6. Hernández, P.J.E., Fernández, R.F., Cortés, S. (2008). Fundamento Teórico Prácticos De La Citología Exfoliativa En Medicina Veterinaria, Manual # 5, CBS. 5, UAM Xochimilco.
7. Krizhevsky, A., Sutskever, I., Hinton, G.E. (2012), Imagenet classification with deep convolutional neural networks. In *Advances in neural information processing systems* : 1097–1105.
8. Kutzler, M.A. (2005). Induction and synchronization of estrus in dogs. *Theriogenology*, 64: 766-775.

9. Mathworks Inc. (Julio, 2019). <https://la.mathworks.com/discovery/deep-learning.html>
10. Monachesi, M. (2010). El ciclo sexual de la perra y la llegada a la pubertad., Mascotas Foyel., Facultad de Veterinaria de la Universidad de Buenos Aires. (2010). Disponible en: [http://www.foyel.com/paginas/2010/02/1252/el\\_ciclo\\_sexual\\_de\\_la\\_perra\\_y\\_la\\_llegada\\_a\\_la\\_pubertad/](http://www.foyel.com/paginas/2010/02/1252/el_ciclo_sexual_de_la_perra_y_la_llegada_a_la_pubertad/)
11. Ngiam, J., Khosla, A., Kim, M., Nam, J., Lee, H., Ng, A.Y. (2011). Multimodal deep learning. In Proceedings of the 28th international conference on machine learning (ICML-11): 689-696.
12. Nguyen, A., Pierre J.r, Y., Snapp-Childs, W., Birch, S. (07-28-2019). Visualizing veterinary medical data sets with Jetstream. Indiana University. USA.
13. Schmidhuber, J. (2015). Deep learning in neural networks: An overview. Neural networks, 61: 85-117.
14. Sorribas, C. Atlas de reproducción canina. (2005). Ed. Inter-Médica. Buenos Aires. Argentina.
15. Stornelli, M.C., Savignone, C.A., Jiménez, F., Tittarelli, C.M., De La Sota, R.L., Stornelli, M.A. (2006). Particularidades Del Ciclo Estral Canino, Aspectos Clínicos Y Endocrinológicos. Revista Veterinaria Cuyana. 1(2): 26-35.
16. Vinicki, K., Ferrari, P., Belic, M., Turk, R. (2018). Using Convolutional Neural Networks for Determining Reticulocyte Percentage in Cats, Cornell University. Ithaca, New York.