

PUCRS

ESCOLA POLITÉCNICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA ELÉTRICA
MESTRADO EM ENGENHARIA ELÉTRICA

INGRID GRADASCHI LAMADRID

**DESENVOLVIMENTO DE UM SISTEMA DE ENTREGA CONTROLADA
DE ESTÍMULO OLFATIVO**

Porto Alegre

2020

PÓS-GRADUAÇÃO - *STRICTO SENSU*



Pontifícia Universidade Católica
do Rio Grande do Sul

INGRID GRADASCHI LAMADRID

**DESENVOLVIMENTO DE UM SISTEMA DE
ENTREGA CONTROLADA DE ESTÍMULO
OLFATIVO**

Porto Alegre - RS, Brasil

2020

INGRID GRADASCHI LAMADRID

DESENVOLVIMENTO DE UM SISTEMA DE ENTREGA CONTROLADA DE ESTÍMULO OLFATIVO

Dissertação apresentada como requisito para a obtenção do grau de Mestre pelo Programa de Pós-Graduação em Engenharia Elétrica da Escola Politécnica da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul.

Área de Concentração: Sinais , Sistemas e Tecnologia da Informação.

Linha de Pesquisa: Engenharia Biomédica.

Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul

Escola Politécnica

Programa de Pós-Graduação em Engenharia Elétrica

Orientador: Prof. Dr. Fabian Luis Vargas

Porto Alegre - RS, Brasil

2020

Ficha Catalográfica

L213d Lamadrid, Ingrid Gradaschi

Desenvolvimento de um sistema de entrega controlada de estímulo olfativo / Ingrid Gradaschi Lamadrid . – 2020.

84.

Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Engenharia Elétrica, PUCRS.

Orientador: Prof. Dr. Fabian Luis Vargas.

1. Envelhecimento. 2. Sistema olfativo. 3. Doenças degenerativas do cérebro. 4. Testes olfativos. 5. Processamento digital de imagens. I. Vargas, Fabian Luis. II. Título.

Elaborada pelo Sistema de Geração Automática de Ficha Catalográfica da PUCRS
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).
Bibliotecária responsável: Clarissa Jesinska Selbach CRB-10/2051



DESENVOLVIMENTO DE UM SISTEMA DE ENTREGA CONTROLADA DE ESTÍMULO OLFATIVO

CANDIDATA: INGRID GRADASCHI LAMADRID

Esta Dissertação de Mestrado foi julgada para obtenção do título de MESTRE EM ENGENHARIA ELÉTRICA e aprovada em sua forma final pelo Programa de Pós-Graduação em Engenharia Elétrica da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul.

DR. FABIAN LUIS VARGAS - ORIENTADOR

BANCA EXAMINADORA

DR. DANIEL RODRIGO MARINOWIC - PPGMCS - PUCRS

DRA. ANA MARIA MARQUES DA SILVA - PPGE - PUCRS

Com carinho, aos meus pais Márcia e Renato.

Agradecimentos

A gratidão é o único tesouro dos humildes.. é a virtude das almas nobres.

Aos meus pais, Márcia e Renato, por serem o meu exemplo e pelos ensinamentos, pelo amor incondicional e apoio absoluto. Obrigada por priorizarem a minha formação e me ensinarem os valores e virtudes da família. Obrigada por serem o alicerce da minha jornada, por guiarem todas as minhas escolhas e por terem o colo sempre pronto para me receber. Obrigada por serem exatamente quem vocês são! A admiração por vocês é imensa. O orgulho e amor por vocês são incalculáveis e é em vocês que eu me espelho. Sem palavras para agradecer tudo! Amo vocês!

Ao meu namorado, Odilon Junior Hernandez de Oliveira, por estar sempre ao meu lado com alegria e um sorriso no rosto. Obrigada pelas palavras que confortam e a companhia nos momentos bons e nos difíceis. Obrigada por somar e acreditar sempre. Obrigada por me ensinar, pelo incentivo e por andar de mãos dadas. Obrigada pelo apoio infinito, companheirismo e por caminhar junto, na mesma direção. Obrigada por tornar as coisas mais fáceis e os dias mais leves. Obrigada por tanto. Obrigada por saber escutar e por ter sempre aquele abraço casa, aconchegante.

Às minhas filhas de quatro patas, as gurias, Nala e Lisa, que com os rabos abanando e muita facilidade me arrancam sorrisos toda vez que eu chego em casa. Obrigada por estarem sempre ao meu lado nas intermináveis horas de estudo. Obrigada à elas, que tiveram muitas vezes seus passeios e as brincadeiras adiados ao longo desta trajetória. Obrigada por sempre me esperarem com um abraço de urso e com beijos de cachorro. Obrigada por ficarem junto incansavelmente e por tornarem a minha vida mais feliz. Obrigada por serem sempre as minhas companheirinhas! Obrigada por serem estes anjos de quatro patas!

À professora, Marlise Araújo dos Santos, por todos os ensinamentos e conhecimento transmitidos ao longo desta trajetória. Obrigada pelo exemplo profissional e pessoal, pelo caráter e por todas as conversas. Obrigada pelo companheirismo e amizade. Obrigada pelo carinho. Nada sairia do papel sem o teu entusiasmo, apoio e profissionalismo. Obrigada pelo exemplo!

Ao professor, Júlio César de Lima, por dar tanto sentido a palavra orientação. Obrigada pela inspiração, pelo exemplo de pessoa e profissional que és, por não medir esforços para sempre ajudar e tornar os dias de trabalho mais fruitivos. Obrigada por resolver muitas coisas que, as vezes, parecem não ter solução. Obrigada pela perfeição na tua maneira de ensinar.

Ao meu orientador, professor Fabian Luis Vargas, por abraçar a causa nos últimos momentos depois de tantos obstáculos. Obrigada por guiar e orientar com tanta maestria e tornar a finalização do trabalho menos pesada e mais prazerosa.

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Elétrica da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, pelos ensinamentos passados durante as aulas, pelas conversas de corredor e por mostrarem um pouquinho o quão gratificante é a docência.

À minha amiga, Patrícia Bellicanta, que com a sua conversa leve e sorriso fácil trazia alegria para as nossas tardes de trabalho. Obrigada pelo apoio e pelas conversas durante os nossos almoços! Obrigada pela cumplicidade, por todo o companheirismo e amizade.

Aos amigos, Endrigo Carvalho e Pablo Cottens, por todo o auxílio na programação e por tornarem essa parte mais leve. Obrigada pela amizade e companheirismo.

Aos amigos e colegas, Beatriz Duarte, Michele da Rosa, Felipe Chitolina e Neri Postay, por todo o auxílio durante esta trajetória. Obrigada pela amizade e companheirismo.

Aos amigos e colegas do Microg, obrigada pelos conhecimentos trocados, pelo esforço e dedicação. Obrigada pela companhia durante as manhãs, tardes e, algumas vezes, noites. Quanto orgulho ter feito parte deste time!

A todos que estiveram comigo durante esta trajetória, obrigada pelas oportunidades, pelos conselhos, conversas, trocas e aprendizados. Obrigada por, muitas vezes, mostrarem outros caminhos ou por aderirem o meu. Quem divide, multiplica! Obrigada por estarem junto!

Agradecer muito!

"Construímos muros demais e pontes de menos."

(Isaac Newton)

Resumo

Nos últimos dois séculos, ocorreram importantes mudanças demográficas acompanhadas por um crescimento da expectativa média de vida, aumentando a população com mais de 60 anos. Como consequência desse processo, houve o aumento na incidência das doenças associadas ao envelhecimento, conhecidas como doenças neurodegenerativas, que podem afetar partes cerebrais relacionadas ao sistema olfatório, levando a uma perda prevalente da percepção do olfato. A avaliação da capacidade olfativa pode ser realizada de diversas formas, através de métodos específicos, com o auxílio de técnicas de neuroimagem ou de testes clínicos. Há dois tipos de testes clínicos, os eletrofisiológicos, baseados em potenciais olfativos detectados no cérebro, e os psicofísicos, que avaliam a capacidade olfativa, ou seja, o limiar olfativo, a discriminação e a identificação de odores. Estes últimos, porém, são feitos de forma manual, o que torna o procedimento sujeito à perda de informações e contaminação ambiental. Em conjunto com esses métodos de avaliação, existem ainda sistemas/equipamentos (olfatômetros) que auxiliam na avaliação olfativa, fornecendo o estímulo olfativo. Este trabalho propõe o desenvolvimento de um sistema de entrega controlada de estímulo olfativo, chamado olfatômetro. O sistema desenvolvido é avaliado de acordo com três parâmetros, são eles: fluxo de ar adequado para uma suficiente exposição ao estímulo olfativo, reprodutibilidade deste estímulo e resposta temporal do sistema. Os parâmetros fluxo de ar e reprodutibilidade do estímulo olfativo são analisados através de processamento digital de imagens, substituindo a substância odorífera por uma substância corante e borrifando-a em um papel branco, gerando amostras que são digitalizadas. A resposta temporal do sistema é medida através de um sensor de oxigênio. Por fim, é proposta uma interface que além de controlar o olfatômetro, reproduz o teste olfativo *Sniffin' Sticks*, possibilitando ao médico a realização da avaliação olfativa através de um computador. Assim sendo, a contribuição da presente dissertação reside no desenvolvimento de um método e um sistema eletrônico que visam aumentar o grau de automação do procedimento de entrega controlada de estímulo olfativo e com isto, aumentar a confiabilidade dos resultados e a capacidade de repetibilidade do processo.

Palavras-chaves: Sistema olfativo, Envelhecimento, Doenças degenerativas do cérebro, Testes olfativos, Sistema eletrônico, Automação de processo, Entrega controlada de estímulo olfativo, Processamento digital de imagens. .

Abstract

Over the past two centuries, significant demographic changes have occurred accompanied by a rise in average life expectancy, increasing the population over 60 years. As a consequence of this process, there has been an increase in the incidence of aging-related diseases (neurodegenerative diseases), which can affect olfactory-related brain parts, leading to a prevalent loss of smell perception in these diseases. The assessment of olfactory capacity is performed in several ways, can be by specific methods, with the aid of neuroimaging techniques or through clinical tests. There are two types of clinical tests, electrophysiological, based on olfactory potentials detected in the brain, which gives this method a high cost of execution and day-to-day unfeasibility, and psychophysicists, which assess olfactory capacity, that is, the olfactory threshold, the discrimination and the identification of odors. However, these methods are carried out manually, which makes the procedure subject to information loss and environmental contamination. In conjunction with these evaluation methods, there are also systems/equipment (olfactometers) that assist in the olfactory evaluation, providing the olfactory stimulus. Given this scenario, this work proposes the development of a controlled delivery system of olfactory stimulus, called olfactometer. The developed system is evaluated according to three parameters, they are: adequate air flow for sufficient exposure to the olfactory stimulus, reproducible from this stimulus and the system's temporal response. The parameters of air flow and reproducibility of the olfactory stimulus are analyzed through the processing of digital images, replacing an odorous substance with a coloring substance and spraying it on a white paper, generating the samples that are digitized. The system's temporal response is measured using an oxygen sensor. To this end, an interface is proposed that, in addition to controlling the olfactometer, still reproducing the test *Sniffin' Sticks*, allows the doctor to carry out an evaluation of the olfactory evaluation through a computer. Therefore, a contribution of the present dissertation does not lie in the development of a method and an electronic system that aim to increase or decrease the degree of automation of the delivery procedure controlled by olfactory stimulus and, with that, increase the results indexes and the repeatability capacity. of the process.

Keywords: Olfactory system, Aging, Degenerative brain diseases, Olfactory tests, Electronic system, Process automation, Controlled delivery of olfactory stimulus, Digital image processing.

Lista de ilustrações

Figura 1 – Representação Sistema Olfativo	22
Figura 2 – Representação do mecanismo de transdução olfativa	25
Figura 3 – <i>University of Pennsylvania Smell Identification Test (UPSIT)</i> : Folhetos com aromas (A); Modelo de uma das páginas do teste (B).	29
Figura 4 – <i>Sniffin’ Sticks Test</i>	30
Figura 5 – Exemplo de cartão de resposta do teste da Universidade de <i>Connecticut</i>	32
Figura 6 – Imagem digital: a) $f(x,y)$ corresponde os pixels da imagem. b) Representação bidimensional da imagem como matriz de pontos.	35
Figura 7 – Matriz bidimensional que representa uma imagem digital	35
Figura 8 – Transformação da imagem contínua em imagem digital	36
Figura 9 – <i>Fluxograma de um Sistema de Processamento de Imagens</i>	36
Figura 10 – Exemplo de um histograma de uma imagem	38
Figura 11 – Limiarização de uma imagem monocromática utilizando limiar T: (a) histograma original, (b) histograma da imagem binarizada.	39
Figura 12 – Diagrama de Blocos do Olfatômetro	48
Figura 13 – Estrutura do olfatômetro: a) Imagem do projeto em SOLIDWORKS; b) Estrutura em madeira montada (400x400x650).	49
Figura 14 – Gerador de aerossol: a) cilindro de oxigênio medicinal; b) regulador de pressão e fluxômetro.	50
Figura 15 – Válvula mini solenóide.	51
Figura 16 – Amostrador.	52
Figura 17 – Dispositivo de entrega da amostra: almofada nasal Swift ResMed®	52
Figura 18 – Bomba centrífuga: a) Projeto em SOLIDWORKS®; b) Bomba centrífuga montada.	53
Figura 19 – Diagrama de Blocos do Sistema Supervisório	54
Figura 20 – Tela principal do sistema supervisório.	56
Figura 21 – Tela de configuração.	56
Figura 22 – Ambiente do subtteste Limiar olfativo.	57
Figura 23 – Ambiente do teste de Discriminação de odores.	58
Figura 24 – Ambiente do teste Identificação de odores.	58
Figura 25 – Tela de resultados.	59
Figura 26 – Diagrama da unidade de referência	62
Figura 27 – Diagrama da unidade experimental	62
Figura 28 – Amostras do olfatômetro e do nebulizador com seus respectivos fluxos e tempos.	66

Figura 29 –Extração do centro óptico (recorte) de cada amostra	68
Figura 30 –Recortes das amostra 1(A), amostra 2(B), amostra 3(C), amostra 4(D) e amostra 5(E) geradas pela unidade referência (tempo 15 segundos). . .	69
Figura 31 –Perfil vertical (A), perfil horizontal (B) do recorte A (amostra 1) da unidade referência (tempo 15 segundos).	69
Figura 32 –Recortes das amostra 1(A), amostra 2(B), amostra 3(C), amostra 4(D) e amostra 5(E) geradas pela unidade experimental (fluxo de 6 l/min e tempo 15 segundos).	70
Figura 33 –Perfil vertical(A), perfil horizontal(B) do recorte A (amostra 1) da uni- dade experimental (fluxo de 6 l/min e tempo 15 segundos).	71
Figura 34 –Unidade de experimentos montada para mensurar a resposta temporal do sistema.	73
Figura 35 –Gráficos da resposta temporal do sistema.	75

Lista de tabelas

Tabela 1 – Classificação das disfunções olfativas	26
Tabela 2 – Classificação da função olfativa conforme o teste da Universidade de <i>Connecticut</i>	32
Tabela 3 – Sistemas de Estímulo Olfativos desenvolvidos desde 2010.	33
Tabela 4 – Métodos de Caracterização do Estímulo Olfativo	45
Tabela 5 – Número de <i>pixels</i> pretos das amostras geradas pela unidade de referência	64
Tabela 6 – Número de <i>pixels</i> pretos das amostras geradas pela unidade experimental	65
Tabela 7 – Resultados da análise estatística da contagem de <i>pixels</i> pretos segmen- tados	67
Tabela 8 – Resultados da análise estatística dos atributos de textura	72
Tabela 9 – Resposta temporal do olfatômetro.	74
Tabela 10 – Resposta temporal do nebulizador.	74

Lista de abreviaturas e siglas

IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia Estatística.
fMRI	<i>functional Magnetic Resonance Imaging</i> , que significa Ressonância Magnética funcional.
SN	Sistema Nervoso.
SNC	Sistema Nervoso Central.
DP	Doença de Parkinson.
DA	Doença de Alzheimer.
DH	Doença de Huntington.
ELA	Esclerose Lateral Amiotrófica.
SNM	Sintomas não motores.
UPSIT	<i>University of Pennsylvania Smell Identification Test</i> .
SST	<i>Sniffin' Sticks Test</i> .
CCCRC	<i>Connecticut Chemosensory Clinical Research Center Test</i> .
EM	Espectro eletromagnético.
MDF	<i>Medium Density Fiberboard</i> .
PUCRS	Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul.
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária.
PVC	Policloreto de vinil.
PP	Polipropileno.
ABS	Acrilonitrilabutadieno estireno).
PLA	Ácido polilático).
IDE	<i>Integrated Development Environment</i> .
TDI	<i>Threshold, Discrimination and Identification</i> .

Lista de símbolos

<i>g</i>	Gramma
<i>ml</i>	Mililitro
<i>kgf</i>	Quilograma-força
<i>cm</i>	Centímetro
cm^2	Centímetro quadrado
<i>mm</i>	Milimetro
<i>min</i>	Minuto
<i>rpm</i>	Rotações por minuto
<i>V</i>	Volts
<i>DC</i>	Corrente Contínua
<i>kB</i>	Quilobyte
<i>l</i>	Litro
<i>s</i>	Segundo
<i>ms</i>	Milissegundo
<i>ppm</i>	Partes por milhão
O_2	Oxigênio
α	Alfa
β	Beta
τ	Tau
®	Marca registrada
%	Porcentagem

Sumário

1	INTRODUÇÃO	17
2	OBJETIVOS	20
2.1	OBJETIVO GERAL	20
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	20
3	FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	21
3.1	SISTEMA OLFATIVO	21
3.1.1	Fisiologia do Olfato	21
3.1.2	Doenças Neurodegenerativas	23
3.1.2.1	Doença de Parkinson	23
3.1.2.2	Doença de Alzheimer	24
3.1.3	Distúrbios Olfativos e as Doenças Neurodegenerativas	24
3.2	AVALIAÇÃO OLFATIVA	27
3.2.1	Testes Olfativos	28
3.2.1.1	<i>University of Pennsylvania Smell Identification Test (UP-SIT)</i>	29
3.2.1.2	<i>Sniffin' Sticks (SST)</i>	29
3.2.1.3	<i>Connecticut Chemosensory Clinical Research Center (CC-CRC)</i>	31
3.2.2	Sistemas de Estímulo Olfativo	32
3.3	PROCESSAMENTO DIGITAL DE IMAGENS	34
3.3.1	Representação da Imagem Digital	34
3.3.2	Etapas do processamento de imagens	36
3.3.2.1	Formação, aquisição e digitalização da Imagem	37
3.3.2.2	Pré-processamento	37
3.3.2.3	Segmentação	38
3.3.2.4	Pós-processamento	40
3.3.2.5	Extração de atributos	40
3.3.2.6	Classificação e reconhecimento	42
4	ESTADO DA ARTE E TRABALHOS CORRELATOS	44
4.1	MÉTODOS DE CARACTERIZAÇÃO DO ESTÍMULO OLFATIVO	44
4.1.1	Fluxo de ar	45
4.1.2	Reprodutibilidade da amostra	46
4.1.3	Resolução temporal	47

5 A TÉCNICA PROPOSTA	48
5.1 Sistema de estímulo olfativo	48
5.1.1 Gerador de aerossol	50
5.1.2 Controle do estímulo olfativo	51
5.1.3 Amostradores	51
5.1.4 Entrega da amostra	52
5.1.5 Limpeza da tubulação	53
5.1.6 Sistema supervisorio	53
5.2 Caracterização do estímulo olfativo	59
6 VALIDAÇÃO	61
6.1 Fluxo de ar	63
6.2 Reprodutibilidade da amostra	67
6.3 Resposta temporal do sistema	72
7 CONCLUSÕES FINAIS	76
7.1 TRABALHOS FUTUROS	77
Referências	79
Anexos	85

1 INTRODUÇÃO

Nos últimos dois séculos, ocorreram importantes mudanças sociais acompanhadas por um considerável crescimento da expectativa média de vida da população. Tal fenômeno tem gerado importantes alterações nas pirâmides populacionais em todo o mundo, com um progressivo aumento da população com mais de 60 anos (SCHILLING et al., 2016). Segundo o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), em 2060, aproximadamente um quarto da população (25,5%) deverá ter mais de 65 anos (IBGE, 2018). Outra estimativa aponta que em 40 anos, esse aumento da população idosa deve multiplicar o número de pessoas com demência de 36 milhões para 115 milhões (GUTIERREZ et al., 2014). Atualmente, no mundo, estima-se que 40 milhões de pessoas com mais de 60 anos são diagnosticadas com demência e a projeção é dobrar esse número a cada 20 anos, pelo menos até 2050 (SCHELTENS KAJ BLENNOW, 2016). Apesar da vantagem do aumento dessa expectativa média de vida e das melhorias na qualidade de vida da população, uma das consequências mais relevantes desse processo demográfico é o aumento na incidência e prevalência das doenças associadas ao envelhecimento, quando há uma combinação de modificações destrutivas em células e tecidos que levam a um maior risco de desenvolvimento de doenças (CORREIA, 2016; SCHILLING et al., 2016).

Nesse cenário, observa-se um aumento na ocorrência de condições biológicas chamadas neurodegenerativas, definidas pela perda progressiva de neurônios no sistema nervoso (SN). Dentre as condições neurodegenerativas, existem alguns aspectos que podem levar ao desenvolvimento de demência, estágio clínico caracterizado por comprometimento da funcionalidade e autonomia do indivíduo (SCHILLING et al., 2016). Diante dessa condição, se constata um crescente interesse na busca por novas estratégias para o diagnóstico precoce dessas patologias.

As condições neurodegenerativas podem afetar partes cerebrais envolvidas no processamento de sinapses do sistema olfatório, levando a uma perda prevalente da percepção do olfato. A disfunção do sistema olfativo já é considerada um dos sinais iniciais predominantes nas doenças neurodegenerativas e vista como um marcador para este tipo de doença. Em uma pesquisa incluindo milhares de pacientes, as doenças de Parkinson e Alzheimer acusam uma perda olfativa expressiva em mais de 70% dos pacientes (DOTY, 2012). São observadas alterações na discriminação de odores, na identificação e reconhecimento de odores previamente conhecidos e também no limiar olfativo (percepção de odores em baixas concentrações) (DUARTE et al., 2014; LOPES et al., 2018; NETO et al., 2011). Nos últimos tempos, essas disfunções têm ganhado atenção por parte da comunidade científica devido à ocorrência constante desses distúrbios olfativos em pacientes

com doenças neurodegenerativas (BARRESI et al., 2012; FACHEL, 2015). Diante desse panorama, a análise do olfato se torna uma considerável e importante ferramenta para auxiliar o diagnóstico precoce dessas neuropatias, principalmente, nas doenças de Parkinson e Alzheimer, permitindo um tratamento imediato e possivelmente, como resultado, um recuo no desenvolvimento dessas doenças (FACHEL, 2015; NETO et al., 2011).

A avaliação da capacidade olfativa de um indivíduo é realizada de diversas formas. Esta avaliação pode ser através de métodos específicos, com o auxílio de técnicas de neuroimagem ou através de testes clínicos (BASTOS et al., 2015; FORNAZIERI, 2013).

O desenvolvimento da tecnologia em neuroimagem estrutural e funcional provocou rápidos avanços no conhecimento das diferentes áreas do cérebro humano, no que corresponde, principalmente, à função de cada região cerebral (FACHEL, 2015). O método de diagnóstico por Ressonância Magnética funcional (fMR) ou, do inglês, *functional Magnetic Resonance Imaging* (fMRI), possibilita examinar a atividade neuronal de forma dinâmica, e também permite identificar mudanças mais sutis no funcionamento do cérebro, referentes às áreas da linguagem, memória e de mobilidade (CASTELO-BRANCO et al., 2017; JESUS et al., 2017). Além disso, a técnica de fMRI vem sendo utilizada na detecção das áreas comprometidas do cérebro referentes ao sistema sensorial olfatório, uma vez que a identificação das vias corticais centrais, que fazem o processamento de estímulos olfativos, é de grande importância justamente pela relação existente entre deficiências olfativas e os estágios iniciais de doenças neurodegenerativas (VEDAEI et al., 2017).

Há dois tipos de testes clínicos: os eletrofisiológicos e os psicofísicos. Os eletrofisiológicos baseiam-se em potenciais olfativos detectados no cérebro, o que atribui a este método um alto custo de execução e inviabilidade para o dia-a-dia (BASTOS et al., 2015; FORNAZIERI, 2013). Já os psicofísicos são testes que avaliam a capacidade olfativa, ou seja, o limiar olfativo, a discriminação e identificação de odores. Estes testes utilizam como ferramenta de análise canetas e cartelas de odores, sendo realizados inteiramente de forma manual, o que torna o procedimento sujeito à perda de informações e contaminação ambiental. Em conjunto com estes métodos de avaliação, existem ainda sistemas/equipamentos que auxiliam na avaliação olfativa. Estes sistemas/equipamentos são chamados de olfatômetros que, além de outras aplicações, são utilizados para o fornecimento do estímulo olfativo (BASTOS et al., 2015; FORNAZIERI, 2013).

No entanto, nenhum dos sistemas/equipamentos de estímulo olfativo já desenvolvidos possui um sistema supervisorio que integre e controle o *hardware* e ainda possua um *software* capaz de realizar testes olfativos, possibilitando a avaliação olfativa através de um computador. Por esta razão, este trabalho propõe desenvolver um sistema capaz de realizar a entrega controlada e padronizada do estímulo olfativo. Da mesma forma, é proposta também uma interface capaz de reproduzir o teste olfativo *Sniffin' Sticks* possibilitando ao médico a realização da avaliação olfativa através de um computador, além

de determinar o tempo de estimulação e o tempo de limpeza da tubulação.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Este trabalho propõe o desenvolvimento de um sistema de entrega controlada de estímulo olfativo. O objetivo final deste trabalho é entregar um estímulo olfativo, através de um olfatômetro, de forma padronizada e automática, estudando a confiabilidade e reprodutibilidade do estímulo olfativo. Desta forma, os objetivos específicos do trabalho, de modo a atingir o objetivo geral são:

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Os objetivos específicos para realizar o objetivo geral desta dissertação são descritos abaixo:

- Desenvolver e validar um *hardware* que permita o controle remoto do sistema de entrega de estímulos olfativos e a configuração do número de amostras.
- Caracterizar e validar um procedimento de entrega do estímulo olfativo quanto aos seguintes parâmetros: fluxo de ar, resposta temporal, reprodutibilidade da amostra. Este procedimento deverá ser realizado através do uso de técnicas de processamento digital de imagens.
- Desenvolver e validar um *software* capaz de reproduzir o teste olfativo *Sniffin' Sticks* e determinar o tempo de estimulação olfativa.
- Integrar o *hardware* e *software* em um sistema que possa ser utilizado tanto em ambulatórios, quanto em salas de ressonância magnética.

3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

Para um maior detalhamento desta dissertação, neste capítulo serão expostos conceitos fundamentais para o entendimento da influência das doenças neurodegenerativas no olfato. Ao longo da fundamentação teórica são apresentadas características básicas sobre a fisiologia do sistema olfativo, alguns aspectos sobre as doenças neurodegenerativas, os distúrbios olfativos e a hiposmia em doenças neurodegenerativas. Também é exposta a maneira como é realizada a avaliação olfativa, os testes olfativos, um quadro comparativo sobre os sistemas de estímulo olfativo existentes e, por último, alguns aspectos sobre processamento digital de imagens.

3.1 SISTEMA OLFATIVO

O sentido do olfato está presente, de alguma maneira, em quase todos os animais, nos que vivem na terra, na água e até mesmo no ar. Inclusive bactérias e organismos unicelulares possuem mecanismos capazes de captar algumas substâncias químicas ambientais (BASTOS et al., 2015). O sistema olfativo teve grande importância no desenvolvimento dos seres humanos. Junto com o paladar, ele possibilita diferenciar alimentos em bom estado e alimentos indesejáveis. Além disso, o sistema olfativo facilita a percepção de algum possível perigo, como vazamento de gás, fumaça tóxicas e poluentes por exemplo. O olfato também permite que os animais percebam a aproximação de outro, o que facilita o reconhecimento de indivíduos da mesma espécie (BARREIRO, 2016; DUARTE et al., 2014).

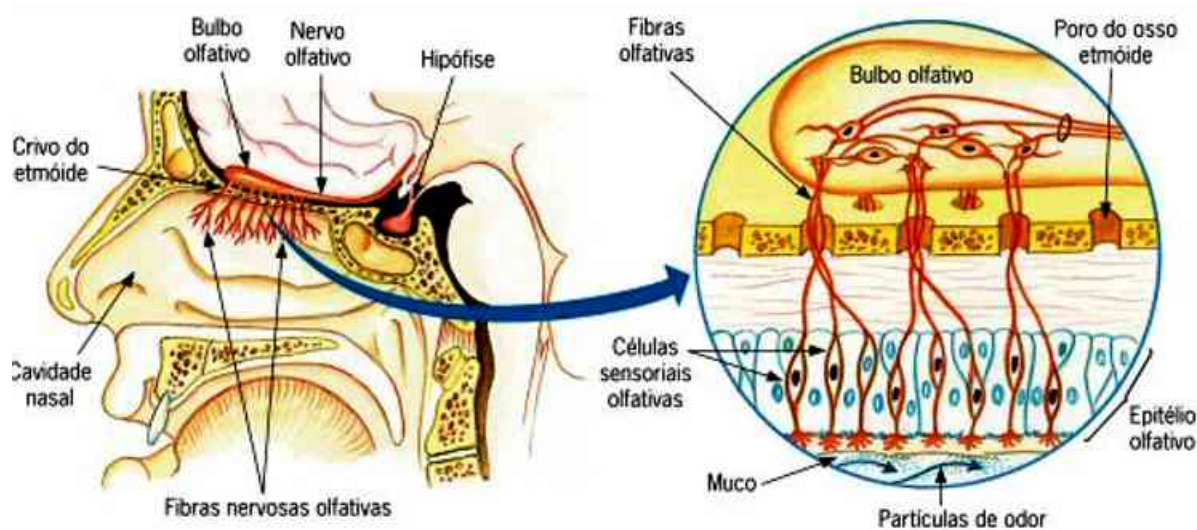
3.1.1 Fisiologia do Olfato

Dos sentidos químicos, o olfato é o menos compreendido dentre os sentidos sensoriais dos seres humanos e é considerado quase primitivo quando comparado ao de outros seres vivos. Isto se deve ao fato do sentido da olfação ser julgado subjetivo e à dificuldade em quantificar respostas aos estímulos odoríferos, devido à inacessibilidade aos receptores olfativos (HALL, 2017; DUARTE et al., 2014; SANTOS et al., 2017; GUYTON; ESBÉRARD, 1993).

A membrana olfativa, localizada na parte superior da cavidade nasal e também chamada de epitélio olfativo (Figura 1), é uma pequena e fina camada composta por diferentes tipos de células. Em cada narina, ela possui uma área de superfície de aproximadamente $2,4 \text{ cm}^2$, onde estão localizados os receptores sensoriais do sistema olfativo, em um total de 6 milhões aproximadamente (GUYTON; ESBÉRARD, 1993; BASTOS

et al., 2015). As células receptoras olfativas são neurônios, com axônios próprios que se infiltram no sistema nervoso central. Cada neurônio receptor olfativo é composto de um único dendrito com uma pequena dilatação na superfície do epitélio, onde há múltiplos longos cílios que se encontram revestidos por uma camada de muco (BASTOS et al., 2015; BEAR; CONNORS; PARADISO, 2008; FACHEL, 2015; GUYTON; ESBÉRARD, 1993).

Figura 1 – Representação Sistema Olfativo



Fonte: MARIEB & HOEHN, 2009.

As células olfativas respondem aos estímulos químicos odoríferos através dos cílios. As membranas dos cílios possuem um grande número de moléculas proteicas que projetam-se através da membrana e ligam-se às substâncias odoríferas, induzindo potenciais de ação nas células receptoras (DOTY, 2009; GUYTON; ESBÉRARD, 1993). A transdução olfativa ou estimulação das células olfativas ocorre quando as moléculas odoríferas, diluídas no muco, ligam-se aos receptores olfativos localizados na superfície dos cílios, ou seja, quando produtos voláteis, de substâncias aromáticas ou de lipossolúveis, entram nas cavidades nasais e se dissolvem no muco olfativo, alcançando o bulbo olfatório (Figura 1) (ANDRADE, 2016; BEAR; CONNORS; PARADISO, 2008; FACHEL, 2015).

Apesar de ainda despertar pouco interesse na sociedade médica, o sistema olfativo tem ganhado atenção da comunidade científica devido à sua capacidade de auxiliar na interpretação do comportamento humano, na segurança e nas condições para o bem-estar dos indivíduos (DOTY, 2009; PATEL; PINTO, 2014). Nesta perspectiva, com o objetivo de melhorar a qualidade de vida dos seres humanos, muitos pesquisadores têm dedicado seu tempo ao estudo de condições e fatores patológicos que afetam o sistema olfativo.

3.1.2 Doenças Neurodegenerativas

O sistema nervoso pode ter sua função comprometida devido a uma série de desequilíbrios que afetam a atividade de qualquer uma de suas estruturas, causando alterações em funções humanas importantes e, desta forma, acometendo a qualidade de vida do indivíduo. Associado ao aumento da expectativa de vida ocorre também um aumento considerável da prevalência de doenças crônicas associadas ao processo de envelhecimento, dentre elas, as doenças neurodegenerativas (CORREIA, 2016; GODOY, 2015).

As doenças neurodegenerativas são enfermidades crônicas, as quais causam degenerações progressivas e irreversíveis em diversas áreas do cérebro, bem como em células nervosas específicas, resultando em distúrbios sensoriais, motores e cognitivos (AMOR et al., 2014). Essas neuropatias, como por exemplo, as doença de Parkinson (DP), doença de Alzheimer (DA), a doença de Huntington (DH) e a Esclerose Lateral Amiotrófica (ELA) são doenças agressivas e caracterizam-se pela disfunção e degeneração do sistema nervoso central (CORREIA, 2016; DUARTE et al., 2014)

3.1.2.1 Doença de Parkinson

O médico inglês James Parkinson descreveu pela primeira vez, em 1817, através da publicação do ensaio "*An essay on the Shaking Palsy*", uma enfermidade intitulada "paralisia agitante" caracterizada pela presença de movimentos trêmulos involuntários, diminuição da força muscular, inclinação do tronco para a frente e alteração da marcha. A Doença de Parkinson (DP) é uma doença neurodegenerativa multissistêmica progressiva que afeta principalmente indivíduos com idade avançada (ANDRADE, 2016; SVEINBJORNSDOTTIR, 2016). A fisiopatologia da doença caracteriza-se pela formação de corpos de inclusão citoplasmáticos por α -sinucleína (Corpos de Lewy) em inúmeras regiões encefálicas. Através da degeneração dos neurônios dopaminérgicos da substância negra, o circuito dopaminérgico nigroestriatal é o principal sistema acometido, sendo responsável pela maior parte dos sinais e sintomas. Estas alterações acometem também outras regiões encefálicas, como o bulbo olfatório, núcleo basal de Meynert, locus coeruleus, núcleo dorsal do vago e córtex cerebral. Além disto, o sistema dopaminérgico não é o único afetado, ocorrendo perda de neurônios colinérgicos, noradrenérgicos e serotoninérgicos (CARDOSO, 2016). A incapacidade gerada pela DP é análoga àquela provocada por acidentes vasculares encefálicos (ANDRADE, 2016).

É a segunda doença neurodegenerativa mais comum, cujas incidência e prevalência crescem com as mudanças demográficas (PRINGSHEIM et al., 2014). Devido a falta de uma etiologia definida, a DP é uma doença idiopática e é caracterizada por uma desordem complexa, onde múltiplos fatores e diversos mecanismos patogênicos podem desenvolver a doença. O envelhecimento é tido como o principal fator de risco para o desenvolvimento da DP, porém acredita-se que existem outros fatores que contribuam para o desenvolvimento

da doença (CARDOSO, 2016).

Na Doença de Parkinson, além das manifestações motoras, sabe-se que os pacientes apresentam sintomas não motores (SNM) que, normalmente, já se manifestam antes mesmo do aparecimento dos sintomas motores. Dentre os SNM, que podem ser tão debilitantes quanto os sintomas motores, podem ser citados, distúrbios do sono, distúrbios do olfato, distúrbios gastrintestinais, distúrbios sensoriais e sintomas neuropsiquiátricos. Dentre os SNM na DP, os distúrbios na função olfativa têm grande prevalência, o que gera um aumento no foco nesta questão (CARDOSO, 2016).

3.1.2.2 Doença de Alzheimer

A demência é caracterizada pela ocorrência do declínio cognitivo e funcional progressivo em múltiplos estágios, envolvendo obrigatoriamente o prejuízo da memória, e constitui-se como a forma mais prevalente de demência. Em 1906, em um encontro alemão de psiquiatria, o médico alemão Alois Alzheimer descreveu características clínicas e patológicas de uma demência pré-senil que posteriormente, em 1910, seria chamada de Doença de Alzheimer (GODOY, 2015; SCHILLING et al., 2016).

A fisiopatologia da Doença de Alzheimer é caracterizada por uma complexa sequência de eventos neuropatológicos como, a deposição da proteína β -amilóide e a hiperfosforilação e acúmulo de emaranhados neurofibrilares compostos pela proteína τ . Essas alterações estão associadas a diversos eventos, tais como: neurodegeneração, neuroinflamação com alterações na substância branca e distúrbios de neurotransmissores (SCHILLING et al., 2016).

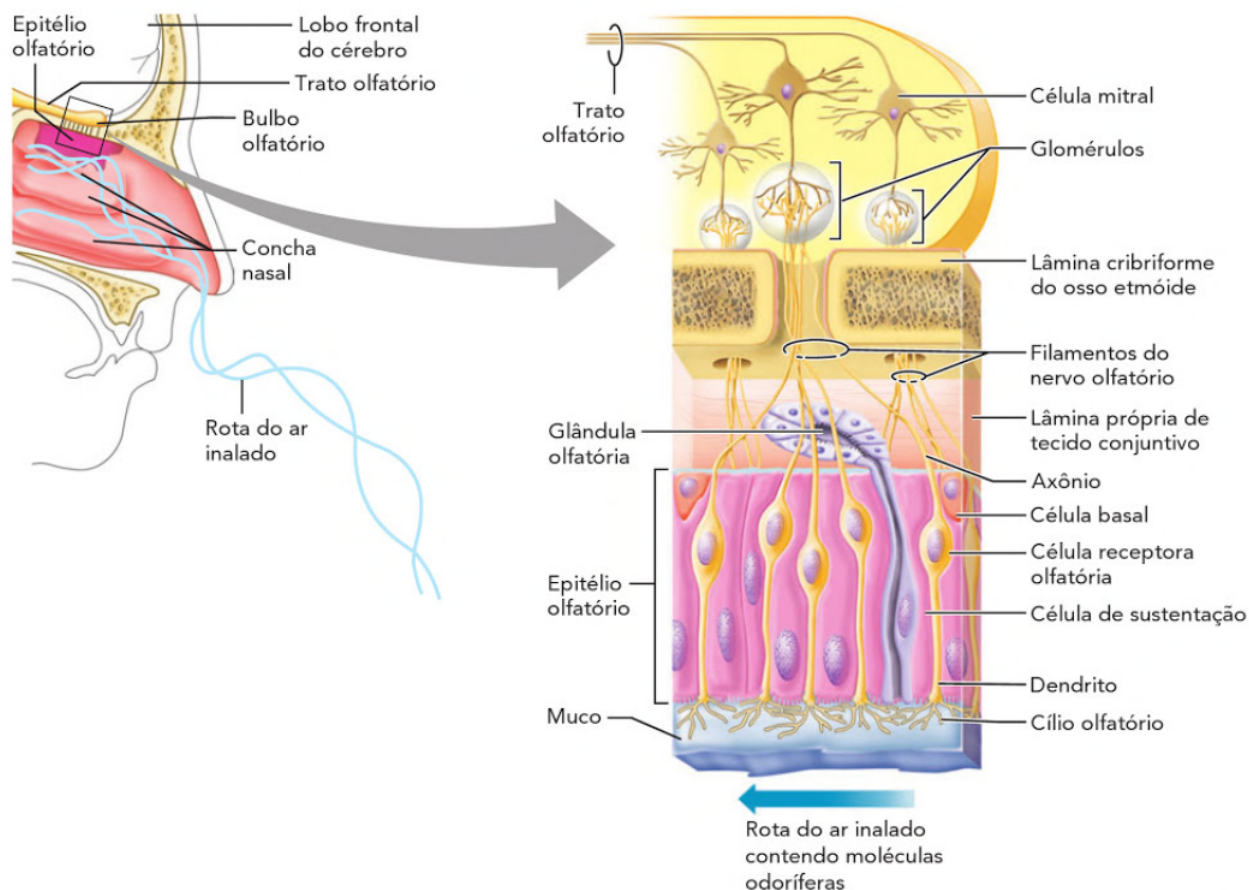
A Doença de Alzheimer é considerada como a principal causa de demência no mundo, contabilizando cerca de 35 milhões de pessoas em 2011, sendo 8,5% na América Latina e 1 milhão só no Brasil. Nos Estados Unidos da América (EUA), estima-se que 5,7 milhões de pessoas são acometidos pela DA. As declarações oficiais de óbito, em 2015, registraram 110.561 mortes por DA, tornando a DA a sexta causa de morte nos EUA e a quinta maior causa de morte em americanos com mais de 65 anos de idade (ASSOCIATION et al., 2018; GODOY, 2015; SCHILLING et al., 2016)

3.1.3 Distúrbios Olfativos e as Doenças Neurodegenerativas

As sensações olfativas acontecem através da interação das moléculas odoríferas com as células receptoras da olfação, as quais se propagam para o sistema límbico, bem como para áreas corticais superiores, podendo resultar em respostas emocionais ou até aflição de memória (NETO et al., 2011). Esta interação entre as moléculas odoríferas e os receptores olfativos, as quais entram nas cavidades nasais e se dissolvem no muco, alcançando o bulbo olfatório, é denominada transdução olfativa, conforme a Figura 2

(ANDRADE, 2016; BEAR; CONNORS; PARADISO, 2008; FACHEL, 2015).

Figura 2 – Representação do mecanismo de transdução olfativa



Fonte: MARIEB & HOEHN, 2009.

Sabe-se que a capacidade sensorial olfativa diminui com o processo de envelhecimento em cerca de 1% por ano após os 60 anos, e pode estar associada à degeneração das células olfatórias. Desordens ou perdas na função olfativa são mais frequentes na população idosa e afetam a qualidade de vida dos indivíduos (DEMARCO et al., 2019). Podem representar risco à saúde, com maior probabilidade de inalação ou ingestão de substâncias tóxicas, ingestão de alimentos deteriorados e falha na percepção de situações de perigo (DUARTE et al., 2014) além de acarretarem também problemas sociais, psicológicos e inclusive nutricionais quando não diagnosticadas ou tratadas de forma adequada (DEMARCO et al., 2019). É considerado distúrbio do olfato a incapacidade de sentir cheiros corretamente. Estas disfunções olfativas podem ser classificadas como quantitativas ou qualitativas e em categorias dependentes do grau de perda, disfunção ou alteração da percepção de odor (LOPES et al., 2018), conforme a Tabela 1.

Tabela 1 – Classificação das disfunções olfativas

Disfunção Olfativa (disosmia)				
Quantitativa	Hiperosmia	Aumento da sensibilidade olfativa		
	Normosmia	Condição olfativa intacta para todos os odores		
	Hiposmia	Diminuição da sensibilidade olfativa		
	Anosmia	Anosmia completa	Perda total das funções olfativas	
		Anosmia funcional	Limitação grave da função olfativa	
		Anosmia parcial	Redução acentuada da sensibilidade a odores de grupos específicos	
Qualitativa	Parosmia	Percepção alterada dos odores na presença de estímulo		
	Alucinações olfativas (duração de segundos)	Percepção de odores na ausência de estímulo odorante		
	Fantosmia (duração superior a alguns segundos)			

Fonte: Adaptado de (LOPES et al., 2018).

Em termos fisiopatológicos, os distúrbios olfativos podem se manifestar como disfunções de condução (bloqueio anatômico à passagem do ar para a fenda olfativa) e disfunções neurossensoriais (lesão ou perda neuronal) (LOPES et al., 2018). Aspectos como qualidade e intensidade da percepção olfatória dependem da condição funcional e anatômica do epitélio nasal e dos sistemas nervosos central e periférico (NETO et al., 2011). Algumas das condições patológicas que alteram o sentido do olfato podem ser congênitas ou adquiridas como, por exemplo, deformações nasosseptais, polipose nasal, doença nasal e sinusal obstrutiva, infecções de vias aéreas superiores, traumatismo cranioencefálico, envelhecimento, exposição à substâncias tóxicas, neoplasias nasais ou intracranianas e doenças neurológicas (NETO et al., 2011).

Na perspectiva clínica, o estudo dos distúrbios olfativos tem ganhado importância, especialmente, por serem apontados como possíveis antecessores de distúrbios neurológicos, principalmente, por poderem auxiliar no diagnóstico precoce de algumas doenças neurodegenerativas (ANDRADE, 2016; BARRESI et al., 2012). Em alguns casos, a disfunção no sentido olfatório é o único indício do começo da doença, enquanto outros sintomas ainda não se manifestaram (REY; WESSON; BRUNDIN, 2016).

A disfunção olfatória é uma das características não motoras predominantes em

indivíduos com a DP (CARDOSO, 2016), sendo um importante indicador para o diagnóstico precoce da doença, já que o olfato começa a apresentar alterações antes mesmo de aparecerem os sintomas típicos (motores) (NETO et al., 2011; ZOU et al., 2016). A alteração da capacidade olfativa na DP ficou conhecida no início da década de 1970 e estima-se que de 80-90% dos pacientes sejam acometidos pela diminuição do sentido da olfação (ANDRADE, 2016). A hiposmia (diminuição da capacidade olfatória) na DP pode aparecer geralmente de 4 a 8 anos antes do diagnóstico da doença, podendo se manifestar até 20 anos antes (DOTY, 2009).

Na DA, que é a causa mais comum de demência, essa alteração olfativa também é considerada importante marcador para o diagnóstico precoce da doença, aparecendo antes dos sintomas comuns (cognitivos). A hiposmia na DA foi reportada pela primeira vez em 1973, aproximadamente há 40 anos, e estima-se que de 85-90% dos pacientes apresentam déficit olfativo na sua fase inicial, que está associado à diminuição da ativação das estruturas centrais de processamento do olfato (VASAVADA et al., 2017; ZOU et al., 2016). Essa disfunção olfativa, nesse caso, é considerada um pré-sintoma, aparecendo alguns anos antes dos sintomas cognitivos, antecedendo, assim, o diagnóstico da doença (GODOY, 2015). Sabe-se hoje que pacientes portadores dessa patologia apresentam a função olfativa debilitada, fluência olfativa, memória de reconhecimento olfativo e percepção de limiar olfativo alterados (VELAYUDHAN, 2015).

3.2 AVALIAÇÃO OLFATIVA

Dentre as diversas maneiras de avaliar a capacidade olfatória de um indivíduo pelo uso de métodos específicos, destacam-se os testes clínicos (eletrofisiológicos e psicofísicos) e técnicas de neuroimagem (BASTOS et al., 2015; FORNAZIERI, 2013) e para complementar estas formas de avaliação, existem equipamentos que auxiliam na realização dos testes clínicos, fornecendo o estímulo olfativo.

O método de avaliação eletrofisiológica, potencial evocado olfatório e o eletroolfatograma, é baseado em potenciais relacionados a eventos olfativos, que resulta da atividade sequencial de várias áreas cerebrais. No entanto, devido ao fato de muitos pacientes não apresentarem, em condições normais, alguma detecção de potencial olfativo, este método avaliativo possui baixa especificidade e sensibilidade, além de apresentar alto custo de execução, o que o torna inadequado para a prática de rotina (BASTOS et al., 2015; FORNAZIERI, 2013).

O teste clínico olfativo é realizado através do método psicofísico, os quais compreendem testes que avaliam a capacidade olfativa. Esta avaliação é dividida em três modalidades: detecção do limiar olfativo, discriminação e identificação de odores. A detecção do limiar olfativo consiste na apresentação de três alternativas de escolha forçada,

na qual o paciente deve escolher qual possui certa concentração de odor (as outras duas não possuem qualquer odor). O odor é apresentado em diferentes níveis de concentração e o limiar olfativo é a menor concentração que o paciente é capaz de detectar tal odor. Na modalidade de discriminação de odores, o paciente deve distinguir qual é o odor diferente dentre três estímulos, sendo dois iguais e apenas um diferente. Em relação à identificação de odores, na modalidade mais utilizada na prática clínica, solicita-se ao paciente que identifique um odor conhecido dentre, geralmente, quatro opções possíveis (BASTOS et al., 2015). Da mesma forma que os demais testes, estes também apresentam limitações referentes à dificuldade de padronização de aromas em diferentes culturas (FORNAZIERI, 2013).

3.2.1 Testes Olfativos

Os primeiros testes clínicos olfativos surgiram na década de 80 (DOTY; SHAMAN; DANN, 1984). Os testes denominados eletrofisiológicos ou objetivos, além de possuírem um alto custo de execução, não são práticos para serem utilizados no dia-a-dia e adicionam muito pouco aos testes psicofísicos (FORNAZIERI, 2013). Esses testes dependem da vontade do paciente e incluem:

1. Testes de Identificação de Odores: reconhecimento de odores familiares a pessoas de uma determinada cultura;
2. Testes de Limiar Olfativo: concentrações crescentes de um mesmo odor são apresentadas ao paciente com o objetivo de determinar a menor concentração que o indivíduo é capaz de perceber;
3. Testes de Discriminação de Odores: o paciente deve identificar um odor diferente dentro de alguns apresentados;
4. Testes de Memória Olfativa: o paciente deve reconhecer um odor previamente experimentado.

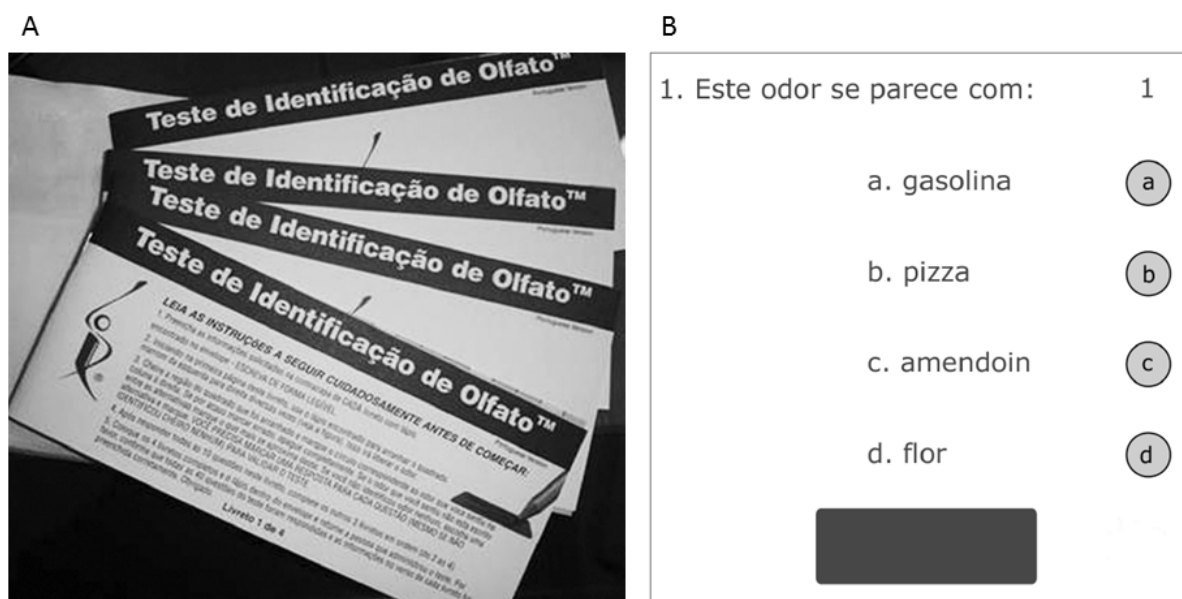
Estes testes normalmente exigem uma resposta forçada do paciente, em que a escolha de uma alternativa, que pode ser escrita ou apresentada na forma de figura, deve ser feita, além de possuir elevada complexidade de execução (FORNAZIERI, 2013).

Ao contrário dos eletrofisiológicos, os testes psicofísicos ou subjetivos, são mundialmente conhecidos, validados e mais utilizados na prática clínica, como por exemplo, os testes da Universidade da Pensilvânia ou *University of Pennsylvania Smell Identification Test*TM (UPSIT), o *Sniffin' Sticks*[®] (SST), originário na Alemanha (FORNAZIERI, 2013) e o *Connecticut Chemosensory Clinical Research Center* (CCCRC), conhecido como Teste do Olfato de *Connecticut*.

3.2.1.1 University of Pennsylvania Smell Identification Test (UPSIT)

O UPSIT foi o primeiro teste padronizado no estilo "raspar e cheirar". Ele foi validado em mais de 1600 participantes, ao longo de cinco experimentos (DOTY; SHAMAN; DANN, 1984) e usado em outros estudos (FORNAZIERI et al., 2010; SILVEIRA-MORIYAMA et al., 2010; FORNAZIERI, 2013; DRIVER-DUNCKLEY et al., 2014; HUGH et al., 2015; ANDRADE, 2016; LAWTON et al., 2016; CAMPABADAL et al., 2017; URBAN-KOWALCZYK; SMIGIELSKI; STRZELECKI, 2017). O teste consiste em quatro folhetos com 10 aromas, sendo um aroma por página. Cada página contém uma pergunta, por exemplo, "Qual alternativa abaixo contém o nome do aroma?", quatro alternativas de resposta. Os aromas são embebidos em microcápsulas plásticas situadas em uma faixa marrom na parte inferior de cada página, como pode ser visto na Figura 3.

Figura 3 – *University of Pennsylvania Smell Identification Test (UPSIT)*: Folhetos com aromas (A); Modelo de uma das páginas do teste (B).



Fonte: (FORNAZIERI et al., 2010)

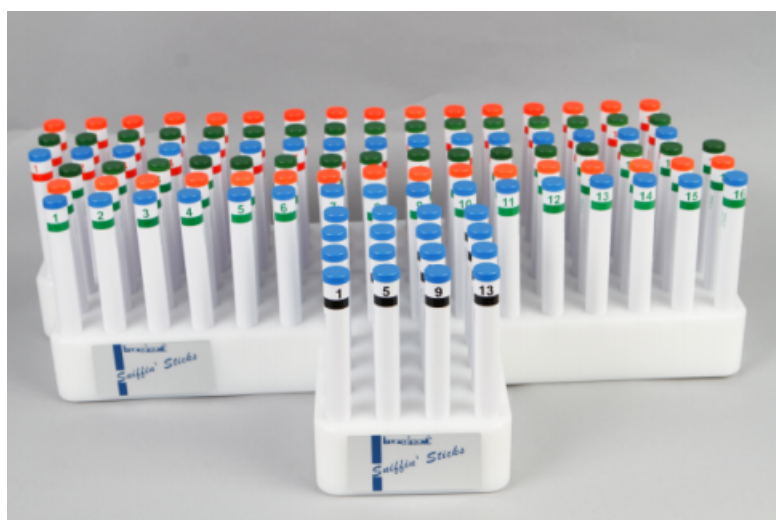
O estímulo olfativo é liberado quando o indivíduo raspa a faixa marrom. Ao final do teste, a pontuação obtida classifica a função olfatória em normosmia (função olfativa normal), hiposmia ou diminuição da função olfativa (leve, moderada e severa) e anosmia (perda absoluta do olfato) (DOTY; AGRAWAL, 1989; FORNAZIERI et al., 2010).

3.2.1.2 Sniffin' Sticks (SST)

O relato do desenvolvimento do teste *Sniffin' Sticks*[®], foi feito por Hummel et. al. (1997). Utilizado em diversos estudos (HAEHNER et al., 2009; FUSETTI et al., 2010;

CHEN et al., 2012; NEUMANN et al., 2012; KAMATH et al., 2013; DUARTE et al., 2014; BASTOS et al., 2015; ÇOMOĞLU et al., 2015; HUGH et al., 2015; LAWTON et al., 2016; NIKLASSEN et al., 2017) e difundido principalmente no continente europeu, o teste associa a análise do limiar olfativo à capacidade de discriminação e identificação de odores. Este teste utiliza como ferramenta de avaliação um conjunto de canetas (Figura 4) com pontas de feltro embebidas em substâncias aromáticas. Disponível comercialmente, o teste é composto por três subconjuntos/etapas diferentes que avaliam o limiar olfativo (48 odores), discriminação (48 odores) e identificação de odores (16 odores) (ÇOMOĞLU et al., 2015; SOROKOWSKA et al., 2015).

Figura 4 – *Sniffin' Sticks Test*



Fonte: Catálogo *Sniffin' Test* (2014).

Para o teste de limiar olfativo, dezesseis diluições do aroma são feitas a partir de uma solução de 4% de n-butanol; a caneta com número 16 é a com a substância mais diluída e a caneta com o número 1, é a que contém a substância no nível mais concentrado. As canetas são apresentadas ao indivíduo em trios, dois contendo somente o solvente e um contendo o aroma a uma determinada diluição. A tarefa do paciente é identificar qual caneta contém o odor. Os trios são apresentados com intervalos de aproximadamente 20 segundos e a pontuação é marcada como certa, em uma tabela, cada vez que o paciente acertar qual caneta contém o odor duas vezes sucessivas (inversão da escada de pontuação), caso contrário é marcada como errada. O limiar olfativo é definido com a média dos últimos 4 dos 7 pontos de inversão de escada (BASTOS et al., 2015; ÇOMOĞLU et al., 2015).

No teste de discriminação, novamente trios de canetas são apresentados ao paciente, duas contendo um mesmo odor e um contendo um odor diferente. A tarefa do paciente é identificar qual caneta possui o odor diferente (BASTOS et al., 2015; ÇOMOĞLU et al., 2015).

No teste de identificação, dezesseis aromas específicos são apresentados ao indivíduo. O paciente recebe uma cartela com quatro alternativas de resposta e a tarefa é marcar na cartela qual aroma está sendo sentido (BASTOS et al., 2015; ÇOMOĞLU et al., 2015). O resultado final do teste, também denominado *TDI Score* (*Threshold, Discrimination and Identification Score*) é definido pela soma dos subconjuntos de limiar olfativo, discriminação e identificação (ÇOMOĞLU et al., 2015).

3.2.1.3 *Connecticut Chemosensory Clinical Research Center (CCCRC)*

Descrito por (CAIN et al., 1988), o teste do *Connecticut Chemosensory Clinical Research Center* (CCCRC), utilizado em diversos estudos (YÜCEPUR et al., 2012; VEYSELLER et al., 2014; CHAVES-MORILLO et al., 2017), associa um componente de limiar olfativo, utilizando 1-butanol, e um de identificação (CAIN et al., 1988).

Inicia-se o teste de limiar olfativo solicitando ao paciente fechar os olhos e ocluir a narina que não será testada. Dois frascos são apresentados, primeiro o de menor concentração e, logo após o outro, contendo uma substância inodora (água). A tarefa é identificar qual das duas garrafas contém a substância diferente de água. Se a resposta for incorreta, uma concentração mais alta é apresentada ao paciente. Caso o paciente identifique corretamente, a mesma concentração é apresentada novamente. Cinco acertos consecutivos, concluem o teste e, a concentração em que isso ocorre, define o limiar olfativo. Um *score* de zero a sete é obtido para cada narina, correspondendo ao número do frasco de acerto. Uma vez testada a narina direita, por exemplo, inicia-se o teste com a outra narina. O frasco de concentração mais forte (número 0) é butanol a 4% em água destilada e cada diluição subsequente obedece a proporção de 1:3 até chegar no frasco mais diluído (número 7) (CAIN et al., 1988; DEMARCO et al., 2019).

A segunda parte do teste consiste na identificação de odores, oito frascos com as substâncias odoríferas são apresentados aos indivíduos: talco, chocolate, canela, café, naftalina, pasta de amendoim, sabonete e Vick VapoRub[®]. Também de olhos fechados, enquanto uma das narinas é avaliada, a outra deve permanecer fechada. Quando apresentado um aroma, o indivíduo recebe uma lista com vinte nomes de substâncias (algumas as testadas e alguns distratores) e deve indicar qual odor é sentido. Uma resposta incorreta permite uma segunda oportunidade de resposta que, se correta, é contabilizada no final do teste como resposta certa. Ao final da avaliação, uma pontuação é obtida para cada narina, correspondendo ao número de respostas certas entre 0 e 7. Ainda, ao final do teste, é avaliada a capacidade de percepção de estímulo trigeminal, com uma concentração de Vick VapoRub[®]. A capacidade de sentir esta substância indica a função intacta do nervo trigêmeo, o que é fundamental quando durante o teste são obtidas respostas inconsistentes (CAIN et al., 1988; DEMARCO et al., 2019).

A classificação olfativa é calculada através de um *score* combinado, que corresponde

à média aritmética entre o teste do limiar e a identificação de odores, para cada paciente. Também é definido um *score* combinado para cada cavidade nasal separadamente. A média aritmética entre os *score* combinados das duas narinas resulta num índice, chamado Índice de *Score* Combinado, conforme pode ser visto na Figura 5.

Figura 5 – Exemplo de cartão de resposta do teste da Universidade de *Connecticut*

Patient Jane Doe TS# 00123 Tested by A.B.
 Date 10 Jan '95 First visit Recall Referred by Self

Butanol Threshold
 Key: ○ : correct X : incorrect

Left nostril				Right nostril			
11	11	11	11	11	11	11	11
10	10	10	10	10	10	10	10
⑨	X	9	9	X	9	9	9
⑧	⑧	X	8	X	8	8	8
X	7	7	7	⑦	⑦	X	7
⑥	X	6	6	⑥	X	6	6
⑤	⑤	⑤	X	⑤	⑤	X	5
④	④	④	④	④	X	4	4
3	3	3	3	③	③	③	X
2	2	2	2	②	②	②	②
1	1	1	1	1	1	1	1
0	0	0	0	0	0	0	0
Bottle #	④			Bottle #	②		

Composite Score

6.0-7.0 Normosmia	Score	LN	RN
5.0-5.75 Mild hyposmia	BA threshold	④	②
4.0-4.75 Moderate hyposmia	Odor ID	④	③
2.0-3.75 Severe hyposmia	Composite	4	2.5
0-1.75 Anosmia			

Odor Identification
 Key: ✓ : correct NS: no sensation DK: don't know
 misidentification: specify

Odorant	Left		Right		Both
	Trial 1	Trial 2	Trial 1	Trial 2	
Baby powder	✓		DK	Snip	
Chocolate	DK	P.B.	Coffee	Coffee	
Cinnamon	NS	NS	NS	NS	
Coffee	✓		✓		
Mothballs	✓		Tung.	✓	
Peanut butter	Choc.	DK	NS	DK	
Soap (ivory)	Cinn.	✓	DK	✓	
Total # correct		4		3	
Vicks	✓		✓		
Trial Items					
Garlic	✓		DK	✓	
Wax	DK		NS	NS	

Fonte: (CAIN et al., 1988)

A classificação da função olfativa do paciente se dá através de índices de *Score* combinado obtidos, conforma a Tabela 2.

Tabela 2 – Classificação da função olfativa conforme o teste da Universidade de *Connecticut*.

Score	Classificação
6,0 – 7,00	Normosmia
5,0 – 5,75	Hiposmia leve
4,0 – 4,75	Hiposmia moderada
2,0 – 3,75	Hiposmia severa
0 – 1,75	Anosmia

Fonte: O autor (2019).

3.2.2 Sistemas de Estímulo Olfativo

Aliados aos testes olfativos, existem alguns sistemas/equipamentos desenvolvidos que realizam o processo de estimulação olfativa, ou seja, entregam uma substância aromática ao paciente. O olfatômetro, além de medir diluição de substâncias aromáticas

presentes em um determinado ambiente, é um equipamento utilizado principalmente para levar o estímulo olfativo até o nariz do paciente, tendo aplicações nas áreas industrial, farmacêutica, alimentícia, médica, entre outras. Levando em consideração a subjetividade do sentido olfatório humano em relação à presença de substâncias odoríferas, é um equipamento capaz de quantificar e qualificar o sentido do olfato humano. (FACHEL, 2015). Na indústria e nas áreas farmacêutica e alimentícia, são empregados para medir a diluição de substâncias odoríferas em um ambiente. Já na área médica, são equipamentos utilizados na comparação da subjetividade do olfato humano em relação à presença de aromas, examinando o limiar de percepção de substâncias odoríferas em um determinado ambiente e avaliando a identificação e discriminação de odores (LUNDSTRÖM et al., 2010). Alguns dos sistemas desenvolvidos desde 2010 podem ser vistos na Tabela 3.

Tabela 3 – Sistemas de Estímulo Olfativos desenvolvidos desde 2010.

Autor	Ano	Título	Universidade ou Centro de Pesquisa	País
Cuevas et. al.	2010	Development of a fully automated system for delivering odors in an MRI environment	Université Catholique de Louvain	Bélgica
Lundström et. al.	2010	Methods for building an inexpensive computer-controlled olfactometer for temporally-precise experiments	Monell Chemical Senses Center	EUA
González et. al.	2011	Mapping Brain Activity Induced by Olfaction of Virgin Olive Oil Aroma	Instituto de la Grasa	Espanha
Soomer et. al.	2012	A mobile olfactometer for fMRI-studies	University Hospital Mannheim	Alemanha
Arichi et. al.	2013	Computer-controlled stimulation for functional magnetic resonance imaging studies of the neonatal olfactory system	Kings College London	Inglaterra
Sezille et. al.	2013	A portable experimental apparatus for human olfactory fMRI experiments	University Lyon	França
Andrieu et. al.	2014	A modular, computer-controlled system for olfactory stimulation in the MRI environment	Franche-Comté University	França
Mondini et. al.	2014	Desenvolvimento e Avaliação de Protótipo para Estudos de Neuroimagem: Estímulo Olfativo	PUCRS	Brasil
Fachel et. al.	2015	Estímulo olfativo para estudos de neuroimagem	PUCRS	Brasil
Bestgen et. al.	2016	An extension of olfactometry methods: An expandable, fully automated, mobile, MRI-compatible olfactometer	Ruhr-University Bochum	Alemanha
Lowen et. al.	2017	Improved low-cost, MR-compatible olfactometer to deliver tobacco smoke odor	McLean Imaging Center McLean Hospital Harvard Medical School	EUA
Nieminen et. al.	2018	A compact olfactometer for IMS measurements and testing human perception	University of Tampere	Finlândia
Este trabalho	-	Desenvolvimento de um sistema de entrega controlada de estímulo olfativo	PUCRS	Brasil

Fonte: O autor (2019).

Esses sistemas foram desenvolvidos para inúmeras aplicações e utilizam diversos métodos de validação. Para que possa ser feita a comparação entre eles, é necessário medir e analisar alguns parâmetros referentes ao estímulo olfativo, os quais também servem para validar o funcionamento dos sistemas/equipamentos.

3.3 PROCESSAMENTO DIGITAL DE IMAGENS

Apesar da visão humana ser o sentido mais avançado, é limitada à banda visível do espectro eletromagnético (EM). Por este motivo técnicas de processamento digital de imagens podem ser aplicadas para auxiliar a interpretação humana das informações, uma vez que os aparelhos de processamento de imagens cobrem todo o espectro EM (GONZALEZ; WOODS, 2010). Qualquer operação que atue para melhorar, restaurar, analisar ou de alguma forma modificar a imagem digital é uma forma de processamento de imagem.

3.3.1 Representação da Imagem Digital

Uma imagem digital pode ser monocromática ou clorada e é classificada conforma a quantidade de bits:

- 1 bit - composta por somente duas tonalidades. O preto, representado pelo valor zero (0), e o branco, representado pelo valor um (1). Pertence à classe das imagens monocromáticas, denominada imagem binária.
- 8 bits - composta por até 256 tonalidades de cores, cujos valores variam de 0 a 255. Também pertencem à classe das imagens monocromáticas, chamadas de imagens em tons de cinza.
- 24/32 bits - composta por até 16 milhões de tonalidades de cores, formadas pela combinação de verde, vermelho e azul e pertencem à classe das imagens coloridas.

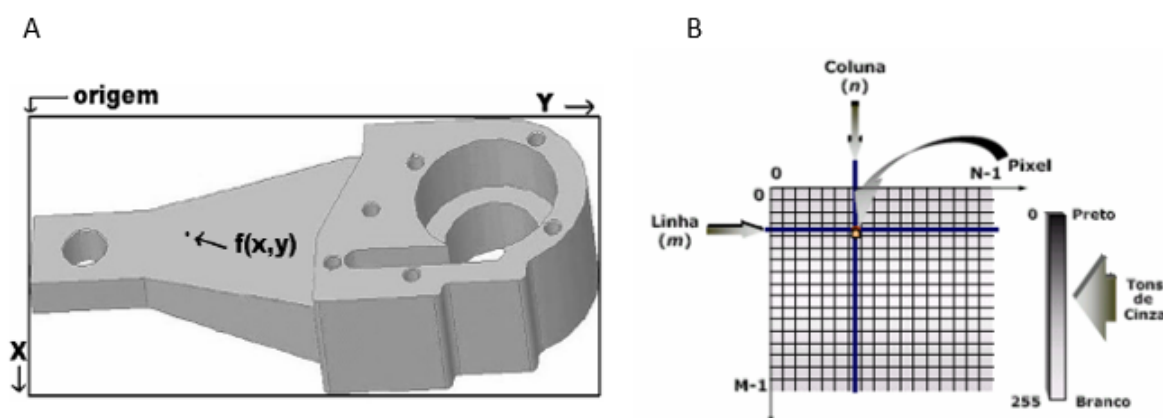
O número de bits de uma imagem se refere à quantas tonalidades uma imagem pode ter. Toda imagem digital é formada por pontos que possuem o formato quadrado chamados *pixel*. O termo *pixel* é derivado do inglês *picture element* que significa elemento da figura e corresponde a menor unidade de uma imagem digital, onde são descritos a cor e o brilho específico de da imagem (LOUREGA et al., 2006).

A quantidade de *pixels* de uma imagem indica o tamanho da mesma. O tamanho da imagem digital se refere tanto à quantidade de detalhes visíveis (resolução espacial), quanto ao número de cores presentes na imagem (profundidade de cor). Quanto maior for a quantidade de *pixels*, maior será o tamanho da imagem digital e melhor será a qualidade de detalhes (LOUREGA et al., 2006).

Uma imagem é a representação gráfica de objetos do mundo real. A imagem monocromática pode ser definida como uma função bidimensional $f(x,y)$ (Figura 6a), em que x e y são coordenadas espaciais, e a amplitude de f em qualquer par de coordenadas (x,y) é denominada de intensidade ou nível de cinza da imagem neste ponto. Uma imagem

digital é uma imagem cujos (x,y) e os valores de f são finitos e discretos, ou seja, esta imagem foi discretizada tanto nas suas coordenadas espaciais quanto nos níveis de cinza (brilho)(Figura 6b).

Figura 6 – Imagem digital: a) $f(x,y)$ corresponde os pixels da imagem. b) Representação bidimensional da imagem como matriz de pontos.



Fonte: (BASTOS, 2001; QUEIROZ; GOMES, 2006)

A imagem digital pode ser vista como uma matriz, conforme a Figura 7, cujas linhas e colunas identificam um ponto na imagem e o valor corresponde ao nível de cinza da imagem naquele ponto (GONZALEZ; WOODS, 2010; LOUREGA et al., 2006).

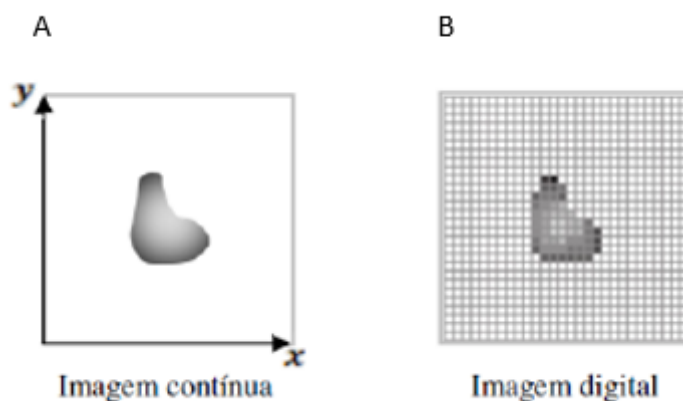
Figura 7 – Matriz bidimensional que representa uma imagem digital

$$f(x, y) = \begin{bmatrix} f(1,1) & f(1,2) & \dots & f(1,m) \\ f(2,1) & f(2,2) & \dots & f(2,m) \\ \vdots & \vdots & \vdots & \vdots \\ f(n, 1) & f(n, 2) & \dots & f(n, m) \end{bmatrix}$$

Fonte: (JÚNIOR; SOARES, 2019)

A transformação de uma imagem contínua (Figura 8 a) em uma imagem digital (Figura 8 b) se dá através da discretização espacial (amostragem) e da discretização em amplitude (quantização). A amostragem converte a imagem analógica em uma matriz de m por n pontos (*pixels*) e a quantização faz com que cada um desses *pixels* assumam um valor inteiro (GONZALEZ; WOODS, 2010).

Figura 8 – Transformação da imagem contínua em imagem digital



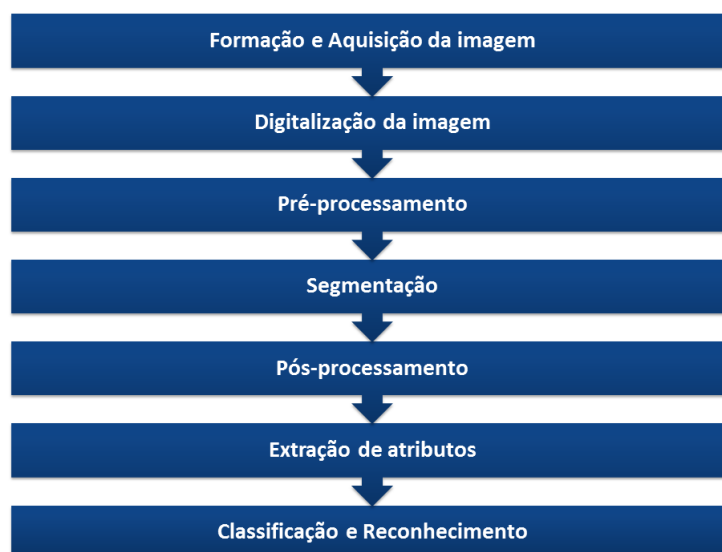
Fonte: (GONZALEZ; WOODS, 2010)

A amostragem refere-se ao número de pontos amostrados de uma imagem digitalizada, ou seja, a sua resolução e a quantização refere-se à quantidade de níveis de tons que pode ser atribuído a cada ponto digitalizado.

3.3.2 Etapas do processamento de imagens

Um sistema de processamento de imagens é composto por diversas etapas, tais como: formação e aquisição da imagem, digitalização, pré-processamento, segmentação, pós-processamento, extração de atributos, classificação e reconhecimento, conforme o fluxograma da Figura 9 (GONZALEZ; WOODS, 2010).

Figura 9 – Fluxograma de um Sistema de Processamento de Imagens



Fonte: O autor (2029).

3.3.2.1 Formação, aquisição e digitalização da Imagem

Para a aquisição de uma imagem digital, dois elementos são necessários. O primeiro consiste em um dispositivo físico sensível ao espectro de energia eletromagnética. Este dispositivo transdutor deve produzir na saída um sinal elétrico proporcional ao nível de energia percebido. O chamado digitalizador é o segundo elemento, que converte o sinal elétrico analógico produzido na saída do sensor em um sinal digital (GONZALEZ; WOODS, 2010).

3.3.2.2 Pré-processamento

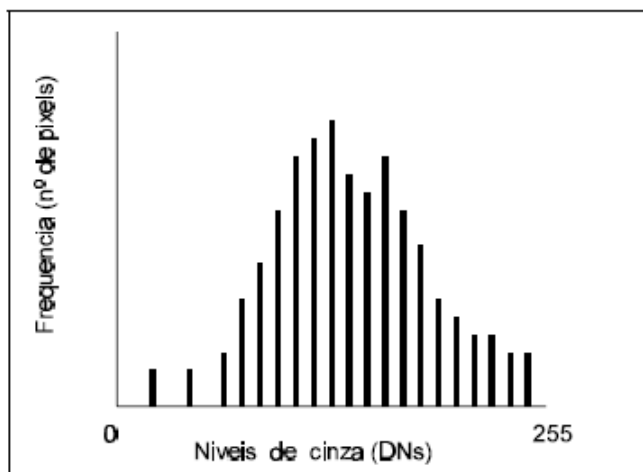
A etapa de pré-processamento tem o objetivo de melhorar a qualidade da imagem. Esta etapa envolve duas categorias principais: métodos que atuam no domínio espacial e métodos que atuam no domínio frequência. No domínio espacial, as técnicas de pré-processamento baseiam-se em filtros que manipulam o plano da imagem. Já no domínio frequência, as técnicas se baseiam em filtros que alteram o espectro da imagem. O processo de realce de determinadas características de uma imagem, por exemplo, combina métodos que pertencem a estas duas (GONZALEZ; WOODS, 2010). O termo realce de uma imagem quer dizer que a imagem ajustada é uma versão otimizada da original. A grande parte das operações de realce da imagem são aplicadas para tornar a imagem visualmente mais definida (SOARES, 2019).

Alguns tipos de imagens nem sempre utilizam toda a escala disponível de níveis de cinza. Elas podem ser mais escuras ou claras e podem apresentar muito ou pouco contraste em determinadas áreas. Mesmo que o brilho e o contraste possam ser determinados visualmente, o histograma de uma imagem é um artefato vantajoso para verificar quais valores de cinza disponíveis a imagem está utilizando (SOARES, 2019; FILHO; NETO, 1999).

O histograma de uma imagem é basicamente um conjunto de números indicando o percentual de *pixels* na imagem que apresentam um determinado nível de cinza. Estes valores são geralmente representados por um gráfico de barras que especifica para cada nível de cinza o número (ou percentual) de *pixels* correspondentes na imagem. Através da visualização do histograma da imagem é possível verificar a sua qualidade quanto ao nível de contraste e quanto ao seu brilho médio (se a imagem é predominantemente clara ou escura) (FILHO; NETO, 1999). Os histogramas também são conhecidos como distribuição de intensidades e função de densidade de probabilidade. Esta última denominação devido ao fato de que, em termos estatísticos, o histograma representa a probabilidade de um *pixel* da imagem apresentar um nível de cinza (FILHO; NETO, 1999; CRÓSTA, 1999). Outro ponto importante sobre os histogramas é que eles representam dados digitais, ou seja, dados discretos. Desta forma, a representação da distribuição de intensidades é feita por colunas discretas (Figura 10), que não podem ser divididas e correspondem à números

inteiros (CRÓSTA, 1999).

Figura 10 – Exemplo de um histograma de uma imagem



Fonte: (CRÓSTA, 1999)

Como pode ser visto na Figura 10, que é o exemplo de um histograma de uma imagem de 8 bits (tons de cinza variam entre 0 e 255), a altura da barra (eixo das ordenadas) para cada nível de cinza, indica a frequência de *pixels* com este nível de cinza na imagem. Enquanto que o espalhamento ao longo do eixo dos níveis de cinza (eixo das abscissas) é diretamente proporcional ao contraste da imagem.

3.3.2.3 Segmentação

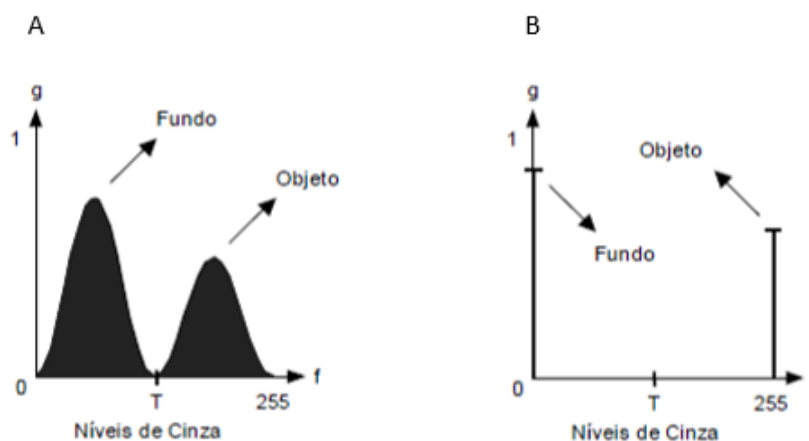
O processo de segmentação de uma imagem é fundamental para a extração e identificação de objetos ou áreas de interesse, do mesmo modo que permite reduzir a informação da imagem com o objetivo de manusear objetos simples que geralmente correspondem a linhas ou regiões de interesse. A segmentação consiste em separar a imagem como um todo, nas partes que a constituem e que se diferenciam entre si. De modo simplificado, o processo de segmentação de uma imagem significa a divisão de uma imagem em regiões de atributos similares (MORGAN et al., 2008). Dividem-se em duas categorias, "objetos" e "fundo". Os "objetos" são o grupo de *pixels* de interesse na imagem, enquanto que "fundo" refere-se ao grupo de *pixels* que pode ser desprezado. Essas denominações possuem conotação subjetiva, pois nem sempre os "objetos" referem-se a um grupo de *pixels* que formam um objeto na imagem. As duas abordagens adotadas são: segmentação baseada em intensidade e segmentação baseada em região (CARDOSO, 2014; GONZALEZ; WOODS, 2010).

A segmentação baseada em intensidade é conceitualmente a abordagem mais simples. Ela é realizada de acordo com a distribuição estatística dos *pixels* na forma de

histograma com o objetivo de identificar os *pixels* que pertencem ao objeto de interesse e os que constituem o "fundo". Uma das estratégias desta abordagem é a limiarização (CARDOSO, 2014).

A limiarização é baseada na separação das regiões de uma imagem quando esta apresenta duas classes (objeto e fundo). O processo de limiarização apresenta na saída uma imagem binária e, por isso, geralmente, é denominado binarização. A forma mais simples deste processo consiste na divisão do histograma, convertendo os *pixels* cujo nível de cinza é maior ou igual a um determinado valor de limiar (T) em brancos e os demais em pretos, como pode ser visto na Figura 11.

Figura 11 – Limiarização de uma imagem monocromática utilizando limiar T: (a) histograma original, (b) histograma da imagem binarizada.



Fonte: (FILHO; NETO, 1999)

Uma limitação básica da limiarização é a transformação de uma imagem com muitos níveis de cinza em uma com menos níveis de cinza, geralmente dois. Esta conversão é realizada, normalmente, pela substituição de uma intensidade de *pixels* por valores de referência (branco e preto). É uma etapa simples, visto que existem poucos objetos de interesse na imagem, cuja forma é mais relevante do que propriedades de superfície, tais como textura por exemplo, e o brilho médio é mais elevado ou mais baixo do que os outros elementos da imagem (CARDOSO, 2014).

A segmentação baseada em região assume que um *pixel* não pode ser considerado como uma parte de um objeto. Esta abordagem é fundamentada nos parâmetros de adjacência e conectividade entre *pixels* vizinhos, com a finalidade de estabelecer quais *pixels* pertencem a uma mesma região (objeto) ou não. Regiões são consideradas conjuntos de *pixels* adjacentes que se espalham bidimensionalmente e apresentam invariabilidade em relação a um determinado atributo. Essa divisão em regiões pode ser realizada de três formas: crescimento de regiões, detecção de bordas, ou a combinação das duas. Crescimento e

divisão de regiões são duas das estratégias baseadas nesta abordagem (CARDOSO, 2014; MORGAN et al., 2008).

O crescimento de regiões tem como finalidade identificar o crescimento de regiões conexas a partir dos *pixels* e estabelecer um critério de interrupção no crescimento, onde por fim cada região represente um objeto. Determinar os critérios de similaridade dos *pixels*, como cor, textura, gradiente e intensidade dos níveis de cinza em imagens monocromáticas, por exemplo, e definir o limite de crescimento da região são alguns dos parâmetros importantes desta estratégia (CARDOSO, 2014; MORGAN et al., 2008).

A divisão de regiões, conhecida como *Split-and-merge*, é baseada na divisão da imagem em subimagens ou regiões homogêneas. Este processo pode resultar em regiões similares que, neste caso, são fundidas ou subdivididas em novas regiões homogêneas, onde no final cada região represente um objeto (CARDOSO, 2014).

3.3.2.4 Pós-processamento

É a etapa que sucede a segmentação e que todos os defeitos e imperfeições da segmentação são devidamente corrigidos. Normalmente, estes defeitos são reparados através da utilização de técnicas de morfologia matemática, com a aplicação em sequência de filtros morfológicos que realizam uma análise quantitativa dos *pixels* da imagem, eliminando falhas ou separando objetos distintos (GONZALEZ; WOODS, 2010).

3.3.2.5 Extração de atributos

É uma das etapas finais do sistema de processamento de imagens e na qual se extrai as informações úteis da imagem processada. A extração de atributos de uma imagem é realizada quando o objetivo do processamento é se obter informações numéricas, tais como a forma, textura e intensidade. Os atributos quantitativos em imagens digitais podem ser relacionados à forma ou morfológicos, de intensidade ou de textura, sendo amplamente utilizados em sistemas de auxílio computadorizado ao diagnóstico (GONZALEZ; WOODS, 2010).

Texturas podem ser consideradas como um conjunto de padrões que ocorrem na natureza, apresentando repetições ou não. Estes padrões podem ser vistos em paredes de tijolos com estruturas repetitivas ou em formações geológicas, exemplificando texturas não repetitivas. Atributos de textura são aqueles relacionados à distribuição espacial dos níveis de cinza dos *pixels* de uma região como, por exemplo, homogeneidade, entropia e variância. As características de textura de uma imagem fundamentam-se em estatísticas com distribuição de frequência relativa das intensidades dos *pixels* (HARALICK; SHANMUGAM; DINSTEN, 1973).

A análise de imagens e extração de suas características através da abordagem es-

tatística permite uma descrição da mesma através de medidas estatísticas que comandam a distribuição e a relação entre os seus níveis de cinza. Diversos tipos de características, como média, variância, desvio padrão, energia e entropia podem ser extraídas de uma distribuição de níveis de cinza, geralmente utilizando imagens de 8 bits (256 níveis de cinza). No entanto, a abordagem estatística é classificada em dois tipos mais relevantes: abordagem estatística de primeira ordem e segunda ordem.

- Abordagem estatística de primeira ordem - é baseada na distribuição de níveis de cinza de uma imagem, onde as características (média, desvio padrão, coeficiente de assimetria e de curtose) são extraídas a partir de um histograma de primeira ordem. Este histograma fornece as probabilidades de ocorrência dos níveis de cinza da imagem, sem a preocupação com a localização espacial.
- Abordagem estatística de segunda ordem - considera o posicionamento espacial relativo da ocorrência dos níveis de cinza de uma imagem. Permite diferir imagens que contenham uma mesma quantidade de níveis de cinza, divergindo apenas o posicionamento dos mesmos.

Uma metodologia de classificação de imagens a partir de estatística de segunda ordem foi descrita por HARALICK et al. (1973). Nessa metodologia são definidas diversas características provenientes do cálculo de matrizes de coocorrência, que são matrizes que computam as ocorrências de níveis de cinza de uma imagem. Essas características auxiliam na diferenciação de texturas que não contêm um padrão repetitivo (HARALICK; SHANMUGAM; DINSTEIN, 1973), são elas:

- Segundo momento angular (SMA) - também conhecido como energia ou uniformidade, mede a uniformidade da textura, ou seja, a quantidade de repetições de pares de *pixels*. Uma imagem homogênea possui poucas transições de níveis de cinza. Essa medida assume valores elevados quando os valores da matriz de coocorrência estiverem concentrados, ou seja, quando houver grande repetição na variação dos níveis de cinza (HARALICK; SHANMUGAM; DINSTEIN, 1973; ITO; KIM; SALCEDO, 2009). A Equação 3.1 descreve o SMA é:

$$SMA = \sum_{i=0}^{n-1} \sum_{j=0}^{n-1} [P(i, j, d, \theta)]^2 \quad (3.1)$$

- Contraste ou Variância - mede a quantidade de variação local dos níveis de cinza de uma imagem. Se o valor do contraste for pequeno, significa que há pequena variação

entre os níveis de cinza de uma região contígua da imagem. A Equação 3.2 descreve o contraste.

$$\text{Contraste} = \sum_{i=0}^{n-1} \sum_{j=0}^{n-1} (i-j)^2 P(i, j, d, \theta) \quad (3.2)$$

- Entropia - mede o grau de desordem dos níveis de cinza de uma imagem. A entropia em conjunto com o SMA são utilizados como medida da homogeneidade de uma imagem. Esse parâmetro assume valores elevados quando a imagem possui uma textura não uniforme. A entropia e o SMA estão estreitamente relacionados, porém, de maneira inversa (HARALICK; SHANMUGAM; DINSTEIN, 1973; ITO; KIM; SALCEDO, 2009). A Equação 3.3 descreve a entropia.

$$\text{Entropia} = \sum_{i=0}^{n-1} \sum_{j=0}^{n-1} P(i, j, d, \theta) \log_2 [P(i, j, d, \theta)] \quad (3.3)$$

- Correlação - representa a dependência linear dos níveis de cinza de uma imagem (HARALICK; SHANMUGAM; DINSTEIN, 1973). O valor de correlação é alto quando uma imagem possui uma ordenação local de níveis de cinza. A Equação 3.4 descreve a correlação.

$$\text{Correlação} = \frac{\sum_{i=0}^{n-1} \sum_{j=0}^{n-1} ij P(i, j, d, \theta) - \mu_x \mu_y}{\sigma_x \sigma_y} \quad (3.4)$$

- Homogeneidade - também chamado de Momento da diferença inversa (MDI), esse parâmetro mede a homogeneidade de uma imagem. Essa medida é sensível a valores próximos à diagonal da matriz de coocorrência, e conseqüentemente, ao baixo contraste da textura. A homogeneidade é uma medida inversamente relacionada com o Contraste e a Energia da imagem (HARALICK; SHANMUGAM; DINSTEIN, 1973; ITO; KIM; SALCEDO, 2009). A Equação 3.5 descreve a correlação.

$$\text{Homogeneidade} = \sum_{i=0}^{n-1} \sum_{j=0}^{n-1} \frac{1}{1 + (i-j)^2} P(i, j, d, \theta) \quad (3.5)$$

Alés dessas, existem outras características que também auxiliam na descrição da textura de uma imagem, porém, com o passar do tempo, algumas não são mais tão utilizadas. As com maior relevância foram descritas anteriormente.

3.3.2.6 Classificação e reconhecimento

O reconhecimento objetiva realizar, de forma automática, a identificação dos objetos segmentados na imagem. Na classificação de formas, existem duas etapas: o aprendizado e o reconhecimento. Na grande maioria dos sistemas de reconhecimento de formas,

os parâmetros oriundos da extração de atributos são utilizados para constituir um espaço de medida a N dimensões. O aprendizado define uma função discriminante que separe todas as formas representadas neste espaço de medida (GONZALEZ; WOODS, 2010).

4 ESTADO DA ARTE E TRABALHOS CORRELATOS

Este capítulo apresenta uma revisão dos métodos utilizados para caracterização do estímulo olfativo e validação dos olfatômetros desenvolvidos desde 2010.

4.1 MÉTODOS DE CARACTERIZAÇÃO DO ESTÍMULO OLFACTIVO

Os estímulos olfativos são compostos por um conjunto de moléculas de odor que possuem diferenças entre seus componentes (BUSHDID et al., 2014). O nariz humano é capaz de detectar e diferir milhares de odores, tanto complicadas combinações naturais como também moléculas puras sintetizadas em laboratório (AGAPAKIS; TOLAAS, 2012). No entanto, estudar este tipo de estímulo ainda é um desafio, pois além de ser de curta duração, a percepção das moléculas muda ao longo do tempo. Por este motivo, estabilidade e controle do estímulo são fundamentais para uma satisfatória apresentação do odor (LUNDSTRÖM et al., 2010).

São utilizados diversos métodos para análise e caracterização do estímulo olfativo, os quais também servem para a validação dos sistemas/equipamentos utilizados. A Tabela 4 mostra os autores, os parâmetros analisados e os métodos utilizados. Eles avaliaram parâmetros como fluxo de ar, resposta temporal do sistema e reprodutibilidade da amostra, e a partir dos resultados, validaram os sistemas.

Tabela 4 – Métodos de Caracterização do Estímulo Olfativo

Referências		Parâmetros avaliados			Métodos utilizados
Autor	Ano	Fluxo de ar	Resolução temporal	Reprodutibilidade da amostra	
Lundström et. al.	2010	-	Sim	-	Detector fotoionização
		-	-	Sim	Cromatografia gasosa/ Espectrometria de massa
Soomer et. al.	2012	Sim	-	-	Anemômetro de fio quente/ Medidor fluxo de massa
Sezille et. al.	2013	-	-	Sim	Detector de fotoionização
Mondini et. al.	2014	-	Sim	-	Sensor de oxigênio
		-	-	Sim	Processamento Digital de Imagens
Fachel et. al.	2015	Sim	-	-	Anemômetro de fio quente
		-	-	Sim	Espectrometria ultravioleta
Bestgen et. al.	2016	-	Sim	-	Espectrometria de massa
		-	-	Sim	Espectrometria de massa
Karunanayaka et. al.	2017	-	Sim	-	Detector de fotoionização
Este trabalho	2019	Sim	Sim	Sim	Processamento Digital de Imagens

Fonte: O autor (2019).

4.1.1 Fluxo de ar

Em 2012, Sommer e colaboradores mediram os parâmetros de velocidade e fluxo do ar utilizando um anemômetro de fio quente (SOMMER et al., 2012), que é um dispositivo utilizado para medições de velocidade do ar em baixos fluxos. O olfatômetro de Sommer fornece pulsos de fluxo de ar em forma de onda trapezoidal com tempos de subida e descida de cerca de 120 milissegundos após a troca da válvula. Esse atraso é estável, desde que não seja feita nenhuma alteração no fluxo de entrada de ar. A estabilidade do estímulo é afetada apenas pela qualidade e constância do ar fornecido. Usando um medidor de fluxo padrão, o fluxo de ar é constante a $2 \pm 0,1$ l/min durante 1 hora. As diferenças do fluxo de ar entre os frascos de controle e de odor ficaram abaixo de 6% e não foram percebidas pelos sujeitos se o fluxo de ar foi desligado antes da troca.

Do mesmo modo, em 2015, Fachel e colaboradores mediram velocidade e fluxo de ar utilizando um anemômetro de fio quente (FACHEL, 2015) e concluíram que as três válvulas do olfatômetro poderiam ser abertas individualmente ou simultaneamente.

4.1.2 Reprodutibilidade da amostra

A percepção do odor está estreitamente ligada à sua concentração, por isso, reprodutibilidade da amostra ao longo do tempo é um parâmetro essencial para validar o funcionamento dos olfatômetros. Lundström e colaboradores, em 2010, mediram a repetitividade da amostra por dois métodos. O primeiro método consistiu em comparar as concentrações absolutas medidas, através de cromatografia gasosa junto com primeiras sete apresentações de estímulo e durante as últimas sete, de um total de sessenta apresentações. Através do detector de foto-ionização, o segundo método consistiu em medir a variação nas concentrações durante o experimento, obtendo uma variação de 0,5% entre o primeiro e último minutos do experimento (LUNDSTRÖM et al., 2010). Sezille e associados utilizaram um detector de foto-ionização para avaliar a reprodutibilidade da amostra e detectou que devido à baixa sensibilidade deste dispositivo, não foi possível examinar a constância do odor e nem o tempo que o indivíduo levou para perceber o odor (SEZILLE et al., 2013).

Em 2014, Mondini e colaboradores utilizaram um método de processamento de imagens para avaliar a reprodutibilidade da amostra (MONDINI et al., 2014). As amostras foram geradas pela unidade de controle (micronebulizador convencional) e pela unidade experimental (protótipo desenvolvido). Essas amostras foram digitalizadas com um *scanner* HP Scanjet G4050 e a partir das imagens, extraído o centro óptico de cada imagem, gerando novas imagens de formato quadrado (2cm x 2cm) para posterior análise. A reprodutibilidade da amostra foi analisada pela análise da intensidade dos *pixels*, com base nos gráficos de perfil de *pixels*, histogramas e dados estatísticos (média e desvio padrão).

Em 2015, Fachel e colaboradores utilizaram espectrometria ultravioleta para avaliar a reprodutibilidade da amostra (FACHEL, 2015). Os resultados demonstraram que houve uma diferença aproximada de 10 ug entre o valor teórico estimado (30 g/ml) e o valor obtido (entre 19 e 22 g/ml) com os testes. Essa diferença pode ter ocorrido devido à perda de substância durante o percurso da amostra ou até mesmo por uma limitação do sistema analítico. Apesar desta limitação, o sistema demonstrou repetibilidade intra-amostra, pois os resultados entre as repetições tiveram pouca variação (desvio Padrão - Amostrador 1: 0,59 g/ml; Amostrador 2: 0,17 g/ml; e Amostrador 3: 0,39 g/ml) e uma ligeira variação na repetibilidade inter-amostra (desvio Padrão - 1,36 g/ml). Essa variação, pode ter sido ocasionada até mesmo por uma limitação técnica referente ao sistema de avaliação por ultravioleta inédito para esta aplicação.

Através de um espectrômetro de massa/ ionização química, Bestgen e colaboradores analisaram a reprodutibilidade da amostra, avaliando a estabilidade da concentração de odores, medindo a porcentagem de flutuação em torno do platô de concentração ao longo do tempo e obtendo uma concentração estável de 0,97 ppm (desvio padrão 0,01), com flutuação inferior a 5%, ao longo de 1 minuto (BESTGEN et al., 2016).

4.1.3 Resolução temporal

Lundström e associados, em 2010, avaliaram o parâmetro de resolução temporal do olfatômetro (LUNDSTRÖM et al., 2010), que consiste no tempo que a amostra demora para percorrer a distância do amostrador até o nariz do paciente. Eles utilizaram um detector de fotoionização e obtiveram um resultado de 160 milissegundos (desvio padrão 2 milissegundos). Em 2014, Mondini e colaboradores mediram a resolução temporal do olfatômetro para quatro fluxos diferentes (4 l/min, 6 l/min, 8 l/min e 10 l/min), através de um sensor de oxigênio posicionado no final do sistema (MONDINI et al., 2014). Após a realização do experimento, foi concluído que o fluxo de 4 l/min é suficiente para que a amostra chegue ao nariz do paciente com um tempo de 700 milissegundos. Em 2016, Bestgen e associados utilizaram espectrometria de massa para medir a resolução temporal do olfatômetro (BESTGEN et al., 2016). Neste caso, a resolução temporal é vista como latência para alcançar o platô de concentração a partir da liberação de odor, obtendo 350, 600 e 1000 milissegundos para alcançar 50%, 75% e 95% do platô de concentração, respectivamente.

Assim como os autores citados acima, em 2017, Karunanayaka e associados também mediram a resolução temporal do olfatômetro através de um detector de fotoionização (KARUNANAYAKA et al., 2017). Nesse caso, porém, a resposta temporal consiste no tempo que o olfatômetro leva para comutar o odor entregue, obtendo uma média de 6 segundos.

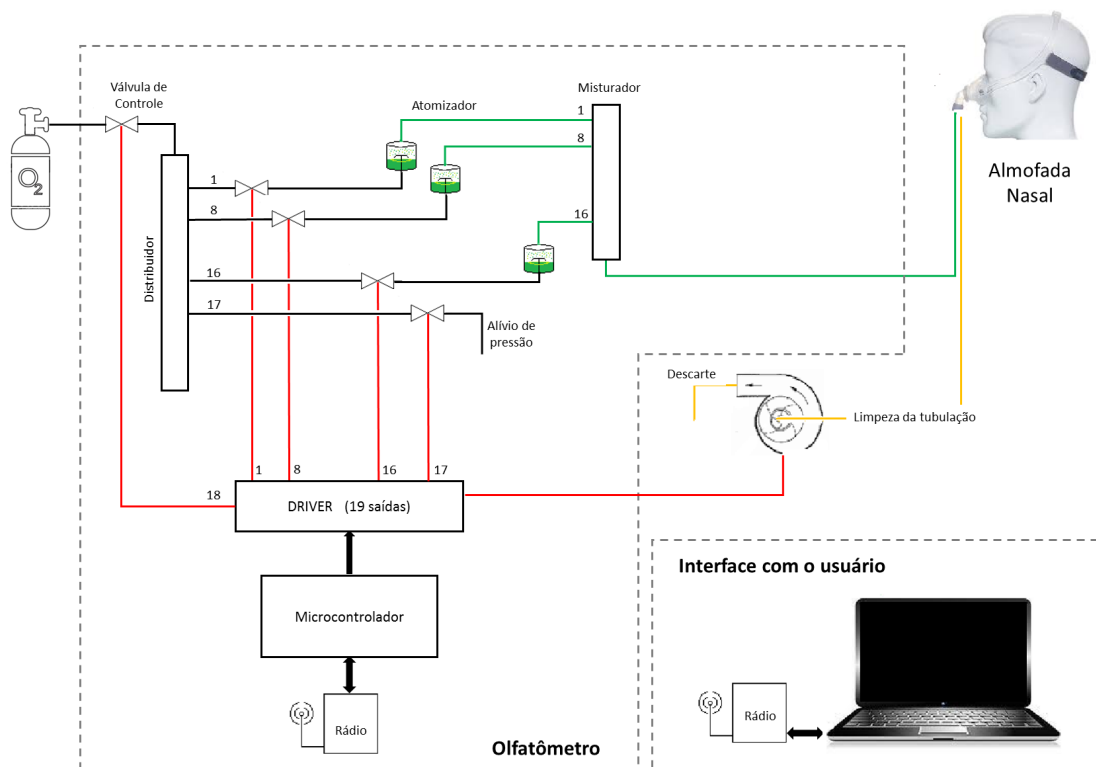
5 A TÉCNICA PROPOSTA

A proposta deste trabalho surgiu da dificuldade dos profissionais da saúde em fornecer um estímulo olfativo uniforme durante os testes psicofísicos. Aplicados inteiramente de forma manual, estes testes não mantêm um padrão de parâmetros como tempo de estimulação, reprodutibilidade da amostra e resolução temporal. Por esta razão, este trabalho se propõe a desenvolver um sistema capaz de realizar uma entrega controlada e padronizada de estímulo olfativo, caracterizando e avaliando seus parâmetros. Neste contexto, o sistema também permite a realização de testes de avaliação olfativa, analisando não só o limiar olfativo, como também a discriminação e identificação de odores.

5.1 Sistema de estímulo olfativo

O sistema de estímulo olfativo é composto de um olfatômetro e de uma interface com o usuário. Para um melhor detalhamento e visualização do olfatômetro, o diagrama de blocos do sistema é apresentado abaixo na Figura 12.

Figura 12 – Diagrama de Blocos do Olfatômetro

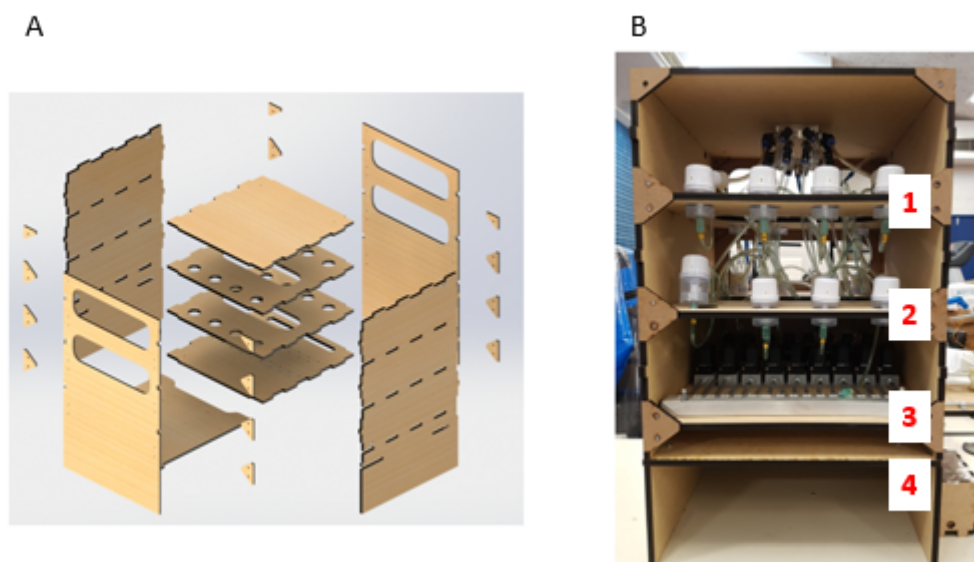


Fonte: O Autor (2019).

Alguns componentes do sistema de estímulo olfativo como as válvulas de controle de fluxo, *hardware* de acionamento e os amostradores, foram armazenados em uma estrutura chamada olfatômetro (representada pela área maior pontilhada na Figura 12). Esta estrutura foi projetada com o *software* SOLIDWORKS® e confeccionada em madeira (Figura 13 (a)). A estrutura possui prateleiras internas para suporte dos componentes, rodas e puxadores que possibilitam a sua mobilidade. Além disso ela também possui dois orifícios para entrada e saída de mangueiras, as quais levam o estímulo olfativo até o indivíduo.

A estrutura do olfatômetro foi confeccionada em madeira MDF (*Medium Density Fiberboard*), com chapas de 9,5 mm de espessura. As chapas foram cortadas pela corte à laser do Laboratório de Fabricação da Escola Politécnica da PUCRS e, posteriormente, montadas, sendo algumas partes coladas com cola específica para madeira e outras, fixadas com parafusos M3 x 16 mm. A estrutura tem a base quadrada de, aproximadamente, 400 mm de lado e altura de 650 mm, e possui quatro prateleiras internas, nas quais foram dispostos os componentes do sistema, conforme a Figura 13 (b).

Figura 13 – Estrutura do olfatômetro: a) Imagem do projeto em SOLIDWORKS; b) Estrutura em madeira montada (400x400x650).



Fonte: O Autor (2019).

Nas prateleiras 1 e 2 estão dispostos os amostradores (8 em cada uma) sob configuração matricial 2x4. Na prateleira 3 estão as válvulas de controle de fluxo e o distribuidor metálico de ar e na prateleira 4, foi colocado o *hardware* de acionamento e controle do sistema. Na altura da prateleira 4 foram confeccionadas duas aberturas, uma de cada lado, para possibilitar o fácil acesso ao *hardware*. Ainda nas partes frontal e traseira, a

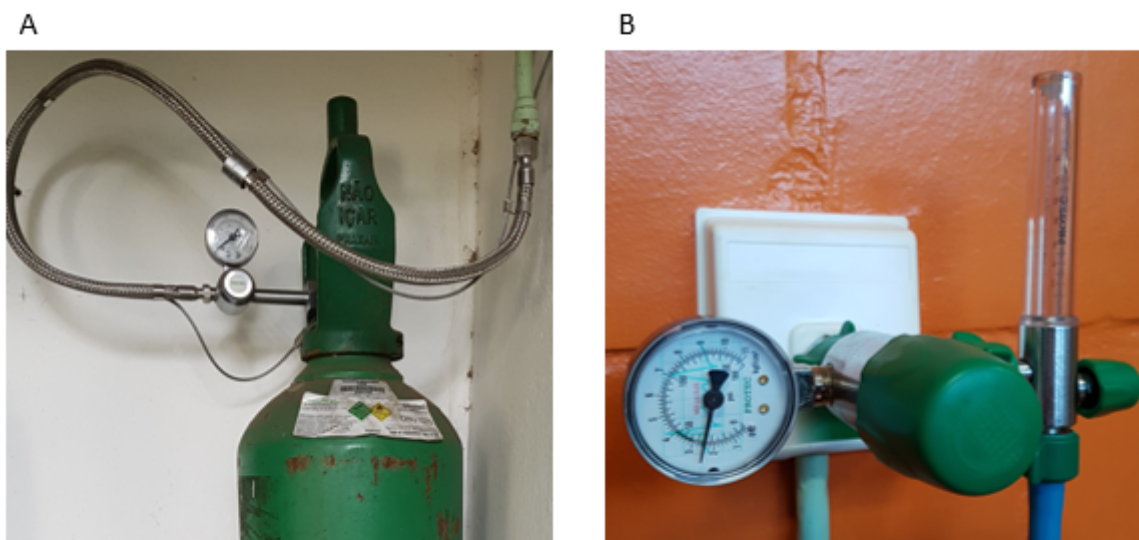
estrutura também possui outras aberturas na altura das prateleiras 1 e 2 para que os amostradores sejam facilmente acessados e manipulados, caso necessário.

5.1.1 Gerador de aerossol

O gerador de aerossol é a parte do sistema responsável pelo transporte da amostra aromática (atomização), forçando a passagem de ar por um tubo capilar, e assim realizando o arrasto das moléculas até o indivíduo. Para este processo, é necessário que o gerador de aerossol seja capaz de fornecer fluxo de ar e pressão constantes. Devido à sua tecnologia consolidada e registro na Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), foi utilizado um cilindro de oxigênio medicinal da marca *Air Procuts* (Figura 14 (a)), acoplado a um regulador de pressão e um fluxômetro de oxigênio 0-15 LPM, da marca Protec, (Figura 14 (b)) padrão para esta aplicação.

O fluxômetro de oxigênio trata-se de um dispositivo composto por um tubo e um flutuador em formato de esfera. O tudo possui formato cônico, e seu funcionamento é simples, a medida que a esfera flutua para a área mais aberta deste tubo, mais ar é liberado. Como o tubo do fluxômetro de oxigênio é graduado, a medida é feita pelo meio da esfera flutuante, que permite informar o quanto de gás está sendo liberado. A escala de um fluxômetro de oxigênio varia de 0 a 15 litros por minuto, conforme a Figura 14 (b).

Figura 14 – Gerador de aerossol: a) cilindro de oxigênio medicinal; b) regulador de pressão e fluxômetro.



Fonte: O Autor (2019).

O oxigênio medicinal 21% é um gás medicinal criogênico e foi escolhido como

responsável por levar a substância odorífera até o nariz do paciente por ser exclusivo para uso medicinal. Também pode ser usado para conduzir medicamentos, através de inalações, sendo o gás mais utilizado dentro de hospitais, clínicas de saúde ou outros locais de interesse à saúde, bem como em tratamentos domiciliares de paciente.

5.1.2 Controle do estímulo olfativo

Para o controle do estímulo olfativo foram utilizadas 18 válvulas mini solenóide, da marca PECROLL, disponíveis comercialmente, conforme a Figura 15.

Figura 15 – Válvula mini solenóide.



Fonte: O Autor (2019).

Cada uma foi acionada de forma individual com fluxo de ar e pressão determinados constantes. O oxigênio medicinal chega ao sistema pela lateral do olfatômetro, através de uma mangueira autoclavável PVC (policloreto de vinil), passa pelas válvulas e dirige-se para os amostradores. Esta mangueira foi conectada, através de um conector de engate rápido, a um distribuidor de ar metálico, onde todas as válvulas foram conectadas por meio de fragmentos de, aproximadamente 100 mm, da mesma mangueira.

5.1.3 Amostradores

Os amostradores são a parte do sistema na qual as amostras odoríferas ficam armazenadas. Esses amostradores possuem um tubo capilar capaz de atomizar a amostra com a passagem do ar. Como a construção do capilar não é simples de ser executada, foram utilizados 16 copos nebulizadores com o capilar já acoplado (iguais ao da Figura 16), da marca NS, com registro na ANVISA e disponíveis comercialmente. Estes copos nebulizadores são feitos de PP (Polipropileno) e plástico ABS (Acrilonitrila butadieno estireno), com capacidade máxima de 15 ml.

Figura 16 – Amostrador.



Fonte: O Autor (2019).

Conforme o diagrama de blocos do olfatômetro (Figura 12), para manter a pressão constante nos amostradores, duas válvulas são acrescentadas, uma de alívio (número 17) e uma válvula de segurança (número 18), para permitir interromper os testes a qualquer momento.

5.1.4 Entrega da amostra

A entrega da amostra é a junção dos amostradores ao nariz do indivíduo. Para o transporte do estímulo, foram utilizadas mangueiras autoclavável de PVC compatíveis com os conectores das válvulas e disponíveis comercialmente. O material das mangueiras é livre de contaminação para evitar que um aroma contamine algum outro durante os testes. O ar passa pelo amostrador, atomiza a amostra e segue em direção ao nariz do indivíduo. Para a entrega da amostra, foi utilizado um dispositivo chamado almofada nasal Swift ResMed[®], conforme a Figura 17.

Figura 17 – Dispositivo de entrega da amostra: almofada nasal Swift ResMed[®]



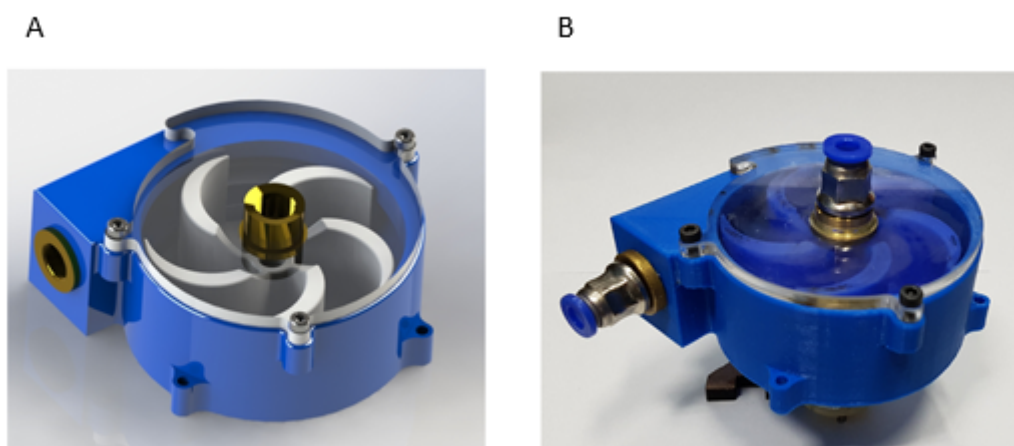
Fonte: Guia do Produto Site ResMed[®], 2014.

Esta almofada nasal tem acesso direto às narinas, reduzindo o risco de escape e perdas das essências aromáticas na entrega.

5.1.5 Limpeza da tubulação

Uma bomba centrífuga de vácuo foi projetada para efetuar a limpeza da tubulação e a remoção de quaisquer resquícios de substância aromática (ao final de cada teste). Este dispositivo foi essencial para este trabalho para evitar uma possível contaminação cruzada entre as amostras aromáticas, prejudicando o resultados dos testes olfativos. O projeto da bomba foi feito em SOLIDWORKS® (Figura 18 (a)) e ela foi confeccionada na impressora 3D (Figura 18 (b)). O corpo da bomba foi impresso em ABS, com 30 mm de altura, 85 mm de largura e 95 mm de comprimento.

Figura 18 – Bomba centrífuga: a) Projeto em SOLIDWORKS®; b) Bomba centrífuga montada.



Fonte: Guia do Produto Site ResMed®, 2014.

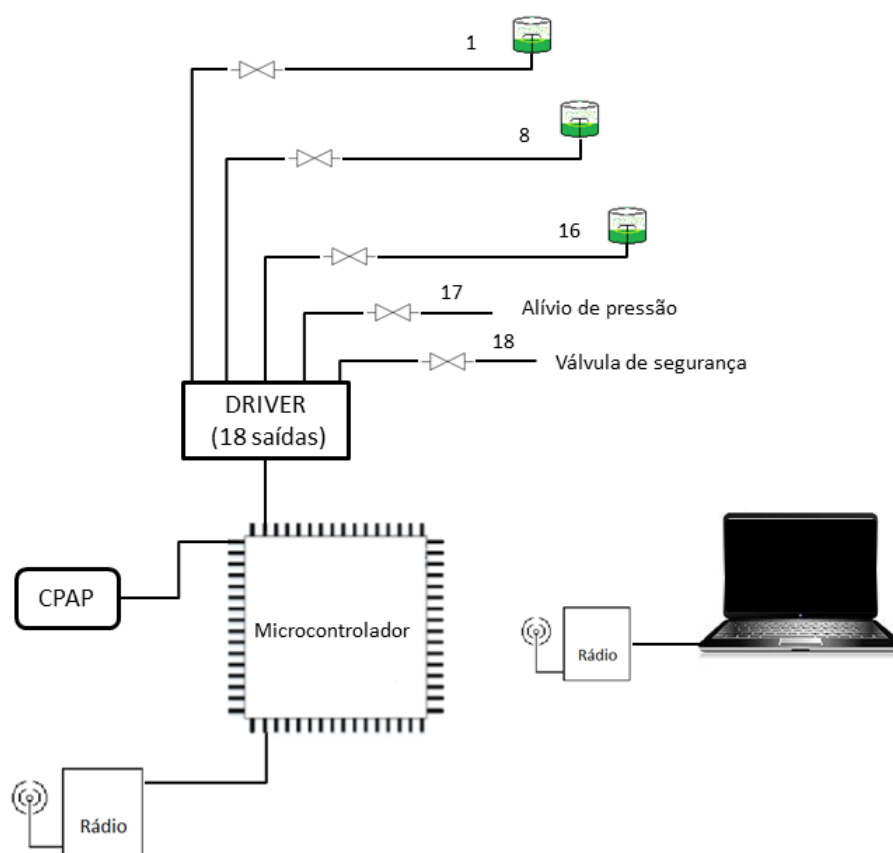
O rotor semi-aberto foi impresso em filamento PLA (poliácido-lático) com aletas longitudinais e com perfil retangular e parabólico. A cavidade onde foi instalada a hélice tem um diâmetro de 70 mm. Para conectar as mangueiras, foram utilizados conectores de engate rápido com rosca de 1/2 polegada, os mesmos utilizados nas válvulas. Estes conectores foram fixados através de uma peça usinada em latão, em torno mecânico. Para o acionamento da bomba foi acoplado um motor DC, 1200 rpm e 12V.

5.1.6 Sistema supervisor

O sistema supervisor é caracterizado por permitir que informações de um processo sejam monitoradas e rastreadas. Este tipo de sistema é capaz não somente de coletar

e manipular, bem como analisar, armazenar e apresentar os dados ao usuário. Além destas aplicações, são empregados em larga escala na indústria, em processos de automação industrial, utilizando estratégias de computação e comunicação para automatizar o controle e supervisão destes processos. A partir deste cenário, para o desenvolvimento deste trabalho foi escolhida uma ferramenta de desenvolvimento, na qual fosse possível a implementação deste tipo de sistema, visto que o mesmo é capaz de realizar a coleta de dados e apresentá-los de forma simples para o operador, promovendo assim, uma interface com o usuário acessível. O diagrama de blocos do sistema supervisorio pode ser visto na Figura 19.

Figura 19 – Diagrama de Blocos do Sistema Supervisorio



Fonte: O Autor (2019).

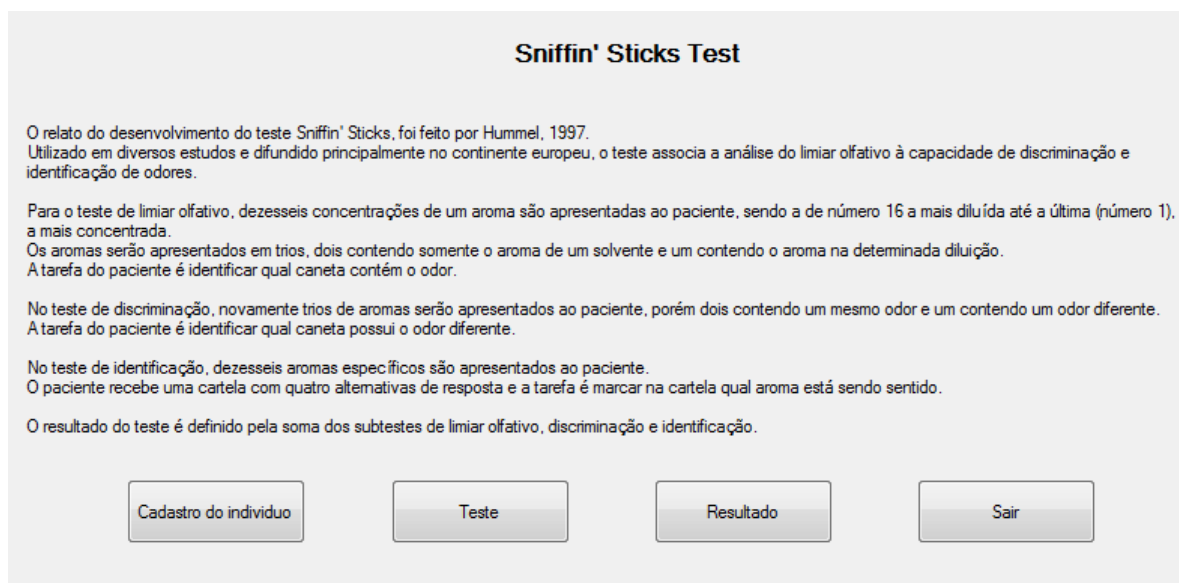
Nenhum dos sistemas/equipamentos de estímulo olfativo já desenvolvidos possui um sistema supervisorio que integre o controle do *hardware* e ainda possua um *software* capaz de realizar testes olfativos, possibilitando a avaliação olfativa através de um computador. Por esta razão, foi desenvolvida uma interface capaz de visualizar os dados de entrada e realizar o controle do processo de estímulo olfativo, reproduzir o teste olfativo *Sniffin' Sticks*, determinar o tempo de estimulação e o tempo de limpeza da tubulação, além de analisar os dados coletados e avaliar a capacidade olfativa do indivíduo, apresentando o resultado ao médico.

Dentre as diversas plataformas comerciais disponíveis, o VisualStudio foi adotado como ferramenta para o desenvolvimento deste sistema, que conta com uma interface visual para o controle e visualização de dados. O Microsoft Visual Studio é uma plataforma de desenvolvimento universal, IDE (*Integrated Development Environment*) profissional da Microsoft, que auxilia desde o projeto até o teste de sistemas mais complexos, e ainda oferece integração com *software* e *hardware* já implementados. O sistema supervisorio visualiza os dados de entrada e controla o acionamento das válvulas, de forma individual de acordo com o protocolo do teste olfativo. O acionamento das válvulas é realizado por um conjunto de relés, configuração normalmente aberto (NA), de 12V. O microcontrolador aciona um relé que, por sua vez, aciona a válvula desejada permitindo que o ar chegue até o amostrador que contém o aroma, através das mangueiras em posteriormente, ao nariz do indivíduo.

Para evitar cabeamento elétrico, a comunicação entre o sistema e o computador é feita através de uma porta de comunicação *wireless*, utilizando um dispositivo de rádio ZigBee. Para o controle do *hardware* foi utilizado o STM32F103, microcontrolador fabricado pela STMicroelectronics, que é um dispositivo de baixo consumo e baixo custo, possui 20kB de RAM, 37 GPIOs, porta serial (comunicação *wireless*), além de portas para comunicação I2C. Além disso, o sistema supervisorio possui uma interface gráfica, onde constam algumas informações sobre o sistema, como fluxo de ar e pressão do gerador de aerossol.

A interface inicia uma tela principal, conforme a Figura 20, com informações sobre o funcionamento do teste *Sniffin' Sticks* e quatro ícones. O primeiro ícone dá acesso à um formulário de cadastro do indivíduo, onde podem ser inseridos informações como nome, idade, sexo, profissão, data, escolaridade, e-mail, hábitos diário e histórico. Este formulário possui um botão para retornar ao menu principal, chamado Menu principal, um botão para salvar os dados do indivíduo, chamado Inserir e um botão Cancelar. O segundo abre um ambiente de configuração do teste, o terceiro abre uma tela onde podem ser visualizados os resultados e o último é o botão de encerramento do programa.

Figura 20 – Tela principal do sistema supervisorio.



Fonte: O Autor (2019).

O segundo ícone chamado Teste abre um ambiente de configuração que possibilita não só a escolha do subteste a ser realizado, como também permite visualizar a pressão e o fluxo de ar predefinidos, determinar o tempo de acionamento do sistema, de limpeza da tubulação e o tempo de duração do estímulo, conforme a Figura 21. Além disto, este ambiente também possui o mesmo ícone Menu principal que possibilita o retorno para o menu inicial.

Figura 21 – Tela de configuração.



Fonte: O Autor (2019).

Cada subtteste possui o seu próprio ambiente, conforme as Figuras 22, 23 e 24. Cada ambiente possui um ícone Iniciar que dá início ao protocolo de teste e um campo onde a resposta é digitada pelo médico. Contam inclusive com um botão Inserir que marca a resposta na tabela, e um botão de *Reset* que reinicia o teste. Estes ambientes contam ainda com um campo chamado *Score* onde o resultado é apresentado, e um campo chamado Tempo Oxigênio que mostra o tempo que o oxigênio levou do olfatómetro até o nariz do indivíduo, este Tempo Oxigênio representa a resposta temporal do sistema. Também possui um botão chamado limpeza para acionar o sistema de limpeza da tubulação. Além disto, contam com outros dois botões que permitem retornar à tela de configuração e ao menu principal. A Figura 22 mostra a tela referente ao subtteste limiar olfativo, que contém uma tabela específica, com 16 linhas e 7 colunas, de acordo com o protocolo para este subtteste.

Figura 22 – Ambiente do subtteste Limiar olfativo.

The screenshot displays the 'Limiar Olfativo' interface. At the top, there is a title 'Limiar Olfativo'. Below the title, on the left, is an 'Iniciar' button. In the center, there is a 'Resposta' input field. To the right of the input field are 'Inserir' and 'Reset' buttons. Below these elements is a table with 7 columns labeled 'Column1' through 'Column7' and 16 rows. The first cell of the first row is highlighted in blue. To the right of the table is a sidebar containing a 'Score' input field, a 'Tempo oxigênio' input field, and three buttons: 'Limpeza', 'Menu Principal', and 'Configuração'.

Fonte: O Autor (2019).

A Figura 23 mostra a tela referente ao ambiente do teste de discriminação de odores.

Figura 23 – Ambiente do teste de Discriminação de odores.



Fonte: O Autor (2019).

Na discriminação de odores, a tabela possui 3 linhas e 16 colunas, de acordo com o protocolo deste subteste. Neste caso, as respostas marcadas na segunda linha, ou seja, na linha do meio, são as corretas.

A Figura 24 mostra a tela referente ao ambiente do teste de identificação de odores. Neste caso, o subteste é composto por 16 tabelas menores, cada uma composta por 4 linhas e 2 colunas, uma de espaços vazios e outra com alternativas. As respostas da identificação de odores são comparadas a um gabarito já definido e corrigidas.

Figura 24 – Ambiente do teste Identificação de odores.



Fonte: O Autor (2019).

A interface computa a resposta e, conforme o teste é realizado, salva o resultado. Após o término do teste, o algoritmo calcula, através do botão Calcular *SCORE*, e mostra na tela de resultados um *score* para cada teste e o *score* final, também chamado de TDI (*Threshold, Discrimination and Identification Score*) (Figura 25).

O resultado (*score*) do teste do limiar olfativo é definido com a média dos últimos 4 dos 7 pontos de inversão de escada. O resultado do teste de discriminação é a soma dos acertos e, da mesma forma ocorre no teste de identificação de odores. O TDI *Score* final é equivalente a soma dos *scores* dos três subtestes. Se o TDI final for menor do que 15, o resultado é Anosmia. Se estiver entre 16 e 30, o resultado é Hiposmia e maior do que 30, caracteriza Normosmia.

Figura 25 – Tela de resultados.



Fonte: O Autor (2019).

Na tela de resultados também há um ícone Menu principal que possibilita o retorno para a tela inicial, um ícone Exportar Excel que permite os resultados serem exportados para uma planilha no Excel e, por fim, um ícone Sair que encerra o *software*.

5.2 Caracterização do estímulo olfativo

O método proposto de caracterização do estímulo olfativo consiste em utilizar técnicas de processamento digital de imagens para avaliar o fluxo de ar e a reprodutibilidade da amostra aromática. Estes dois parâmetros citados anteriormente, junto com a resposta temporal do sistema, validam o olfatômetro desenvolvido.

Primeiramente, para determinar o fluxo de ar que proporciona uma suficiente exposição ao estímulo olfativo e torná-lo padrão para o restante dos testes, foram realizados experimentos com a unidade de referência (nebulizador) e com a unidade experimental (olfatômetro). Foi escolhido como sistema de estímulo olfativo para a unidade de referência, um nebulizador convencional, da marca NS, por ser um equipamento validado, com tecnologia já consolidada e disponível comercialmente, além de ser utilizado em empresas de alimentos e em larga escala na administração de medicamentos na prática clínica e em hospitais. Para a unidade experimental, foi determinado como sistema de estímulo olfativo, o olfatômetro desenvolvido, com o propósito de compará-lo com o padrão de referência (nebulizador). No lugar do estímulo olfativo (substância aromática), foi utilizado uma substância corante para tornar a amostra visível e um anteparo (papel branco padrão) onde a amostra pôde ser depositada.

Posterior aos experimentos, as amostras foram digitalizadas para permitir o processamento digital das imagens. As amostras geradas com o nebulizador serviram como padrão de referência na comparação com as amostras geradas pelo olfatômetro. A avaliação do fluxo de ar foi feita através da contagem de *pixels* pretos segmentados das imagens digitalizadas do nebulizador e do olfatômetro.

Das mesmas amostras geradas pelo nebulizador e pelo olfatômetro, primeiramente, foram extraídos e comparados gráficos de perfil de *pixels* e histogramas, a fim de avaliar a reprodutibilidade e verificar o quão estáveis foram amostras geradas pelo olfatômetro. Os gráficos de perfil de *pixels* possibilitam visualizar os valores de intensidade (número) dos *pixels* ao longo da imagem, em escala de cinza, ou seja, o eixo das ordenadas corresponde a intensidade do *pixel* e o eixo das abscisas representa a distância ao longo do perfil da imagem. Através destes gráficos é possível verificar a forma como, neste caso, a substância corante se distribuiu ao longo do anteparo. Além disso, também para avaliar a reprodutibilidade das amostras, foram extraídos e analisados três atributos de textura das imagens.

A resposta temporal do sistema, que também pode ser chamada de atraso do sistema, consiste em medir o tempo desde o momento da liberação da substância até sua chegada no anteparo. Para mensurar este parâmetro foi utilizado um sensor de oxigênio, modelo AX300, em conjunto com um monitor, modelo MX300, ambos da fabricante *Analytical Industries*, posicionados no final da mangueira. Ele foi escolhido por ser um dispositivo utilizado na área médica, ideal para uso em terapia respiratória neonatal e anestesia.

6 VALIDAÇÃO

Este capítulo apresenta os resultados dos testes realizados para a validação do método de caracterização do estímulo olfativo proposto, através de processamento digital de imagens. Para tanto foram analisados três parâmetros:

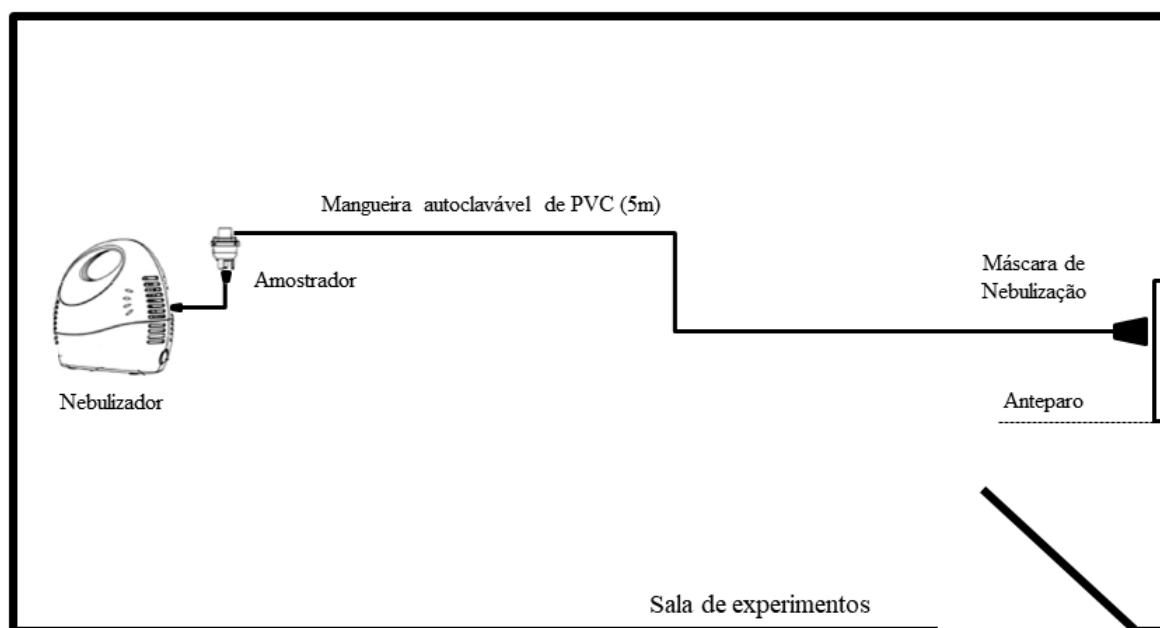
1. Fluxo de ar
2. Reprodutibilidade da amostra
3. Resposta temporal do sistema

Para assegurar uma suficiente exposição à amostra aromática, foram testados três fluxos de ar diferentes. Após a determinação do fluxo de ar adequado, foi realizado o restante dos experimentos para avaliar a reprodutibilidade da amostra entregue e a resposta temporal do sistema desenvolvido (olfatômetro). Para realizar os experimentos e avaliar os outros dois parâmetros propostos, foram montadas duas unidades, uma unidade referência e uma unidade experimental.

Como já explicado anteriormente, a unidade referência foi escolhida para ser utilizada como padrão. As amostras geradas por ela serviram como guia para verificar quão estáveis e constantes foram as amostras geradas pelo sistema de estímulo olfativo desenvolvido (olfatômetro).

Esta unidade é composta por um nebulizador a ar comprimido convencional, Inalar Compact[®] da marca NS, certificado ISO9001:2008 e ISO 13485:2007, uma mangueira autoclavável de PVC, um amostrador (copo de nebulização), uma máscara de nebulização e um anteparo (onde a amostra foi borrifada), conforme a Figura 26. Utilizado como sistema de estímulo olfativo, o nebulizador convencional foi escolhido para a unidade de referência por ser um equipamento com tecnologia já consolidada e disponível comercialmente, além de ser utilizado em larga escala na prática clínica.

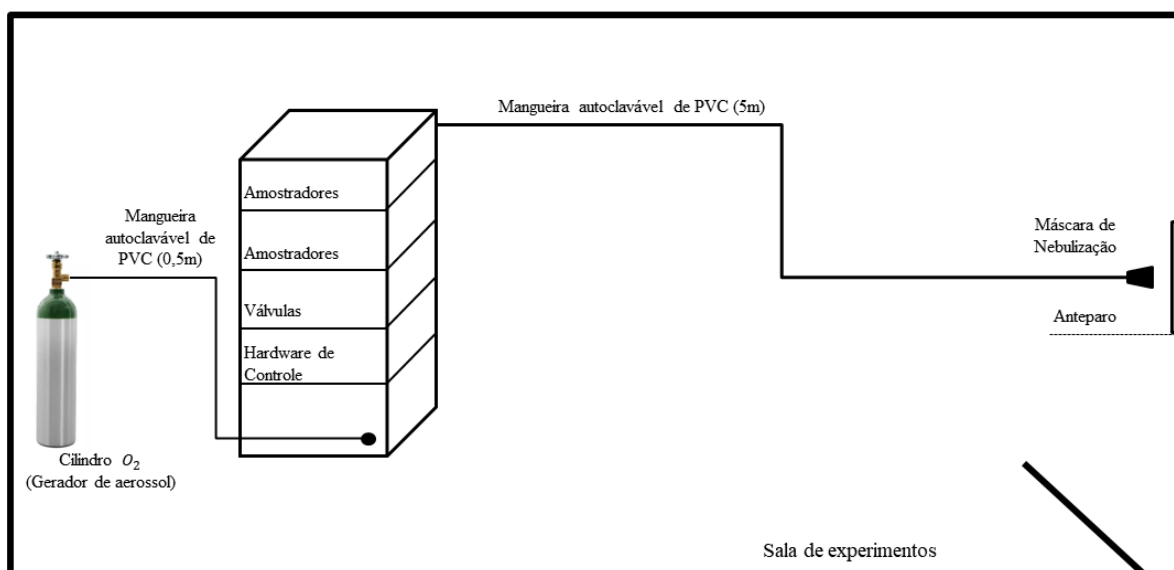
Figura 26 – Diagrama da unidade de referência



Fonte: O Autor (2019).

A unidade experimental, conforme a Figura 27, é composta pelo gerador de aerossol (cilindro de oxigênio medicinal), pelo olfatômetro desenvolvido, uma mangueira autoclavável de PVC, uma máscara de nebulização e um anteparo (onde a amostra foi borrifada).

Figura 27 – Diagrama da unidade experimental



Fonte: O Autor (2019).

Como o anteparo é constituído de um papel branco padrão e foi posicionado em

uma superfície vertical plana (parede), no lugar da almofada nasal determinada para o projeto do olfatômetro, foi utilizada uma máscara de nebulização devido à sua anatomia e melhor acoplamento ao anteparo. Se a almofada nasal fosse mantida para os experimentos, provavelmente haveria perdas de substância, pois ela possui um encaixe adequado ao nariz humano, devido ao seu desenho anatômico.

Após a montagem das duas unidades, a etapa dos experimentos foi iniciada. Para os testes, em substituição à substância odorífera e para tornar a amostra visível, foi utilizado uma substância corante *Nankin* profissional da marca ACRILEX, de cor preta, que é um produto químico não classificado como perigoso de acordo com ABNT NBR 14725-2.

Primeiramente foram realizados os experimentos com a unidade referência. Aproximadamente 10 ml do corante foram colocados no amostrador e o nebulizador acionado, o fluxo de ar passa pelo capilar do amostrador, nebulizando e carregando a substância odorífera até o anteparo localizado no final da mangueira, após a máscara. Essa substância colorida foi borrifada diretamente no anteparo, que substitui o nariz do indivíduo. Como o nebulizador utilizado possui um fluxo de ar constante de 8 l/min, foram definidos 3 tempos diferentes de exposição à substância para os testes, 15, 30 e 60 segundos. Foram feitas 5 repetições para cada tempo, gerando 5 amostras de cada.

Após esta primeira fase de testes, foi iniciada a segunda etapa, com os experimentos realizados com a unidade experimental (olfatômetro). O mesmo procedimento foi efetuado, foram colocados aproximadamente 10 ml do corante no amostrador e o gerador de aerossol foi acionado. O fluxo de ar passa pelo capilar do amostrador, nebulizando e carregando a substância odorífera até o anteparo localizado no final da mangueira, após a máscara. A substância colorida foi borrifada diretamente no anteparo, que substitui o nariz do indivíduo. Os tempos foram os mesmos definidos anteriormente, porém com fluxos de ar também variáveis para cada tempo, 3, 4 e 6 l/min. Neste caso, para o tempo de 15 segundos, foram geradas 5 amostras com fluxo de 3 l/min, 5 amostras com fluxo de 4 l/min e 5 amostras com o fluxo de 6 l/min. O mesmo aconteceu para os tempos de 30 e 60 segundos.

As amostras foram digitalizadas gerando imagens para análise. As fotos das amostras foram feitas com uma câmera Nikon, modelo D7200, resolução alta de 6000 x 4000 pixels, no formato NEF RAW, 8 bits por pixel, em tons de cinza, com uma lente Nikon DX 18-55 AF S-DX F/3.5 – 5.6 G. A análise das imagens foi realizada com os *softwares* ImageJ e MATLAB, através do processamento e extração de características das imagens.

6.1 Fluxo de ar

Com o objetivo de verificar qual fluxo de ar testado proporciona suficiente exposição à amostra odorífera e definí-lo como padrão para os demais experimentos, foram

realizados os processos de segmentação das 15 imagens (5 para cada tempo) das amostras do nebulizador e a contagem dos *pixels* pretos segmentados. Os resultados foram tabelados para uma melhor visualização e posterior análise estatística. A Tabela 5 apresenta estes dados das amostras geradas pelo nebulizador.

Tabela 5 – Número de *pixels* pretos das amostras geradas pela unidade de referência

Unidade de Referência (Nebulizador)				
Amostra	Fluxo (l/min)	Tempo (segundos)		
		15	30	60
		Nº <i>pixels</i> pretos segmentados	Nº <i>pixels</i> pretos segmentados	Nº <i>pixels</i> pretos segmentados
1	8 ($\pm 0,5$)	3862	11218	21830
2		5114	10245	20416
3		4395	10418	22017
4		3694	11635	20845
5		4823	9863	21456
MÉDIAS		4378	10676	21313

Fonte: O autor (2019).

Logo após, o mesmo procedimento foi realizado para as 45 imagens (15 para cada um dos 3 fluxos de ar) das amostras geradas pelo olfatômetro. A Tabela 6 apresenta estes dados das amostras geradas pelo olfatômetro.

Tabela 6 – Número de *pixels* pretos das amostras geradas pela unidade experimental

Unidade Experimental (Olfatômetro)				
Amostra	Fluxo (l/min)	Tempo (segundos)		
		15	30	60
		Nº <i>pixels</i> pretos segmentados	Nº <i>pixels</i> pretos segmentados	Nº <i>pixels</i> pretos segmentados
1	6	3254	9523	13423
2		4572	8637	18759
3		4733	10120	20231
4		3621	8846	17989
5		3985	9284	19852
MÉDIAS		4033	9282	19251

Unidade Experimental (Olfatômetro)				
Amostra	Fluxo (l/min)	Tempo (segundos)		
		15	30	60
		Nº <i>pixels</i> pretos segmentados	Nº <i>pixels</i> pretos segmentados	Nº <i>pixels</i> pretos segmentados
1	4	2985	3142	8125
2		2870	4120	7963
3		2651	3229	9745
4		2937	3775	8469
5		2540	3842	9254
MÉDIAS		2797	3622	8711

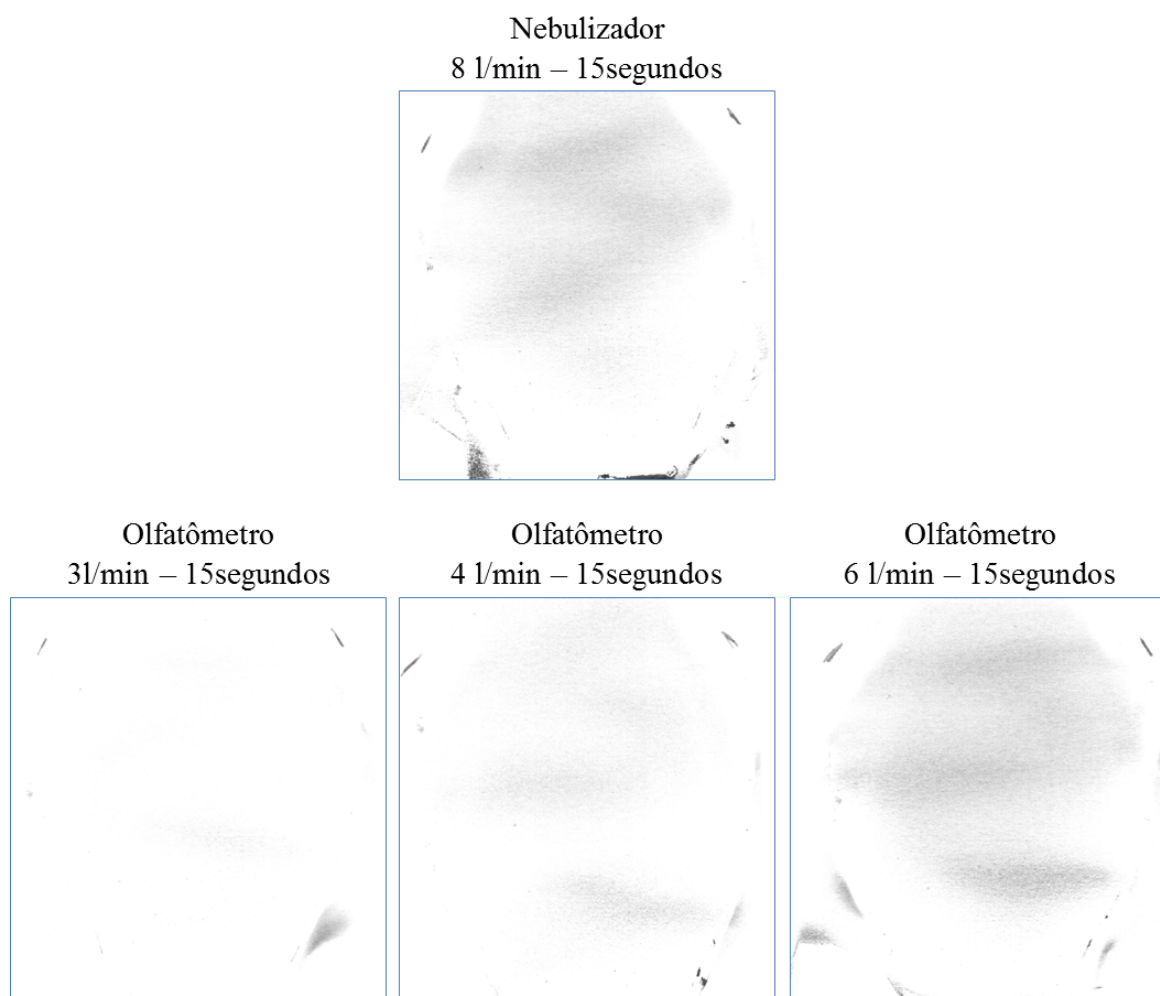
Unidade Experimental (Olfatômetro)				
Amostra	Fluxo (l/min)	Tempo (segundos)		
		15	30	60
		Nº <i>pixels</i> pretos segmentados	Nº <i>pixels</i> pretos segmentados	Nº <i>pixels</i> pretos segmentados
1	3	985	1482	3167
2		1145	1574	2975
3		1326	2011	3123
4		1049	1739	2816
5		1010	1847	2988
MÉDIAS		1103	1731	3014

Fonte: O autor (2019).

De acordo com os resultados apresentados nas Tabelas 5 e 6, comparando os resultados da referência (nebulizador) com os experimentais (olfatômetro), para o tempo de

15 segundos, é possível visualizar que a média do nebulizador (fluxo de $8 \pm 0,5$ l/min) se aproximou mais da média do olfatômetro com o fluxo de 6 l/min, o que denota, para os 15 segundos, o olfatômetro desenvolvido proporciona uma suficiente exposição à amostra. As amostras do nebulizador e do olfatômetro podem ser vistas logo abaixo, conforme a Figura 28.

Figura 28 – Amostras do olfatômetro e do nebulizador com seus respectivos fluxos e tempos.



Fonte: O autor (2019).

Para verificar a veracidade no número de *pixels*, os mesmos foram submetidos à um teste de hipóteses ($p < 0,05$). Foram comparados os valores da contagem de *pixels* pretos segmentados do nebulizador com os do olfatômetro (3, 4 e 6 l/min), para cada tempo proposto (15, 30 e 60 segundos). A Tabela 7 apresenta os resultados da análise estatística..

Tabela 7 – Resultados da análise estatística da contagem de *pixels* pretos segmentados

	Grupo		p	Tempo (segundos)
	Nebulizador	Olfatômetro		
Fluxo de ar (l/min)	8(±0,5)	6	0,3606	15
		4	0,0158	
		3	0,0016	

	Grupo		p	Tempo (segundos)
	Nebulizador	Olfatômetro		
Fluxo de ar (l/min)	8(±0,5)	6	0,1019	30
		4	0,0005	
		3	0,0002	

	Grupo		p	Tempo (segundos)
	Nebulizador	Olfatômetro		
Fluxo de ar (l/min)	8(±0,5)	6	0,0068	60
		4	2,0097E-07	
		3	1,0947E-05	

Fonte: O autor (2019).

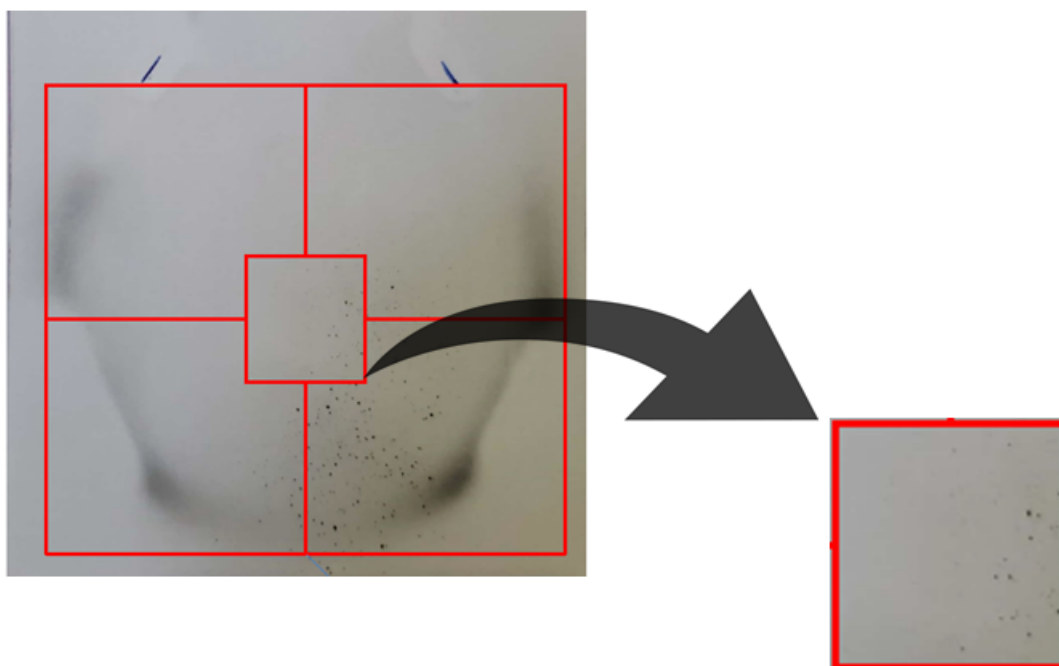
Com base nos resultados apresentados pela Tabela 7, é possível verificar, do ponto de vista estatístico, que não houveram diferença entre as amostras do nebulizador e do olfatômetro (para o fluxo de 6 l/min) nos tempos de 15 ($p=0,3606$) e 30 segundos ($p=0,1019$), o que indica que o restante dos experimentos com o olfatômetro poderia ser realizado com um fluxo de 6 l/min, em qualquer um dos tempos (15 ou 30 segundos). No entanto, mesmo a partir deste resultado, o tempo de 15 segundos foi escolhido como padrão, pois é o tempo que mais se assemelha ao protocolo do teste *Sniffin' Sticks Test*, que utiliza um tempo de exposição a amostra de 20 segundos.

6.2 Reprodutibilidade da amostra

A partir da escolha do tempo de 15 segundos, foi realizada a etapa de experimentos para verificar a reprodutibilidade da amostra. Esta etapa iniciou com a extração de um

atributo chamado centro óptico de cada uma das imagens, conforme mostrado na Figura 29. Após a extração deste atributo, foram analisados gráficos de perfil de *pixels* das novas imagens.

Figura 29 – Extração do centro óptico (recorte) de cada amostra

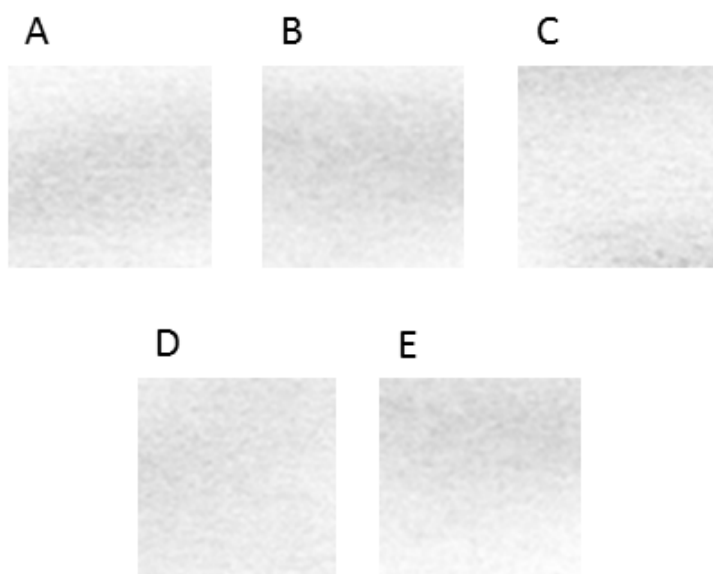


Fonte: O Autor (2019).

Em cada uma das 5 amostras foi marcado o orifício da máscara onde é colocado o elástico para fixação na cabeça do indivíduo. Logo após esta marcação, foi desenhado um quadrado que compreende toda a extensão da máscara, foram traçadas duas retas mediatrizes dividindo o quadrado inicial em quatro partes iguais. A partir do cruzamento das duas retas, que resultou no centro da imagem, foi feito um recorte quadrado de 3cm x 3cm, também para cada amostra, gerando uma nova imagem correspondente ao centro óptico. Este atributo foi extraído por representar aproximadamente a área, dentro toda a extensão da máscara, que fica mais próxima ao nariz do indivíduo.

A Figura 30 apresenta os recortes de cada uma das 5 amostras da unidade referência (nebulizador), para o tempo de 15 segundos. Eles estão representados por letras, ou seja, a letra A representa o recorte da amostra 1, B representa o recorte da amostra 2, C representa o da 3, D representa o da 4 e, por fim, a letra E representa o da amostra 5.

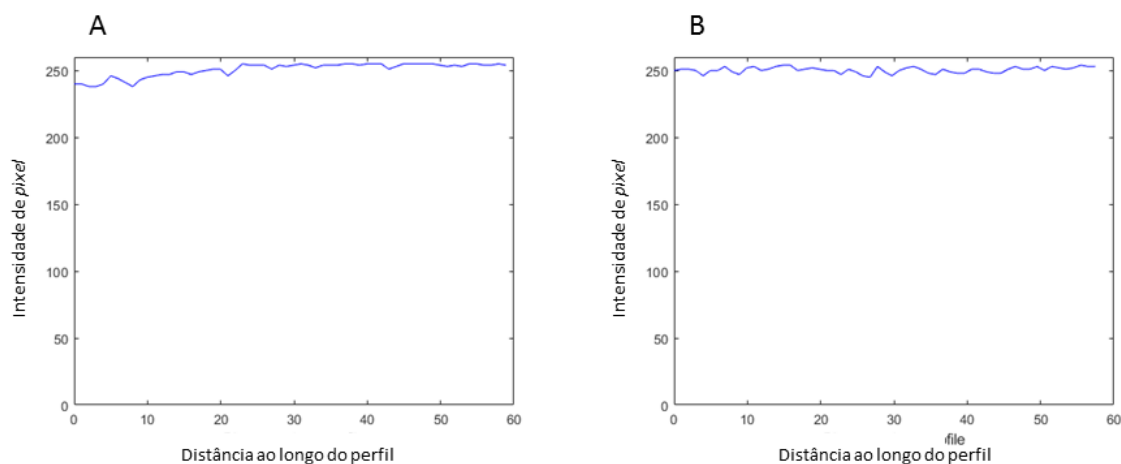
Figura 30 – Recortes das amostra 1(A), amostra 2(B), amostra 3(C), amostra 4(D) e amostra 5(E) geradas pela unidade referência (tempo 15 segundos).



Fonte: O Autor (2019).

A partir dos recortes, foram gerados gráficos de perfil dos *pixels* das linhas horizontal e vertical, ambas passando pelo centro da nova imagem (recorte 3cm X 3cm), com o intuito de compará-los, posteriormente, com os gráficos extraídos das amostras da unidade experimental (olfatômetro). A Figura 31 apresenta os gráficos de perfil do recorte A (amostra 1) da unidade referência (tempo 15 segundos).

Figura 31 – Perfil vertical (A), perfil horizontal (B) do recorte A (amostra 1) da unidade referência (tempo 15 segundos).

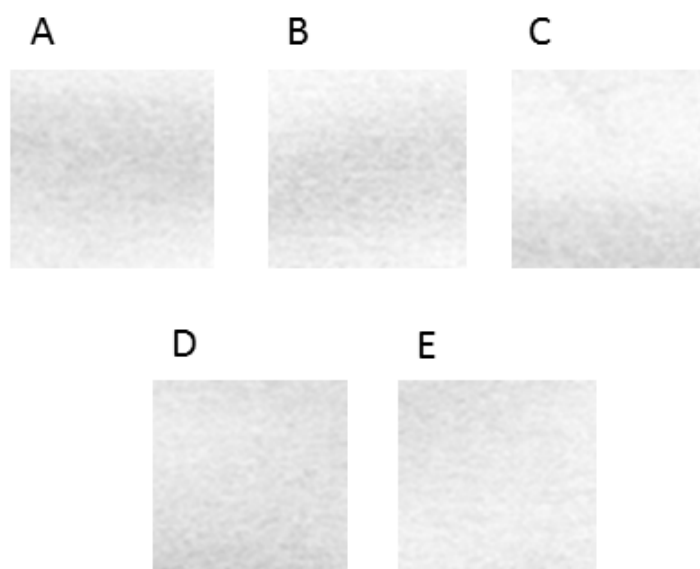


Fonte: O Autor (2019).

Conforme a Figura 31, é possível verificar que os gráficos de perfil de *pixel* da unidade referência comprovaram uma característica peculiar dos nebulizadores comerciais, a distribuição uniforme da substância por toda a extensão da máscara. Os dois perfis horizontal e vertical mostram, ao longo de suas distâncias, vários pontos onde os *pixels* possuem valores inferiores a 250, indicando pontos onde houve uma maior concentração da substância corante.

O mesmo procedimento foi realizado para as 5 amostras da unidade experimental (olfatômetro). Foi extraído também o centro óptico das imagens nas mesmas configurações anteriores. A Figura 32 apresenta os recortes de cada uma das 5 amostras da unidade experimental, obtidas com fluxo de 6 l/min e tempo de 15 segundos. Da mesma forma, eles estão representados por letras, ou seja, a letra A representa o recorte da amostra 1, B representa o recorte da amostra 2, C representa o da 3, D representa o da 4 e, por fim, a letra E representa o da amostra 5.

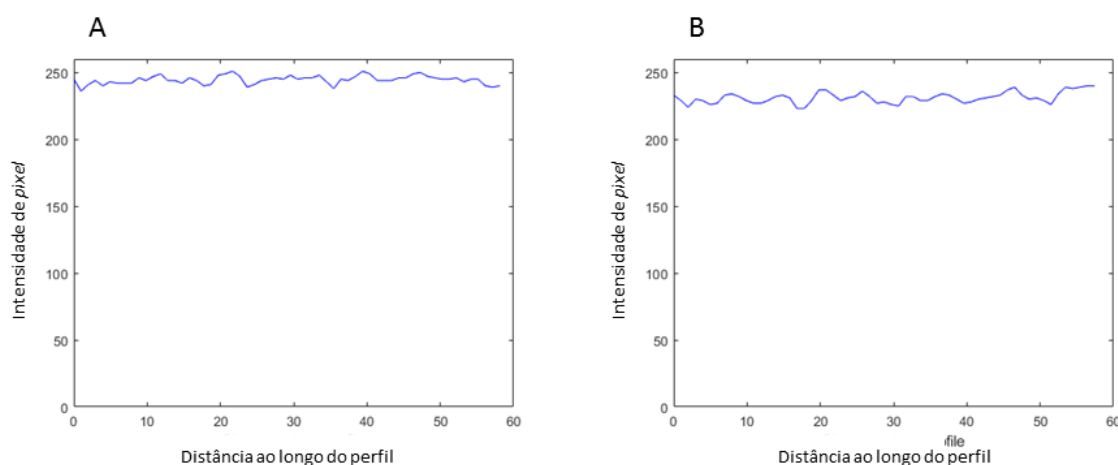
Figura 32 – Recortes das amostra 1(A), amostra 2(B), amostra 3(C), amostra 4(D) e amostra 5(E) geradas pela unidade experimental (fluxo de 6 l/min e tempo 15 segundos).



Fonte: O Autor (2019).

Foram gerados, também a partir dos recortes, os gráficos de perfil de *pixels* dos recortes da unidade experimental (olfatômetro). A Figura 33 apresenta os gráficos do recorte A (amostra 1) da unidade experimental (fluxo de 6 l/min e tempo 15 segundos).

Figura 33 – Perfil vertical(A), perfil horizontal(B) do recorte A (amostra 1) da unidade experimental (fluxo de 6 l/min e tempo 15 segundos).



Fonte: O Autor (2019).

Os gráficos de perfil de *pixel* da unidade experimental indicaram que, assim como na unidade referência, a distribuição dos *pixels* permaneceu uniforme ao longo da máscara, (Figura 33). Novamente os dois perfis horizontal e vertical mostraram, ao longo de suas distâncias, vários pontos onde os *pixels* possuem valores inferiores a 250, indicando pontos onde houve uma maior concentração da substância corante. Todos os gráficos das unidade referência e experimental apresentaram um padrão de desenho, possuindo apenas alguns valores abaixo de 250, indicando uma possível reprodutibilidade da amostra

Logo após a análise dos gráficos de perfil de *pixels*, foram extraídos e analisados atributos de textura tanto das imagens do nebulizador, como também das imagens do olfatometro (fluxo de 3, 4 e 6 l/min). Os três atributos extraídos para avaliação foram: uniformidade (também conhecido como Segundo momento angular - SMA), homogeneidade (também conhecido como Momento da diferença inversa - MDI) e entropia.

Esses atributos foram calculados a partir das matrizes de coocorrência, as quais descrevem a probabilidade de ocorrer um par de *pixels* (i, j) em um determinado ângulo θ . Neste trabalho foi utilizada a média dos atributos de textura em quatro ângulos (0° , 90° , 180° e 270°). Foi utilizado o *software* Matlab para o cálculo das matrizes de coocorrência das amostras e dos parâmetros estatísticos de textura delas derivados.

Os valores obtidos dos atributos foram submetidos à um teste de hipóteses ($p < 0,05$), comparando os valores de uniformidade (SMA) das amostras do nebulizador com as do olfatometro, conforme a Tabela 8. O mesmo procedimento de comparação foi realizado para os outros dois atributos analisados, homogeneidade (MDI) e entropia.

Tabela 8 – Resultados da análise estatística dos atributos de textura

Atributo	Grupo		p	Tempo (segundos)
	Nebulizador	Olfatômetro		
	Fluxo (l/min)			
SMA	8(±0,5)	6	0,1095	15
		4	0,0019	
		3	0,0060	
Homogeneidade		6	0,9071	
		4	0,0121	
		3	0,0010	
Entropia		6	0,1196	
		4	0,0247	
		3	0,0041	

Fonte: O autor (2019).

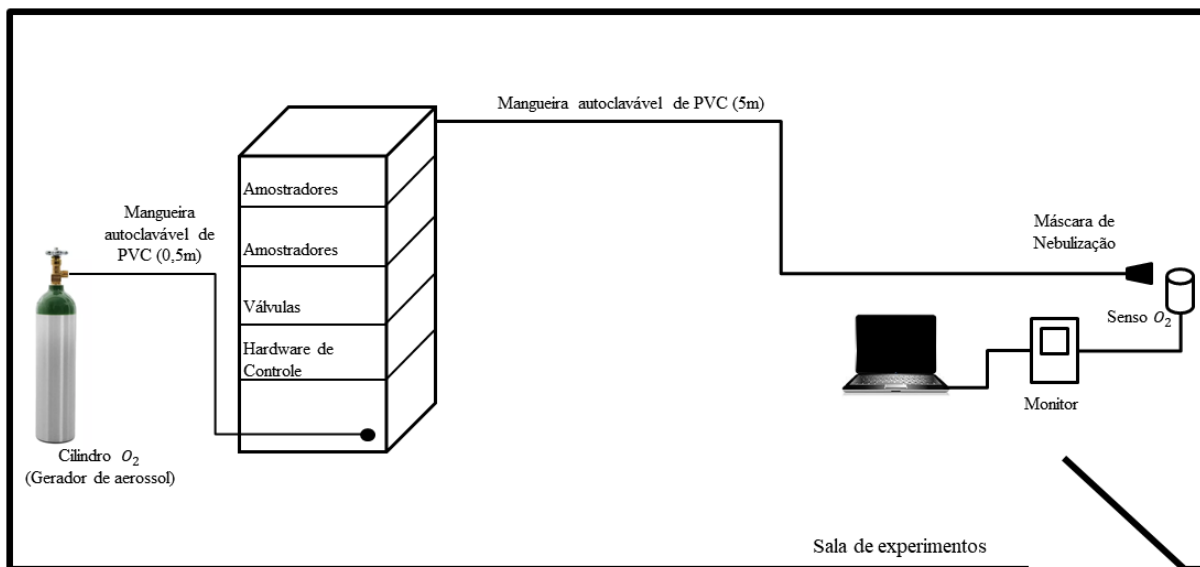
A partir dos resultados, do ponto de vista estatístico, não é possível constatar diferenças entre as amostras do nebulizador ($8\pm 0,5$ l/min) e do olfatômetro (6 l/min) nos três parâmetros avaliados, SMA ($p=0,1095$), Homogeneidade ($p=0,9071$) e Entropia ($p=0,1196$), conforme a Tabela 8. É possível constatar também que as amostras do olfatômetro realizadas com os fluxos de 4 e 3 l/min obtiveram diferenças significativas quando comparadas às amostras do nebulizador (Tabela 8). Com base nestas observações, pode-se afirmar que a reprodutibilidade da amostra se manteve entre as amostras do nebulizador e as do olfatômetro, com fluxo de 6 l/min. O mesmo não ocorreu com as amostras do nebulizador quando comparadas com as do olfatômetro para os outros dois fluxos (4 e 3 l/min), pois estas apresentaram diferenças estatísticas significativas.

6.3 Resposta temporal do sistema

Os experimentos para medir a resposta temporal do sistema foram realizados separadamente dos outros testes, devido à diferente mistura de gás utilizada, oxigênio a 17%. A mistura foi escolhida justamente para o sensor de oxigênio ter a capacidade de detectar

o oxigênio, visto que o oxigênio utilizado anteriormente possui concentração ambiente de 21%. Foi montada uma terceira unidade de experimentos para analisar este parâmetro, conforme a Figura 34.

Figura 34 – Unidade de experimentos montada para mensurar a resposta temporal do sistema.



Fonte: O Autor (2019).

A unidade foi composta de um cilindro de oxigênio a 17%, a mesma mangueira PVC, o olfatômetro desenvolvido, o amostrador (copo nebulizador), a máscara de nebulização e o sensor de oxigênio escolhido. O ar sai do cilindro e chega em uma determinada válvula do olfatômetro. Esta válvula é acionada liberando o ar até chegar no amostrador, passando pelo tubo capilar no amostrador, atomizando a amostra em direção ao final da mangueira onde foi posicionado o sensor de oxigênio. O sensor fica constantemente medindo a concentração do ar ambiente, no momento em que detecta alguma concentração de O_2 menor do que 21%, envia para o computador o valor da concentração e o sistema supervisor para o cronômetro, apresentando o tempo transcorrido, na ordem de milissegundos. A Tabela 9 apresenta a resposta temporal do sistema para os três fluxos utilizados anteriormente no olfatômetro.

Tabela 9 – Resposta temporal do olfatômetro.

Fluxo (l/min)	Tempo (milissegundos)
3	800
4	700
6	500

Fonte: O autor (2019).

A fim de verificar se o olfatômetro apresenta um atraso significativamente maior do que um equipamento comercial, o mesmo teste foi realizado com o nebulizador. A Tabela 10 apresenta o resultado da resposta temporal do nebulizador.

Tabela 10 – Resposta temporal do nebulizador.

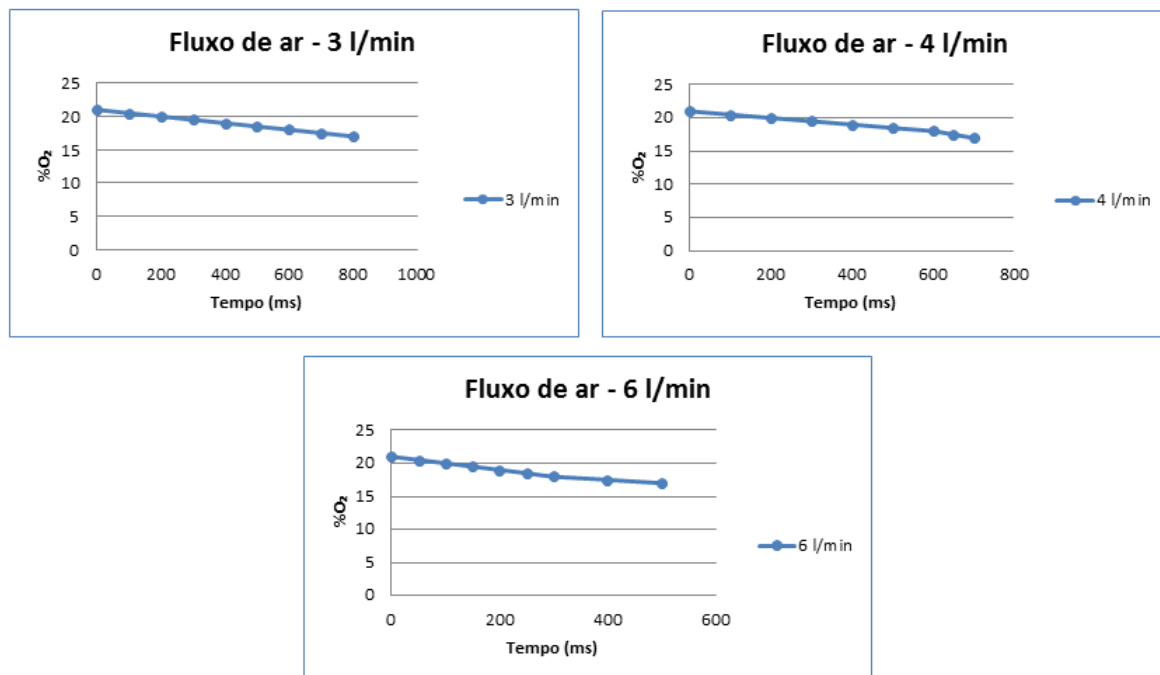
Fluxo (l/min)	Tempo (milissegundos)
8	400

Fonte: O autor (2019).

Comparando as duas tabelas 9 e 10, é possível observar que não houve considerável diferença entre a resposta temporal do olfatômetro, para o fluxo de 6 l/min (escolhido), e a resposta temporal do nebulizador.

A Figura 35 apresenta os gráficos da resposta temporal do olfatômetro, para os fluxos de 3, 4 e 6 l/min.

Figura 35 – Gráficos da resposta temporal do sistema.



Fonte: O Autor (2019).

7 CONCLUSÕES FINAIS

No presente trabalho, foi descrita a construção de um equipamento, também chamado de olfatômetro, para o auxílio na avaliação olfativa por meio da entrega do estímulo odorífero e da realização do teste olfativo. O olfatômetro é capaz de realizar uma entrega controlada e padronizada de estímulo odorífero, além de possuir uma interface que reproduz o teste olfativo.

A maior contribuição deste trabalho está no fato de que o olfatômetro possui um sistema supervisor que controla o *hardware* do equipamento e um *software* que realiza o teste olfativo, permitindo a avaliação do olfato através de um computador. Além de reproduzir o teste *Sniffin' Sticks*, através do *software* é possível determinar o tempo de estimulação do indivíduo e de limpeza da tubulação.

Para o desenvolvimento do sistema, foram utilizados recursos e ferramentas disponíveis no *Visual Studio*. Além de ser uma plataforma de desenvolvimento universal da *Microsoft*, o *Visual Studio* dispõe de uma interface visual que possibilita o controle e visualização de dados e ainda disponibiliza integração com *hardware* e *software* já implementados.

A fim de avaliar o estímulo olfativo fornecido pelo olfatômetro desenvolvido, foram realizados testes com o olfatômetro e com um nebulizador, equipamento escolhido como referência, já validado e disponível comercialmente.

Primeiramente, foram realizados experimentos com o propósito de comparar e estabelecer um fluxo de ar padrão. Foram feitas 5 amostras do nebulizador, com fluxo constante ($8 \pm 0,5$) l/min, em 3 tempos diferentes (15, 30 e 60 segundos). Com o olfatômetro, foram feitas 5 amostras para cada tempo (15, 30 e 60 segundos) e para cada fluxo (3, 4 e 6 l/min). Destas amostras foi realizada a segmentação e a contagem de *pixels* pretos segmentados. Os resultados foram analisados estatisticamente através do Teste de hipóteses ($p < 0,05$). Do ponto de vista estatístico, não houve diferença significativa entre as amostras do nebulizador e do olfatômetro para o fluxo de 6 l/min, nos tempos de 15 ($p = 0,3606$) e 30 segundos ($p = 0,1019$). Diante destes resultados, o restante dos experimentos poderia ser realizado tanto com o tempo de 15 quanto com o de 30 segundos. No entanto, foi escolhido o tempo de 15 segundos (por ser o mais próximo ao utilizado no teste utilizado como *Sniffin' Sticks*) e o fluxo de 6 l/min.

A segunda parte dos testes teve o objetivo de verificar a reprodutibilidade da amostra. Foram utilizadas as amostras do nebulizador feitas com 15 segundos e as amostras do olfatômetro (6 l/min) também feitas com 15 segundos. Foi extraído o centro óptico de cada amostra e chamado de recorte, recorte A pertence a amostra 1, B pertence a

amostra 2 e, assim sucessivamente. Destes recortes foram analisados os gráficos de perfil de *pixels* e histogramas. Os gráficos de perfil de *pixels* do nebulizador mostraram uma característica já conhecida destes equipamentos que é a distribuição uniforme do corante por toda a máscara. Através dos gráficos perfis de *pixels* dos recortes do olfatômetro, foi possível verificar que esta condição foi mantida. Dos histogramas das imagens (nebulizador e olfatômetro) foram calculados, através de matrizes de coocorrência, três atributos de textura: uniformidade, homogeneidade e entropia. Os resultados foram submetidos também à um Teste de hipóteses ($p < 0,05$). As amostras do olfatômetro foram comparadas às do nebulizador, para cada atributo. Do ponto de vista estatístico, não foi possível constatar diferenças entre as amostras do nebulizador ($8 \pm 0,5$) l/min e do olfatômetro (6 l/min) nos três atributos, uniformidade ($p = 0,1095$), homogeneidade ($p = 0,9071$) e entropia ($p = 0,1196$), o que denota que a reprodutibilidade da amostra foi mantida no olfatômetro desenvolvido, nestas condições.

Na última parte dos testes, foi medido a resposta temporal do sistema. O tempo que a amostra demorou desde a abertura da válvula até a chegada no final da mangueira onde estaria o nariz do paciente, foi medido com um sensor de oxigênio e apresentado através do sistema supervisor. O tempo de atraso da amostra carregada com fluxo de 6 l/min foi de 500ms. Não houve significativa diferença entre o atraso do olfatômetro e o atraso do nebulizador, visto que o do nebulizador foi na ordem de 400ms.

Conforme o método de avaliação proposto, foi escolhido o tempo de 15 segundos, visto que é o tempo que mais se assemelha ao tempo utilizado no *Sniffin' Sticks* e o fluxo de 6 l/min como padrão, pois foi o que teve a média mais próxima da referência. Analisando as imagens visualmente, não houveram consideráveis diferenças. Portanto, se confirma que as informações visuais foram aperfeiçoadas pelas técnicas de processamento de imagens proporcionando uma interpretação científica mais precisa.

7.1 TRABALHOS FUTUROS

Espera-se com a implementação dessa linha de pesquisa, que o sistema de estímulo olfativo desenvolvido possa ser validado em pessoas saudáveis no ambiente de ressonância magnética funcional, realizando a entrega do estímulo enquanto o paciente é submetido ao exame de ressonância. Para tanto, novos parâmetros podem ser empregados no olfatômetro desenvolvido, por exemplo um sinal de sincronismo associado com um *software* para monitorar e medir o tempo de resposta do paciente, agregando qualidade ao equipamento. Nesse contexto, ainda se pode sugerir a utilização de técnicas de processamento digital de imagens e *machine learning* em uma nova área de pesquisa para implementar avaliação de imagens de fMRI. Espera-se, também, que essa nova ferramenta possibilite um maior entendimento do comportamento fisiológico do sistema olfativo e que contribua para a

capacitação técnico-científica acadêmica.

Referências

- AGAPAKIS, C. M.; TOLAAS, S. Smelling in multiple dimensions. *Current opinion in chemical biology*, Elsevier, v. 16, n. 5-6, p. 569–575, 2012. 44
- AMOR, S. et al. Inflammation in neurodegenerative diseases—an update. *Immunology*, Wiley Online Library, v. 142, n. 2, p. 151–166, 2014. 23
- ANDRADE, P. G. G. *ANOSMIA SELETIVA NA DOENÇA DE PARKINSON*. 149 p. Tese (Doutorado em Ciências Médicas) — Universidade Estadual de Campinas - Unicamp, Campinas, 2016. 22, 23, 25, 26, 27, 29
- ASSOCIATION, A. et al. 2018 alzheimer’s disease facts and figures. *Alzheimer’s & Dementia*, Elsevier, v. 14, n. 3, p. 367–429, 2018. 24
- BARREIRO, B. S. L. *O SENTIDO OLFATÓRIO E MANIFESTAÇÕES NEUROPSIQUIÁTRICAS NO LÚPUS ERITEMATOSO SISTÊMICO JUVENIL*. 75 p. Dissertação (Mestrado em Ciências) — Universidade Estadual de Campinas - Unicamp, Campinas, 2016. 21
- BARRESI, M. et al. Evaluation of olfactory dysfunction in neurodegenerative diseases. *Journal of the neurological sciences*, Elsevier, v. 323, n. 1, p. 16–24, 2012. 18, 26
- BASTOS, L. O. D. et al. Adaptação do teste de olfato sniffin’sticks para uma população pediátrica brasileira. [sn], 2015. 18, 21, 22, 27, 28, 29, 30, 31
- BASTOS, V. P. Técnicas de segmentação de imagens para recuperação de informações visuais. *www.atlas.ucpel.tche.br. Acesso em*, v. 22, p. 05–06, 2001. 35
- BEAR, M. F.; CONNORS, B. W.; PARADISO, M. A. *Neurociências: desvendando o sistema nervoso*. [S.l.]: Artmed Editora, 2008. 22, 25
- BESTGEN, A.-K. et al. An extension of olfactometry methods: An expandable, fully automated, mobile, mri-compatible olfactometer. *Journal of neuroscience methods*, Elsevier, v. 261, p. 85–96, 2016. 46, 47
- BUSHDID, C. et al. Humans can discriminate more than 1 trillion olfactory stimuli. *Science*, American Association for the Advancement of Science, v. 343, n. 6177, p. 1370–1372, 2014. 44
- CAIN, W. S. et al. Evaluation of olfactory dysfunction in the connecticut chemosensory clinical research center. *The Laryngoscope*, Wiley Online Library, v. 98, n. 1, p. 83–88, 1988. 31, 32
- CAMPABADAL, A. et al. Brain correlates of progressive olfactory loss in parkinson’s disease. *Parkinsonism & related disorders*, Elsevier, v. 41, p. 44–50, 2017. 29
- CARDOSO, D. E. B. F. *Aplicação de imagem digital ao Controle da Qualidade*. Dissertação (Mestrado), 2014. 38, 39, 40

- CARDOSO, S. V. Hiposmia: correlação com o desempenho cognitivo em pacientes com doença e parkinson. 2016. 23, 24, 27
- CASTELO-BRANCO, M. et al. Ressonância magnética cerebral funcional: qual o impacto e que limites? *Acta Radiológica Portuguesa*, v. 29, n. 1, p. 5–6, 2017. 18
- CHAVES-MORILLO, V. et al. La anosmia neurosensorial: relación entre subtipo, tiempo de reconocimiento y edad. *Clínica y Salud*, Elsevier, v. 28, n. 3, p. 155–161, 2017. 31
- CHEN, W. et al. Application of odor identification test in parkinson's disease in china: a matched case-control study. *Journal of the neurological sciences*, Elsevier, v. 316, n. 1-2, p. 47–50, 2012. 29, 30
- ÇOMOĞLU, Ş. et al. Olfactory function assessment of blind subjects using the sniffin'sticks test. *Otolaryngology–Head and Neck Surgery*, SAGE Publications Sage CA: Los Angeles, CA, v. 153, n. 2, p. 286–290, 2015. 29, 30, 31
- CORREIA, J. R. M. *Relação entre infecções do sistema nervoso central e as doenças neurodegenerativas*. 2016. 17, 23
- CRÓSTA, A. P. *Processamento digital de imagens de sensoriamento remoto*. [S.l.]: UNICAMP/Instituto de Geociências, 1999. 37, 38
- DEMARCO, F. R. et al. Avaliação do olfato em idosos. Universidade Estadual de Campinas - UNICAMP, 2019. 25, 31
- DOTY, R. L. The olfactory system and its disorders. In: © THIEME MEDICAL PUBLISHERS. *Seminars in neurology*. [S.l.], 2009. v. 29, n. 01, p. 074–081. 22, 27
- DOTY, R. L. Olfactory dysfunction in parkinson disease. *Nature Reviews Neurology*, Nature Publishing Group, v. 8, n. 6, p. 329, 2012. 17
- DOTY, R. L.; AGRAWAL, U. The shelf life of the university of pennsylvania smell identification test (upsit). *The Laryngoscope*, Wiley Online Library, v. 99, n. 4, p. 402–404, 1989. 29
- DOTY, R. L.; SHAMAN, P.; DANN, M. Development of the university of pennsylvania smell identification test: a standardized microencapsulated test of olfactory function. *Physiology & behavior*, Elsevier, v. 32, n. 3, p. 489–502, 1984. 28, 29
- DRIVER-DUNCKLEY, E. et al. Olfactory dysfunction in incidental lewy body disease and parkinson's disease. *Parkinsonism & related disorders*, Elsevier, v. 20, n. 11, p. 1260–1262, 2014. 29
- DUARTE, F. M. et al. Capacidade olfatória e gustativa na doença de parkinson e nas doenças neurodegenerativas corticais. Universidade Federal de Goiás, 2014. 17, 21, 23, 25, 29, 30
- FACHEL, F. N. S. *Sistema para estímulo olfativo em estudos de neuroimagem*. Dissertação (Mestrado) — Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, 2015. 18, 22, 25, 33, 45, 46
- FILHO, O. M.; NETO, H. V. *Processamento digital de imagens*. [S.l.]: Brasport, 1999. 37, 39

- FORNAZIERI, M. A. *Validação do teste de identificação do olfato da Universidade da Pensilvânia (UPSIT) para brasileiros*. Tese (Doutorado) — Universidade de São Paulo, 2013. 18, 27, 28, 29
- FORNAZIERI, M. A. et al. Applicability of the university of pennsylvania smell identification test (sit) in brazilians: pilot study. *Brazilian journal of otorhinolaryngology*, SciELO Brasil, v. 76, n. 6, p. 695–699, 2010. 29
- FUSETTI, M. et al. Smell and preclinical alzheimer disease: study of 29 patients with amnesic mild cognitive impairment. *Journal of Otolaryngology–Head & Neck Surgery*, v. 39, n. 2, 2010. 29, 30
- GODOY, M. D. C. L. *Acometimento do epitélio olfatório pela doença de Alzheimer: um estudo de correlação clínico-patológica*. 117 p. Tese (Doutorado em Ciências Médicas) — Universidade de São Paulo, São Paulo, 2015. 23, 24, 27
- GONZALEZ, R.; WOODS, R. *Processamento Digital de Imagens. Book*. [S.l.]: São Paulo: Pearson Pretience Hall, 2010. 34, 35, 36, 37, 38, 40, 43
- GUTIERREZ, B. A. O. et al. Impacto econômico da doença de alzheimer no brasil: é possível melhorar a assistência e reduzir custos? *Ciência & Saúde Coletiva*, SciELO Public Health, v. 19, p. 4479–4486, 2014. 17
- GUYTON, A. C.; ESBÉRARD, C. A. Neurociência básica: anatomia e fisiologia. In: *Neurociência básica: anatomia e fisiologia*. [S.l.: s.n.], 1993. p. 345–345. 21, 22
- HAEHNER, A. et al. High test–retest reliability of the extended version of the “sniffin’sticks” test. *Chemical senses*, Oxford University Press, v. 34, n. 8, p. 705–711, 2009. 29, 30
- HALL, J. E. *Guyton E Hall Tratado De Fisiologia Médica*. [S.l.]: Elsevier Brasil, 2017. 21
- HARALICK, R. M.; SHANMUGAM, K.; DINSTEN, I. H. Textural features for image classification. *IEEE Transactions on systems, man, and cybernetics*, Ieee, n. 6, p. 610–621, 1973. 40, 41, 42
- HUGH, S. C. et al. Olfactory testing in children using objective tools: comparison of sniffin’sticks and university of pennsylvania smell identification test (upsit). *Journal of Otolaryngology–Head & Neck Surgery*, BioMed Central, v. 44, n. 1, p. 10, 2015. 29, 30
- IBGE, I. B. de Geografia e E. *Projeções da população : Brasil e unidades da federação : revisão 2018*. [S.l.]: IBGE, 2018. 17
- ITO, R. H.; KIM, H. Y.; SALCEDO, W. J. Classificação de texturas invariante a rotação usando matriz de co-ocorrência. In: *8th International Information and Telecommunication Technologies Symposium*. [S.l.: s.n.], 2009. p. 1–6. 41, 42
- JESUS, J. d. R. B. de et al. O uso da ressonância magnética na investigação da epilepsia. *Saúde. com*, v. 13, n. 4, 2017. 18
- JÚNIOR, J. L. O. L.; SOARES, J. B. Desenvolvimento de metodologia para avaliação da adesividade agregado-ligante com o uso de processamento digital de imagem. *TRANSPORTES*, v. 27, n. 1, p. 82–95, 2019. 35

- KAMATH, V. et al. The effect of odor valence on olfactory performance in schizophrenia patients, unaffected relatives and at-risk youth. *Journal of psychiatric research*, Elsevier, v. 47, n. 11, p. 1636–1641, 2013. 29, 30
- KARUNANAYAKA, K. et al. Methods to develop a low cost laboratory olfactometer for multisensory, psychology, and neuroscience experiments. In: IEEE. *IECON 2017-43rd Annual Conference of the IEEE Industrial Electronics Society*. [S.l.], 2017. p. 2882–2887. 47
- LAWTON, M. et al. Equating scores of the university of pennsylvania smell identification test and sniffin’sticks test in patients with parkinson’s disease. *Parkinsonism & related disorders*, Elsevier, v. 33, p. 96–101, 2016. 29, 30
- LOPES, T. N. et al. Distúrbios do olfato nos cuidados de saúde primários. *Acta Otorrinolaringológica Gallega*, Sociedad Gallega de Otorrinolaringología y Patología Cérvico-Facial, n. 11, p. 18–32, 2018. 17, 25, 26
- LOUREGA, L. V. et al. *MeSegHI: um método de segmentação para o processamento linear e não-linear de imagem*. [S.l.]: Universidade Federal de Santa Maria, 2006. 34, 35
- LUNDSTRÖM, J. N. et al. Methods for building an inexpensive computer-controlled olfactometer for temporally-precise experiments. *International Journal of Psychophysiology*, Elsevier, v. 78, n. 2, p. 179–189, 2010. 33, 44, 46, 47
- MONDINI, R. et al. *Desenvolvimento e avaliação de protótipo para estudos de neuroimagem: estímulo olfativo*. [S.l.]: Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, 2014. 46, 47
- MORGAN, J. et al. *TÉCNICAS DE SEGMENTAÇÃO DE IMAGENS NA GERAÇÃO DE PROGRAMAS PARA MÁQUINAS DE COMANDO NUMÉRICO*. [S.l.]: Universidade Federal de Santa Maria, 2008. 38, 40
- NETO, F. et al. Anormalidades sensoriais: olfato e paladar. *Arquivos Internacionais de Otorrinolaringologia*, SciELO Brasil, v. 15, n. 3, p. 350–358, 2011. 17, 18, 24, 26, 27
- NEUMANN, C. et al. Validation study of the “sniffin’sticks” olfactory test in a british population: a preliminary communication. *Clinical Otolaryngology*, Wiley Online Library, v. 37, n. 1, p. 23–27, 2012. 29, 30
- NIKLASSEN, A. S. et al. Danish validation of sniffin’sticks olfactory test for threshold, discrimination, and identification. *The Laryngoscope*, Wiley Online Library, v. 128, n. 8, p. 1759–1766, 2017. 29, 30
- PATEL, R. M.; PINTO, J. M. Olfaction: anatomy, physiology, and disease. *Clinical anatomy*, Wiley Online Library, v. 27, n. 1, p. 54–60, 2014. 22
- PRINGSHEIM, T. et al. The prevalence of parkinson’s disease: A systematic review and meta-analysis. *Movement disorders*, Wiley Online Library, v. 29, n. 13, p. 1583–1590, 2014. 23
- QUEIROZ, J. E. R. de; GOMES, H. M. Introdução ao processamento digital de imagens. *RITA*, v. 13, n. 2, p. 11–42, 2006. 35

- REY, N. L.; WESSON, D. W.; BRUNDIN, P. The olfactory bulb as the entry site for prion-like propagation in neurodegenerative diseases. *Neurobiology of disease*, Elsevier, 2016. 26
- SANTOS, M. d. O. et al. Bacharel em Ciências Biológicas, *Bulbo olfatório do cão e do homem e seus aspectos morfofuncionais: um estudo de revisão*. Natal: [s.n.], 2017. 21
- SCHELTENS KAJ BLENNOW, M. M. B. B. B. d. S. G. B. F. S. S. W. M. V. d. F. P. Alzheimer's disease. *The Lancet*, The Lancet, v. 388, p. 505–517, 2016. 17
- SCHILLING, L. P. et al. *Interação de biomarcadores de neuroimagem na Doença de Alzheimer: β -amiloide, substância branca e metabolismo cerebral*. Tese (Doutorado), 2016. 17, 24
- SEZILLE, C. et al. A portable experimental apparatus for human olfactory fmri experiments. *Journal of neuroscience methods*, Elsevier, v. 218, n. 1, p. 29–38, 2013. 46
- SILVEIRA-MORIYAMA, L. et al. Applying a new version of the brazilian-portuguese upsit smell test in brazil. *Arquivos de neuro-psiquiatria*, SciELO Brasil, v. 68, n. 5, p. 700–705, 2010. 29
- SOARES, L. E. *Aplicação de técnicas de processamento de imagens para auxílio na detecção de fraturas radiculares verticais em radiografias periapicais digitais*. Dissertação (Mestrado) — Universidade de São Paulo, 2019. 37
- SOMMER, J. U. et al. A mobile olfactometer for fmri-studies. *Journal of neuroscience methods*, Elsevier, v. 209, n. 1, p. 189–194, 2012. 45
- SOROKOWSKA, A. et al. Extended version of the “sniffin’sticks” identification test: Test–retest reliability and validity. *Journal of neuroscience methods*, Elsevier, v. 243, p. 111–114, 2015. 30
- SVEINBJORNSDOTTIR, S. The clinical symptoms of parkinson’s disease. *Journal of neurochemistry*, Wiley Online Library, v. 139, p. 318–324, 2016. 23
- URBAN-KOWALCZYK, M.; SMIGIELSKI, J.; STRZELECKI, D. Olfactory identification in patients with schizophrenia–influence of b-endorphin and cgrp concentration. *European Psychiatry*, Elsevier, v. 30, p. 899, 2017. 29
- VASAVADA, M. M. et al. Central olfactory dysfunction in alzheimer’s disease and mild cognitive impairment: a functional mri study. *Journal of Alzheimer’s Disease*, IOS Press, v. 59, n. 1, p. 359–368, 2017. 27
- VEDAEI, F. et al. The human olfactory system: Cortical brain mapping using fmri. *Iranian Journal of Radiology*, Kowsar, v. 14, n. 2, 2017. 18
- VELAYUDHAN, L. Smell identification function and alzheimer’s disease: a selective review. *Current opinion in psychiatry*, LWW, v. 28, n. 2, p. 173–179, 2015. 27
- VEYSELLER, B. et al. Connecticut (ccrc) olfactory test: normative values in 426 healthy volunteers. *Indian Journal of Otolaryngology and Head & Neck Surgery*, Springer, v. 66, n. 1, p. 31–34, 2014. 31

YÜCEPUR, C. et al. University of pennsylvania smell identification test: application to turkish population. *Kulak Burun Bogaz Ihtis Derg*, v. 22, n. 2, p. 77–80, 2012. 31

ZOU, Y.-m. et al. Olfactory dysfunction in alzheimer's disease. *Neuropsychiatric disease and treatment*, Dove Press, v. 12, p. 869, 2016. 27



Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul
Pró-Reitoria de Graduação
Av. Ipiranga, 6681 - Prédio 1 - 3º. andar
Porto Alegre - RS - Brasil
Fone: (51) 3320-3500 - Fax: (51) 3339-1564
E-mail: prograd@pucrs.br
Site: www.pucrs.br