



**UNIVERSITA' POLITECNICA DELLE MARCHE**  
**FACOLTA' DI INGEGNERIA**

---

Corso di laurea triennale in **INGEGNERIA GESTIONALE**

**IMAGE PROCESSING PER IL CONTEGGIO DI COLONIE BATTERICHE PER LA  
CERTIFICAZIONE DELLE MASCHERINE CHIRURGICHE**

IMAGE PROCESSING FOR BACTERIAL COLONIES COUNTING FOR  
CERTIFICATION OF SURGICAL MASKS

RELATORE:

**Chiar.mo Prof. Nicola Paone**

CANDIDATO:

**Davide Ghetti**

A.A. 2019/2020

<b>Indice</b>	<b>1</b>
<b>Introduzione</b>	<b>2</b>
<b>Capitolo 1.</b>	
• <b>Misure del governo emanate durante la pandemia</b>	<b>4</b>
<b>Capitolo 2.</b>	
• <b>Norma UNI EN 14683:2019</b>	<b>10</b>
- Tipi di mascherine	10
- Mascherine: utilità e grado di protezione	12
- Mascherine chirurgiche: come vengono testate	13
- Efficienza di filtrazione batterica	15
<b>Capitolo 3.</b>	
• <b>Analisi di immagini digitali</b>	<b>18</b>
- Strumenti per la modifica dei livelli di grigio	19
- Algoritmi per il processamento delle immagini	25
- Analisi della morfologia	31
- Algoritmi di matching	38
<b>Capitolo 4.</b>	
• <b>Implementazione degli algoritmi per il conteggio delle colonie batteriche</b>	<b>42</b>
- Implementazione algoritmi su Vision Assistant	43
- Implementazione algoritmo su ImageJ	49
<b>Conclusioni</b>	<b>51</b>
<b>Ringraziamenti</b>	<b>52</b>
<b>Bibliografia/sitografia</b>	<b>53</b>

## INTRODUZIONE

Il 2020 verrà per sempre ricordato per l'emergenza sanitaria causata dal Covid19: il lockdown dal 9 marzo fino al 4 maggio, il distanziamento sociale e l'utilizzo di dispositivi di protezione individuale sono tematiche che hanno influenzato e che influenzeranno le nostre vite, in quanto tutt'ora sono argomenti all'ordine del giorno per le scelte della classe politica sul contenimento del contagio all'interno di strutture pubbliche e private.

Uno dei problemi principali durante la pandemia è stata la carenza di mascherine chirurgiche: il fatto che era quasi inesistente la filiera di questo prodotto, cioè non erano presenti un numero significativo di produttori di impianti per la certificazione e di laboratori per le prove di tipo per l'attestazione delle prestazioni, ha certamente agevolato la trasmissione del virus negli ambienti di lavoro e in tutti quegli spazi dove la distanza minima tra le persone non è stata mantenuta.

Il ministero competente e i presidenti delle regioni, per far fronte a questo problema, hanno invitato le università ad affiancare le imprese per supportarle e per trovare metodi per rendere la produzione più veloce, in virtù del decreto che consente di immettere sul mercato anche prodotti non marcati CE.

Proprio sulla certificazione delle mascherine chirurgiche vertono gli studi di questa tesi, che ho deciso di intraprendere essendo un argomento di attualità, ma soprattutto perché l'UNIVPM, in relazione a quanto detto prima, ha creato il LABC19, un laboratorio utilizzato come centro di ricerca e servizio per l'emergenza che ha il compito di:

- svolgere le prove sperimentali atte a fornire evidenze dell'applicazione della norma tecnica UNI EN 14683:2019 *“Maschere facciali ad uso medico – Requisiti e metodi di prova”*;
- svolgere le analisi e le prove sperimentali atte a fornire evidenze di biocompatibilità dei materiali ai sensi della norma tecnica UNI EN ISO 10993-1:2010 *“Valutazione biologica dei dispositivi medici – Parte 1: Valutazione e prove all'interno di un processo di gestione del rischio”*;

- supportare le imprese nel processo di autocertificazione fornendo i rapporti di prova

Tutte le prove sono svolte internamente, grazie alle dotazioni strumentali del laboratorio del centro LABC19.

# **CAPITOLO 1**

## **MISURE DEL GOVERNO EMANATE DURANTE LA PANDEMIA**

30 gennaio 2020:

- l'Istituto Lazzaro Spallanzani di Roma diagnostica ad una coppia di turisti cinesi i primi due casi di Coronavirus; l'Italia, con un'Ordinanza del Ministro della Salute, blocca per 90 giorni i voli da e per la Cina.

31 gennaio 2020:

- il Governo Italiano dichiara lo Stato di emergenza, stanziando i primi fondi e nomina il Commissario Straordinario per l'emergenza il Capo della protezione civile Angelo Borrelli.

5 febbraio 2020:

- con il decreto del Capo del Dipartimento della protezione civile viene istituito un Comitato tecnico-scientifico per fronteggiare l'emergenza.

18 febbraio 2020:

- a Codogno, Comune della Lombardia in provincia di Lodi, si verifica il primo caso di trasmissione secondaria.

23 febbraio 2020:

- il Consiglio dei ministri vara un primo Decreto legge con misure per il divieto di accesso e allontanamento nei comuni dove sono presenti focolai e la sospensione di manifestazioni ed eventi.

Successivamente sono stati emanati i seguenti decreti attuativi:

- il DPCM 25 febbraio 2020,
- il DPCM 1° marzo 2020,
- il DECRETO LEGGE del 2 marzo 2020 n.9 (art. 34, comma 3)  
*In relazione all'emergenza di cui al presente decreto, in coerenza con le linee guida dell'Organizzazione Mondiale della Sanità e in conformità alle attuali evidenze scientifiche, è consentito fare ricorso alle mascherine chirurgiche, quale dispositivo idoneo a proteggere gli operatori sanitari; sono utilizzabili anche mascherine prive del marchio CE previa valutazione da parte dell'Istituto Superiore di Sanità.*
- il DPCM 4 marzo 2020,
- il DPCM 8 marzo 2020,
- il DPCM 9 marzo 2020 #lorestoacasa,
- il DPCM 11 marzo 2020 che chiude le attività commerciali non di prima necessità.
- 

17 marzo 2020:

- viene varato il DECRETO LEGGE del 17 marzo 2020 n.18

**ART.15: Disposizioni straordinarie per la produzione di mascherine chirurgiche e dispositivi di protezione individuale**

*1. Fermo quanto previsto dall'articolo 34 del decreto-legge 2 marzo 2020, n. 9, per la gestione dell'emergenza COVID-19, e fino al termine dello stato di emergenza di cui alla delibera del Consiglio dei ministri in data 31 gennaio 2020, è consentito produrre, importare e immettere in commercio mascherine chirurgiche e dispositivi di protezione individuale in deroga alle vigenti disposizioni.*

*2. I produttori e gli importatori delle mascherine chirurgiche di cui al comma 1, e coloro che li immettono in commercio i quali intendono avvalersi della deroga ivi prevista, inviano all'Istituto superiore di sanità una autocertificazione nella quale, sotto la propria esclusiva responsabilità, attestano le caratteristiche tecniche delle mascherine e dichiarano che le stesse rispettano tutti i requisiti di sicurezza di cui alla vigente normativa. Entro e non oltre 3 giorni dalla citata autocertificazione le aziende produttrici e gli importatori devono altresì trasmettere all'Istituto superiore di sanità ogni elemento utile alla validazione delle mascherine chirurgiche oggetto della stessa. L'Istituto superiore di sanità, nel termine di 3 giorni dalla ricezione di quanto indicato nel presente comma, si pronuncia circa la rispondenza delle mascherine chirurgiche alle norme vigenti.*

*3. I produttori, gli importatori dei dispositivi di protezione individuale di cui al comma 1 e coloro che li immettono in commercio, i quali intendono avvalersi della deroga ivi prevista, inviano all'INAIL una autocertificazione nella quale, sotto la propria esclusiva responsabilità, attestano le caratteristiche tecniche dei citati dispositivi e dichiarano che gli stessi rispettano tutti i requisiti di sicurezza di cui alla vigente normativa. Entro e non oltre 3 giorni dalla citata autocertificazione le aziende produttrici e gli importatori devono altresì trasmettere all'INAIL ogni elemento utile alla validazione dei dispositivi di protezione individuale oggetto della stessa. L'INAIL, nel termine di 3 giorni dalla ricezione di quanto indicato nel presente comma, si pronuncia circa la rispondenza dei dispositivi di protezione individuale alle norme vigenti*

*4. Qualora all'esito della valutazione di cui ai commi 2 e 3 i prodotti risultino non conformi alle vigenti norme, impregiudicata l'applicazione delle disposizioni in materia di autocertificazione, il produttore ne cessa immediatamente la produzione e all'importatore è fatto divieto di immissione in commercio.*

**ART.16: Ulteriori misure di protezione a favore dei lavoratori e della collettività**

*1. Per contenere il diffondersi del virus COVID-19, fino al termine dello stato di emergenza di cui alla delibera del Consiglio dei ministri in data 31 gennaio 2020,*

*sull'intero territorio nazionale, per i lavoratori che nello svolgimento della loro attività sono oggettivamente impossibilitati a mantenere la distanza interpersonale di un metro, sono considerati dispositivi di protezione individuale (DPI), di cui all'articolo 74, comma 1, del decreto legislativo 9 aprile 2008, n.81, le mascherine chirurgiche reperibili in commercio, il cui uso è disciplinato dall'articolo 34, comma 3, del decreto-legge 2 marzo 2020, n. 9.*

*2. Ai fini del comma 1, fino al termine dello stato di emergenza di cui alla delibera del Consiglio dei ministri in data 31 gennaio 2020, gli individui presenti sull'intero territorio nazionale sono autorizzati all'utilizzo di mascherine filtranti prive del marchio CE e prodotte in deroga alle vigenti norme sull'immissione in commercio.*

18 marzo 2020:

- il Presidente del Consiglio dei Ministri nomina Domenico Arcuri Commissario straordinario per l'attuazione e il coordinamento delle misure occorrenti per il contenimento e contrasto dell'emergenza epidemiologica Covid-19.

22 marzo 2020:

- il governo emana un DPCM con nuove ulteriori misure in materia di contenimento e gestione dell'emergenza epidemiologica da COVID-19, applicabili sull'intero territorio nazionale. Il provvedimento prevede la chiusura delle attività produttive non essenziali o strategiche. Restano aperti alimentari, farmacie, negozi di generi di prima necessità e i servizi essenziali. Queste disposizioni si applicano in aggiunta al Dpcm 11 marzo 2020.
- il Ministro della Salute e il Ministro dell'Interno firmano insieme un'ordinanza la quale vieta a tutte le persone fisiche di trasferirsi o spostarsi con mezzi di trasporto pubblici o privati da un comune diverso da quello in cui si trovano, salvo che per comprovate esigenze lavorative, di assoluta urgenza ovvero per motivi di salute.

1 aprile 2020:

- viene varato un DPCM per prorogare tutte le misure che contrastano il diffondersi del contagio da coronavirus fino al 13 aprile. Tale decreto sospende anche le sedute di allenamento degli atleti, professionisti e non, all'interno degli impianti sportivi di ogni tipo.

10 aprile 2020:

- viene promulgato un altro DPCM per prorogare ulteriormente tutte le misure fino al 3 maggio e per consentire la riapertura dei negozi per neonati e bambini, librerie e cartolerie.

26 aprile 2020:

- il governo approva il DPCM per specificare le misure per il contenimento dell'emergenza Covid-19 nella cosiddetta "fase due" con validità a partire dal 4 maggio.

17 maggio 2020:

- viene emanato un DPCM dove vengono definite le misure di prevenzione e contenimento per la convivenza con il coronavirus e il Decreto legge 33 che disciplina la fine delle limitazioni agli spostamenti e la riapertura delle attività produttive, commerciali, sociali a partire dal 18 maggio e fino al 31 luglio.

11 giugno 2020:

- con un DPCM vengono autorizzate le riprese di ulteriori attività.

14 luglio 2020:

- con un ulteriore DPCM viene prorogato fino al 31 luglio il DPCM 11 giugno 2020

24 luglio 2020:

- con un'ordinanza il Ministro della Salute ha indicato ulteriori limitazioni in materia di ingresso nel territorio nazionale.

7 agosto 2020:

- Il Consiglio dei Ministri ha approvato un decreto-legge che introduce misure urgenti per il sostegno e il rilancio dell'economia. Con il decreto, il Governo ha stanziato ulteriori 25 miliardi di euro, da utilizzare per proseguire e rafforzare l'azione di ripresa dalle conseguenze negative dell'epidemia da COVID-19 e sostenere lavoratori, famiglie e imprese, con particolare riguardo alle aree svantaggiate del Paese.
- Inoltre, con il Dpcm firmato dal Presidente Conte vengono prorogate, fino al 7 settembre 2020, le misure precauzionali minime per contrastare e contenere il diffondersi del virus Covid-19.

## CAPITOLO 2

### NORMA UNI EN 14683:2019

#### → TIPI DI MASCHERINE

**Mascherine protettive o facciali filtranti:** sono dispositivi di protezione individuale (DPI) utilizzati per la protezione delle vie aeree. Tali dispositivi soddisfano i requisiti richiesti dalla norma tecnica UNI EN 149:2009, sono muniti di filtri che proteggono bocca, naso e mento e si suddividono in tre classi in funzione dell'efficienza filtrante: FFP1, FFP2 e FFP3. Le lettere FF sono l'acronimo di "facciale filtrante", P indica la "protezione dalla polvere", mentre i numeri 1,2,3 individuano il livello crescente di protezione (bassa >72%, media >92%, alta >98%).

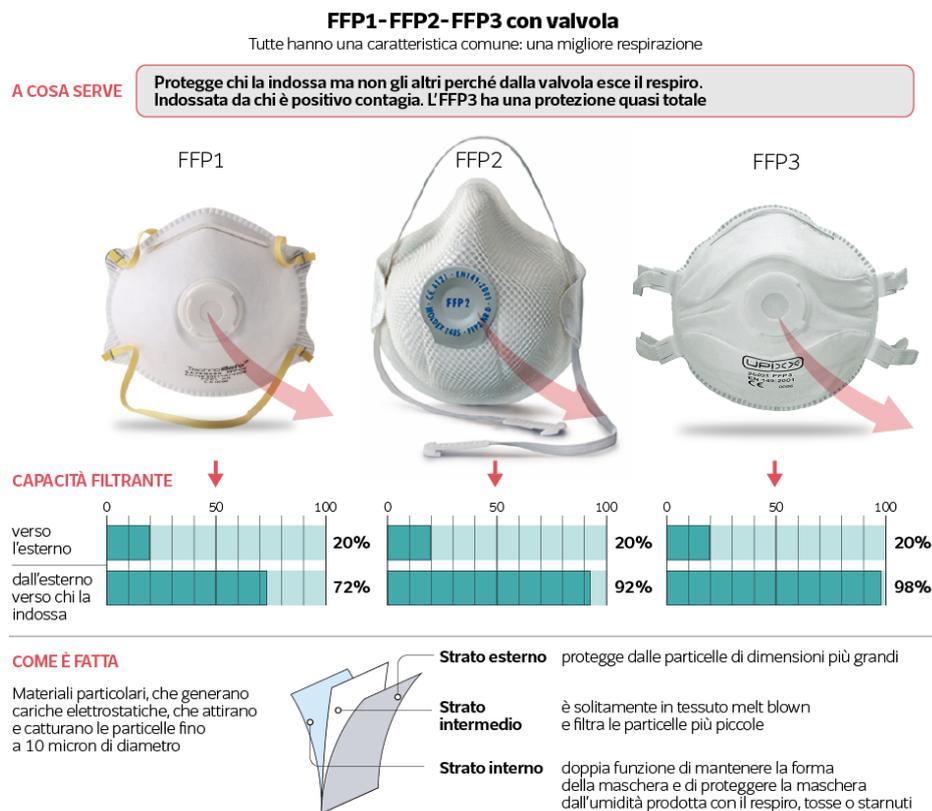


Figura 1 - <https://biomedicalcue.it/mascherine-vs-2019ncov-punto-situazione/19471/>

**Mascherine chirurgiche:** sono dispositivi medici monouso, che rispondono alla normativa **UNI EN 14683:2019**, costituiti solitamente dalla sovrapposizione di tre strati in tessuto-non-tessuto e muniti di laccetti che permettono un certo grado, sebbene non completo, di aderenza al volto. La normativa classifica queste tipologie di mascherine in base al livello di efficacia di filtrazione e in base alla resistenza agli schizzi, cioè le possiamo suddividere in:

- Tipo 1: efficacia di filtrazione batterica superiore al 95%
- Tipo 2: efficacia di filtrazione batterica superiore al 98%
- Tipo R: resistenza alla proiezione, in base al quale le mascherine possono essere di tipo IR e IIR. Le mascherine IIR sono quelle più resistenti.

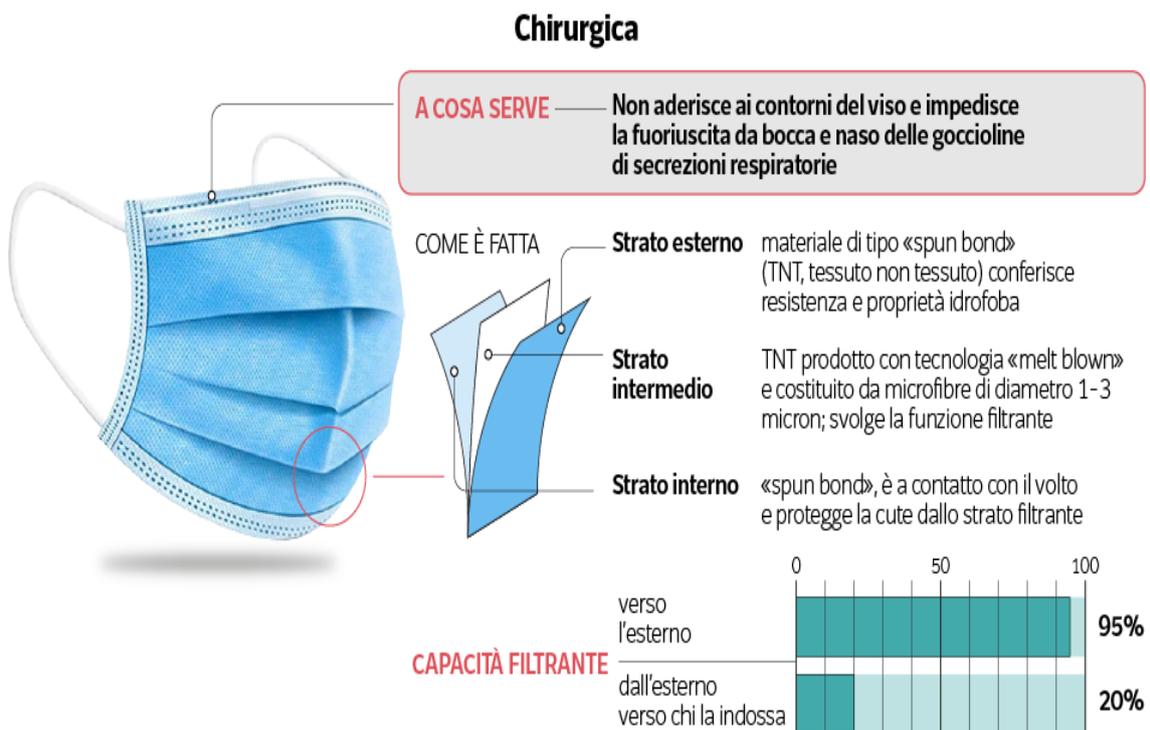


Figura 2 - <https://biomedicalcue.it/mascherine-vs-2019ncov-punto-situazione/19471/>

## ➔ MASCHERINE: UTILITA' E GRADO DI PROTEZIONE

Nel corso di pandemie, come quella attuale, le mascherine assumono una fondamentale importanza per contrastare la diffusione del virus e per contenere i contagi, diventando il più potente alleato di ogni soggetto, soprattutto nella fase di ripresa delle normali attività e può anche essere efficace nel ridurre l'emissione di agenti infettivi dal naso e dalla bocca di un portatore asintomatico.

Le mascherine facciali filtranti hanno la caratteristica di consentire una agevole respirazione, ma proteggono chi le indossa e non gli altri perché l'esperto che esce dalla valvola potrebbe infettare i soggetti che circondano l'indossatore, cioè indossata da chi è positivo contagia. L'utilizzo di tale tipologia, quindi, è sconsigliato a causa del basso grado di protezione individuale.

Le **mascherine chirurgiche** contribuiscono a ridurre, sebbene in maniera parziale, la diffusione di secrezioni respiratorie potenzialmente infette. Il grado di protezione è maggiore per i soggetti che circondano l'indossatore rispetto all'indossatore stesso. Ad esempio in una situazione in cui un soggetto che indossa la mascherina incontra un soggetto senza mascherina, quest'ultimo può considerarsi paradossalmente più protetto del primo, ma nello stesso tempo mette a grande rischio di contagio l'indossatore della mascherina. Se, invece, in una situazione analoga si incontrano due soggetti con la mascherina, i due soggetti godranno del medesimo grado di protezione, che aumenta all'aumentare della distanza fisica tra i due soggetti. Dunque il grado di protezione personale contro il nuovo coronavirus conferito dalla mascherina chirurgica è tanto maggiore quanto più aumenta la distanza che manteniamo da altre persone, quanto più aderisce la mascherina al nostro volto e soprattutto è legato al senso di responsabilità altrui nell'indossare una mascherina.

Proprio per questo motivo, a seguito del decreto legge 17 marzo 2020 n.18 (art. 16), tali mascherine non vengono più considerate solo come dispositivi medici, ma anche come dispositivi di protezione individuale (DPI) per i lavoratori che sono oggettivamente impossibilitati a mantenere la distanza interpersonale di 1 metro, e non devono essere marcate CE.

## ➔ MASCHERINE CHIRURGICHE: COME VENGONO TESTATE

La norma UNI EN 14683:2019 assume un ruolo fondamentale in quanto è l'unica norma che specifica la costruzione, la progettazione, i requisiti di prestazione e i metodi di prova per limitare la trasmissione di agenti infettivi nelle mascherine chirurgiche.

I metodi di prova sono:

### 1. *Il controllo della respirabilità*

Lo scopo è quello di determinare la caduta di pressione di un flusso di aria (8 l/min) che attraversa il materiale della maschera (su un campione di area 4,9 cm<sup>2</sup>, ovvero diametro 25 mm).

### 2. *Il controllo della resistenza agli spruzzi*

Lo scopo è quello di valutare la capacità di una maschera facciale ad uso medico di resistere alla penetrazione di sangue sintetico proiettato ad una data pressione. Questa prova è necessaria per maschere Tipo IIR. Quando sottoposta a prova in conformità alla ISO 22609:2004-Clothing for protection against infectious agents — Medical face masks — Test method for resistance against penetration by synthetic blood (fixed volume, horizontally projected), la resistenza della maschera facciale ad uso medico alla penetrazione di spruzzi di liquido deve essere conforme al valore minimo indicato per il tipo IIR.

### 3. *Il controllo della pulizia microbica*

Lo scopo è quello della valutazione di assenza di popolazione di microrganismi vitali su un dispositivo medico, componente, materia prima o imballaggio. Quando sottoposta a prova, la carica microbiologica totale (bioburden) della maschera facciale ad uso medico deve risultare  $\leq 30$  UFC/g.

### 4. *Il controllo della Biocompatibilità*

I test di biocompatibilità vengono eseguiti in conformità alle norme della serie ISO 10993, e devono essere selezionati sulla base dell'utilizzo finale del

dispositivo, della categorizzazione del materiale, e della natura e durata del contatto con il corpo dell'utilizzatore. Le maschere facciali ad uso medico sono classificate dall'allegato A della ISO 10993-1, come dispositivi superficiali a contatto con la pelle intatta per una durata <24 ore fino a 30 giorni considerando un'esposizione cumulativa. Pertanto, la valutazione delle caratteristiche chimiche è considerata come punto di partenza per effettuare i test di citotossicità, ed eventualmente irritazione cutanea e sensibilizzazione

### 5. **L'efficienza di Filtrazione Batterica**

Lo scopo è quello di misurare l'efficienza di filtrazione batterica di maschere ad uso medico. Nello specifico, un flusso di aerosol contenente una carica nota di *Staphylococcus aureus* viene forzato ad attraversare il materiale della maschera. L'efficienza di filtrazione batterica (BFE), espressa in percentuale, è data dal numero di unità formanti colonie (UFC) che attraversano il materiale della maschera facciale rispetto al numero di UFC dell'aerosol in ingresso.

Test	Type I <sup>a</sup>	Type II	Type IIR
Bacterial filtration efficiency (BFE), (%)	≥ 95	≥ 98	≥ 98
Differential pressure (Pa/cm <sup>2</sup> )	< 40	< 40	< 60
Splash resistance pressure (kPa)	Not required	Not required	≥ 16,0
Microbial cleanliness (cfu/g)	≤ 30	≤ 30	≤ 30
<sup>a</sup> Type I medical face masks should only be used for patients and other persons to reduce the risk of spread of infections particularly in epidemic or pandemic situations. Type I masks are not intended for use by healthcare professionals in an operating room or in other medical settings with similar requirements.			

Figura 3 - Norma UNI EN 14683:2019

## ➔ EFFICIENZA DI FILTRAZIONE BATTERICA

La norma **UNI EN 14683:2019** specifica la sequenza di funzionamento dell'attrezzatura necessaria per eseguire il test e come deve essere assemblata.

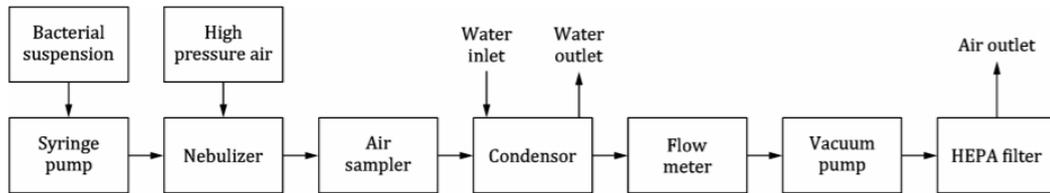


Figura 4 - Norma UNI EN 14683:2019

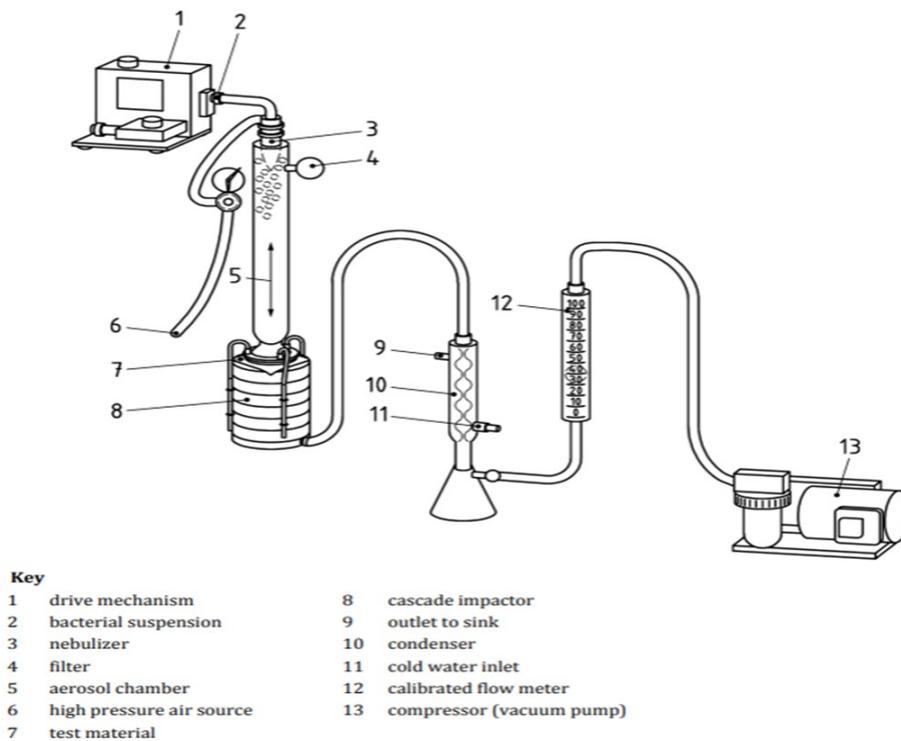


Figura 5 - Norma UNI EN 14683:2019

Il test si basa su un aerosol che contiene batteri (*Staphylococcus aureus*), che viene fatto fluire su un tubo verticale grazie ad una pompa che aspira, per poi finire all'interno di impattatori, cioè dei dispositivi che permettono l'impatto delle particelle batteriche in base alla loro dimensione (il primo impattatore conterrà i batteri più grossi e così via) all'interno dei dischi di petri con agar. Questi dischi verranno poi messi all'interno di un incubatore per essere analizzati.

Il test viene ripetuto due volte: la prima volta senza mascherina, la seconda con la mascherina, così da ottenere il valore percentuale dei batteri che sono stati filtrati.

Il resto dell'impianto serve a raccogliere in una beuta l'aerosol e liberare in aria uno scarico privo di batteri.

### GBPI – GB XF 1000 Bacterial Filtration Efficiency (BFE) Detector



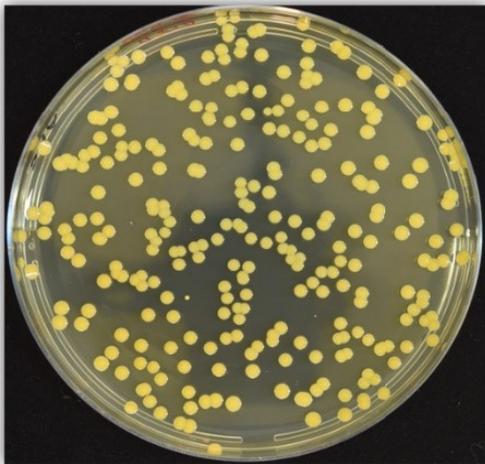
Figura 6 - <https://labc19.univpm.org/>

Questa attrezzatura è quella del LAB C19 dell'UNIVPM e permette di verificare come i test vengano eseguiti in una camera stagna in depressione per evitare che i batteri escano.

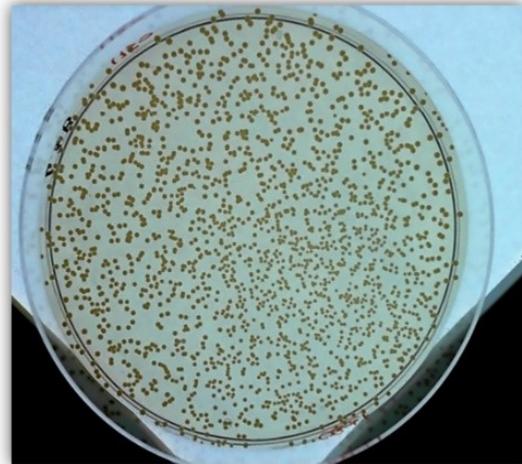
I campioni di tessuto in prova possono essere: lembi tagliati da maschere complete. Ogni campione deve essere di almeno 100 mm × 100 mm e deve includere tutti gli strati della maschera nell'ordine in cui essi vengono inseriti nella maschera completa. Il numero di campioni da provare è minimo 5. Tutti i campioni provati devono essere prelevati da aree rappresentative per includere tutte le eventuali varianti di costruzione della maschera. Salvo diversamente specificato, il test deve essere eseguito con la parte interna della maschera (quella a contatto col viso) esposta al flusso di aerosol batterico.

Una volta terminato il test vengono scattate delle fotografie ai dischi di petri con agar così da avere delle immagini digitali su cui effettuare il conteggio dei batteri.

Esempi di dischi di petri ottenuti dopo il test per l'efficienza di filtrazione batterica



282 cfu



1750 cfu

*Figura 7*

## CAPITOLO 3

### ANALISI DI IMMAGINI DIGITALI

L'efficienza di filtrazione batterica (BFE), espressa in percentuale, è data dal numero di unità formanti colonie (UFC) che attraversano il materiale della maschera facciale rispetto al numero di UFC dell'aerosol in ingresso.

Proprio per questo motivo, una volta ottenute le immagini digitali relative ai test di efficienza di filtrazione batterica, il conteggio di tali colonie batteriche assume un ruolo fondamentale.

Il conteggio può essere di due tipi:

- **Visivo:** si tratta di una procedura lenta (soprattutto quando il numero di batteri è elevato) e il risultato è tanto più incerto maggiore è il numero di batteri che devono essere contati.
  
- **Tramite software:** si tratta di una procedura più rapida ma richiede che le immagini, ottenute in laboratorio, godano di un'adeguata risoluzione.

Per meglio comprendere il procedimento che porta al conteggio delle colonie batteriche tramite software, è necessario disporre di sufficienti nozioni relative alla teoria sull'analisi delle immagini digitali.

## → STRUMENTI PER LA MODIFICA DEI LIVELLI DI GRIGIO

**IMMAGINE DIGITALE:** è un'immagine che è una funzione dell'intensità della luce

$$f(x,y)$$

dove  $f$  è la luminosità del punto  $(x, y)$  e  $x, y$  rappresentano le coordinate spaziali di un elemento dell'immagine (pixel abbreviato).

Per impostazione predefinita, il riferimento spaziale del pixel con le coordinate  $(0,0)$  si trova nell'angolo superiore sinistro dell'immagine.

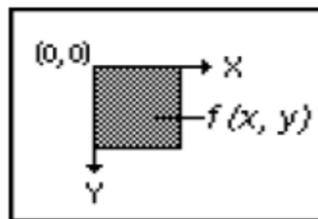


Figura 8 - manuale Vision (NI)

**PALETTE:** servono a restituire su uno schermo i colori che io voglio far vedere all'utente che guarda lo schermo.

Le palette, quindi, modificano i colori di un'immagine su uno schermo e la modifica/gestione dei colori su uno schermo può avere scopi diversi.

Ad un determinato valore di livello di grigio viene associato un determinato livello di rosso, verde e blu su una immagine a 8 bit.

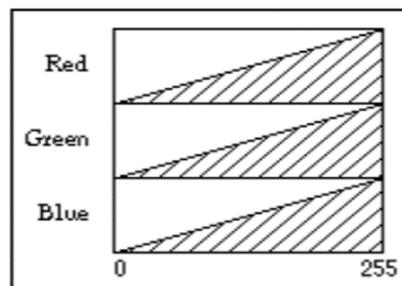


Figura 9 - manuale Vision (NI)

### **Temperature palette:**

Usata per simulare il colore di metalli a partire da immagini monocromatiche IR

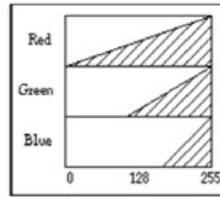


Figura 10 - manuale Vision (NI)

### **Rainbow palette:**

Rainbow Palette

Usata per trasmettere sensazione caldo-freddo

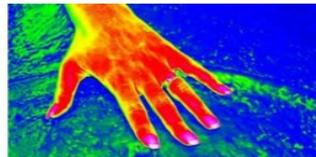
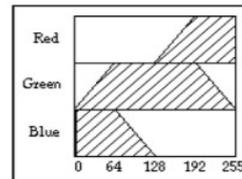


Figura 11 - manuale Vision (NI)

**ISTOGRAMMA DI LIVELLI DI GRIGIO:** è una funzione  $H(k)$  che associa a ciascun livello di grigio  $k$  il numero di pixel  $n_k$  dell'immagine aventi quel livello

$$H(k)=n_k$$

L'istogramma, quindi, lo possiamo rappresentare con un diagramma dove l'ordinata descrive la frequenza con cui io osservo un certo livello di grigio e l'ascissa rappresenta i possibili livelli di grigio contenuti in una scena.

Scena monocromatica ad 8bit ammette 0-255 livelli.

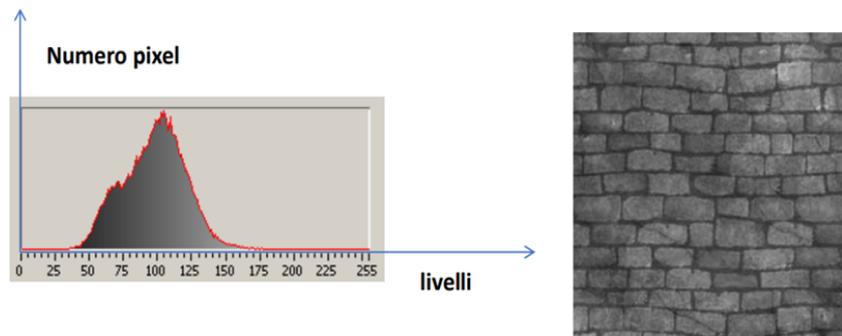


Figura 12 - manuale Vision (NI)

L'istogramma può essere:

Istogramma

$$H_{Linear}(k) = n_k$$

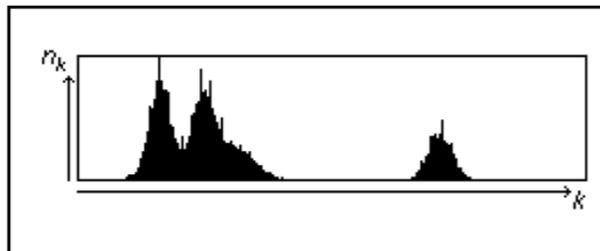


Figura 13 - manuale Vision (NI)

Istogramma cumulativo

$$H_{Cumul}(k) = \sum_0^k n_k$$

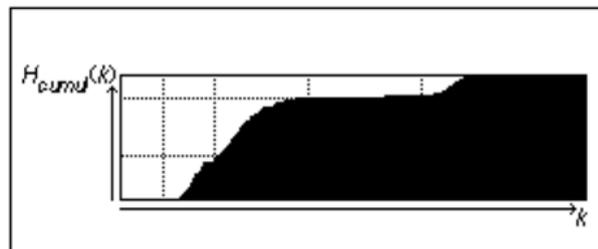


Figura 14 - manuale Vision (NI)

Istogramma in scala  
logaritmica

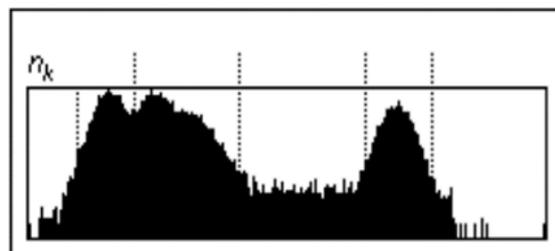


Figura 15 - manuale Vision (NI)

L'istogramma è anche il primo strumento interpretativo per capire se l'immagine è stata esposta o acquisita bene, infatti mi permette di capire se in un'immagine ci sono regioni con luminosità diverse.

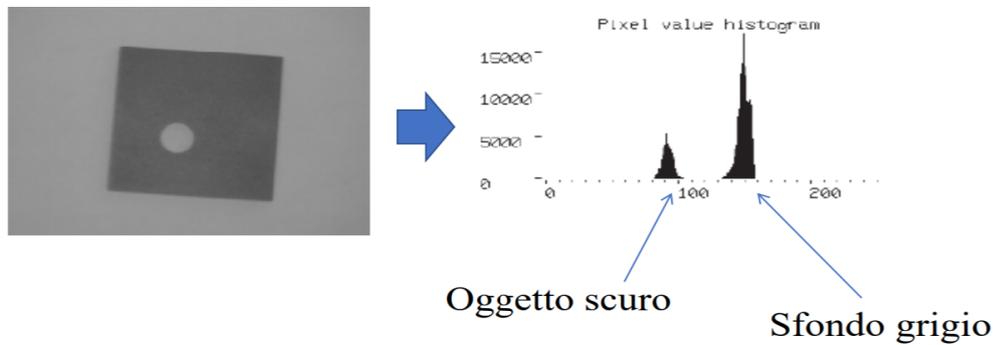
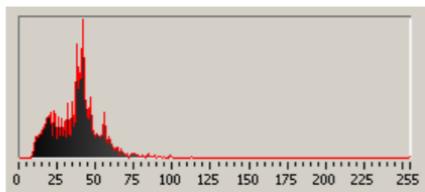
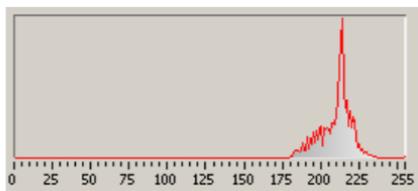


Figura 16 - manuale Vision (NI)

Un istogramma troppo stretto corrisponde ad un'errata esposizione dell'immagine.



Scena poco esposta (scura)



Scena sovra-esposta (luminosa)

Figura 17 - manuale Vision (NI)

Un istogramma con dei livelli troppo alti o troppo bassi corrisponde ad un'errata esposizione dell'immagine.

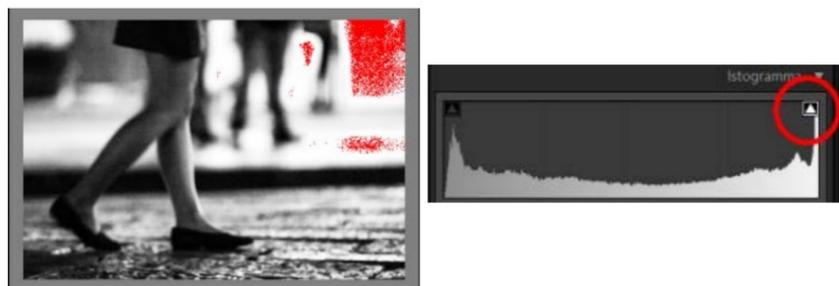


Figura 18 - manuale Vision (NI)

**LOOK-UP-TABLE:** è un algoritmo che permette delle trasformazioni sui livelli di grigio per migliorare il contrasto o la luminosità.

La LUT, cioè, crea una nuova immagine con le intensità modificate, ovvero mappa l'intensità in ingresso per ottenerne una in uscita, quindi non modifica il contenuto informativo dell'immagine ma la rappresentazione, rendendola più intellegibile.

$$I_{\text{output}} = f(I_{\text{input}})$$

Le LUT si classificano in:

**Reverse:** è una funzione lineare data da una retta a (-45°) che provoca un'inversione della scena, cioè trasforma ciò che è luminoso in scuro e viceversa. Per esempio, quando incontro un pixel la cui luminosità è 0 (pixel nero), tale luminosità viene trasformata in 255 (pixel bianco).

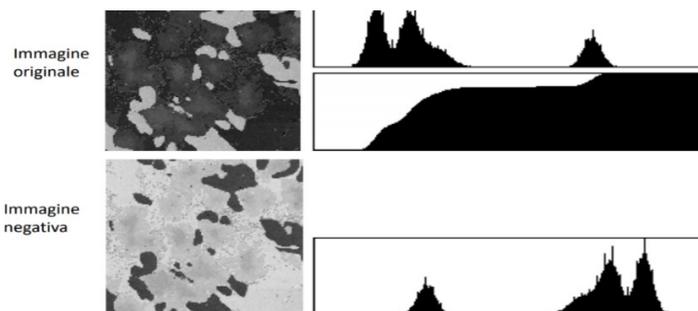


Figura 19 - manuale Vision (NI)

**Equalize:** è una funzione lineare che equalizza, cioè ridistribuisce i livelli di intensità luminosi presenti in un'immagine su tutto l'asse delle ampiezze, quindi aumenta le differenze di contrasto.

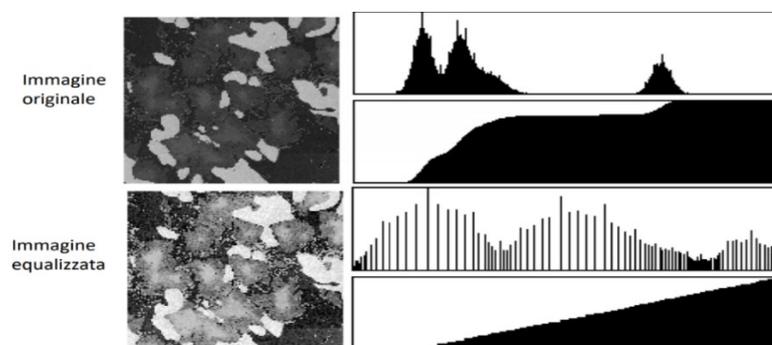


Figura 20 - manuale Vision (NI)

**Concavità verso il basso:** è una funzione non lineare (funzione logaritmo, radice) molto ripida all’inizio e poco ripida alla fine, cioè aumenta il contrasto nella prima parte di scala dove sono presenti regioni scure (pendenza ripida) e diminuisce il contrasto nella seconda parte di scala dove sono presenti regioni chiare (pendenza poco ripida), quindi l’immagine in uscita sarà sempre più luminosa dell’immagine originale.

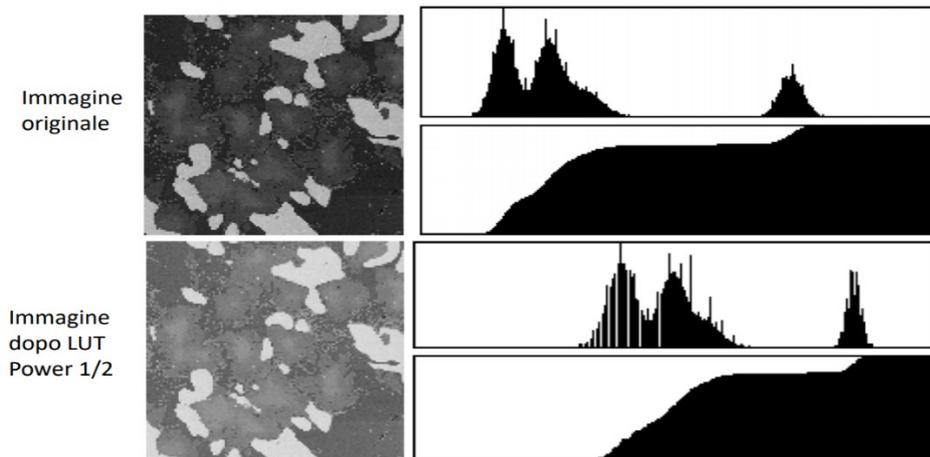


Figura 21 - manuale Vision (NI)

**Concavità verso l’alto:** è una funzione non lineare (funzione quadrato, potenze) molto ripida alla fine e poco ripida all’inizio, cioè aumenta il contrasto nella seconda parte di scala dove sono presenti regioni chiare (pendenza ripida) e diminuisce il contrasto nella prima parte di scala dove sono presenti regioni scure (pendenza poco ripida), quindi l’immagine in uscita sarà sempre più scura dell’immagine originale).

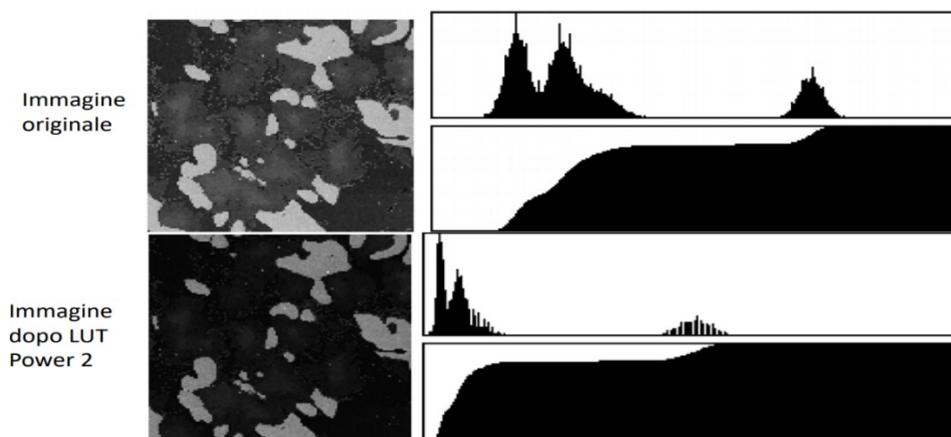


Figura 22 - manuale Vision (NI)

## → ALGORITMI PER IL PROCESSAMENTO DELLE IMMAGINI

Gli algoritmi per il processamento delle immagini permettono di predisporre le immagini al meglio affinché su tali immagini sia possibile fare misure sugli oggetti presenti nella scena.

**OPERATORI CON IMMAGINI:** le immagini sono matrici di pixel, dove ogni pixel rappresenta un'intensità luminosa, quindi le operazioni di immagini lavorano sugli (n\*m) pixel.

Gli operatori aritmetici sono: +, -, \*, /.

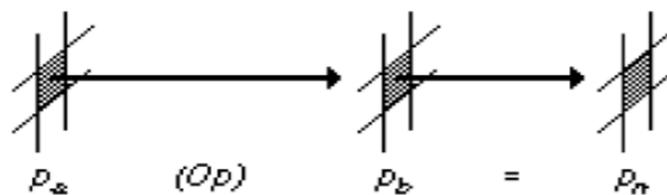
$$p_n = (p_a)(Op)(p_b)$$


Figura 23 - manuale Vision (NI)

L'operatore +, ad esempio, viene utilizzato quando si ha la necessità di avere un soggetto in uno sfondo di un'altra immagine.

L'operatore -, ad esempio, viene utilizzato per verificare se le immagini hanno dei cambiamenti di scena.

### Esempio: Perdita olio nei condotti

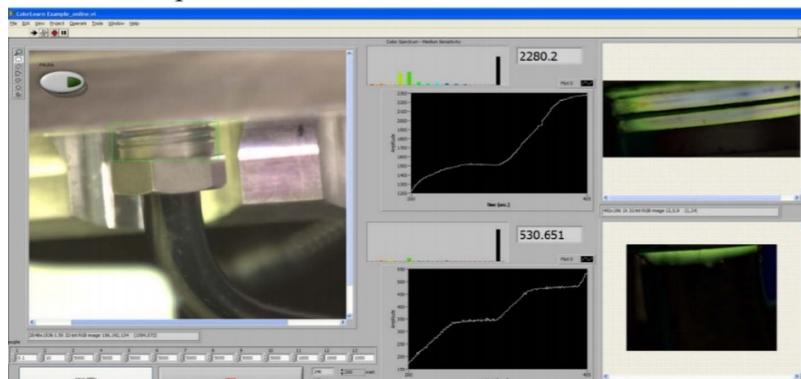


Figura 24

**FILTRI SPAZIALI:** modificano il contenuto informativo dell'immagine di partenza, quindi generano una nuova immagine filtrata e servono per ridurre i disturbi in una scena, per modificare i bordi, per esaltare/eliminare i dettagli.

Tali filtri non lavorano con le frequenze nel tempo, ma con le frequenze nello spazio che sono l'inverso della periodicità nello spazio del segnale.

**Bassa frequenza spaziale:** segnali la cui intensità luminosa varia lentamente nello spazio. Per esempio, un muro bianco ha una frequenza pari a 0.

**Alta frequenza spaziale:** segnali la cui intensità luminosa varia velocemente nello spazio, cioè l'intensità luminosa varia da punto a punto. Per esempio, un muro con sfondo bianco e strisce nere molto vicine tra loro ha un'alta frequenza.

**Filtro passa-alto:** non fa passare le basse frequenze spaziali (le attenua, le elimina) e amplifica le zone dove non ci sono variazioni di luminosità nello spazio, quindi esalta i dettagli.

**Filtro passa-basso:** non fa passare le alte frequenze spaziali (le attenua, le elimina) e amplifica le zone dove non ci sono variazioni di luminosità nello spazio, quindi elimina i dettagli.

Il filtro spaziale è tutto incentrato su una matrice, che prende il nome di nucleo o kernel dell'algoritmo, di dimensioni 3\*3, 5\*5, 7\*7, 9\*9 così da avere un pixel centrale e un numero pari di pixel che ruotano intorno.

Al pixel centrale della matrice viene applicato l'algoritmo, cioè viene riscritta l'intensità luminosa del pixel in esame e la si rende funzione dell'intensità luminosa di partenza e di tutti i pixel adiacenti.

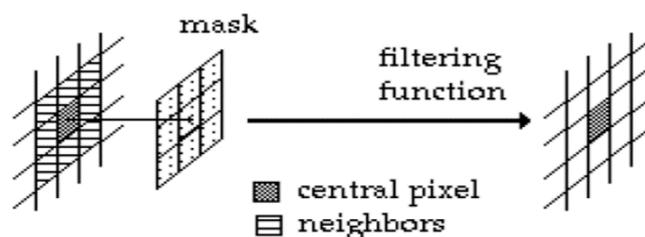


Figura 25 - manuale Vision (NI)

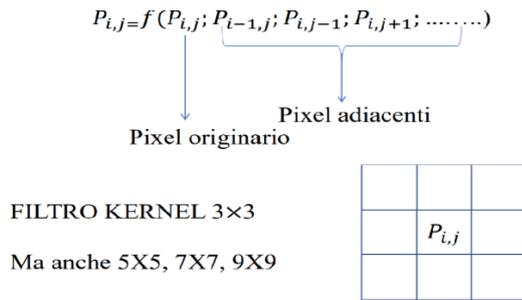


Figura 26 - manuale Vision (NI)

Se il kernel contiene coefficienti sia negativi che positivi, la funzione di trasferimento è equivalente ad una derivata spaziale e questa produce un filtro passa-alto.

Se il kernel contiene coefficienti solo positivi, la funzione di trasferimento è equivalente ad una media spaziale e questa produce un filtro passa-basso.

**Filtro Gradiente:** è un filtro lineare che mette in evidenza le variazioni di intensità luminosa lungo determinate direzioni (dal - verso il +): quindi evidenzia bordi e alza rumore.

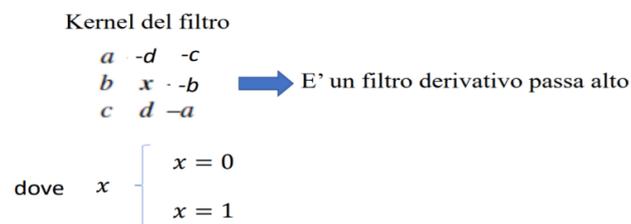


Figura 27 - manuale Vision (NI)

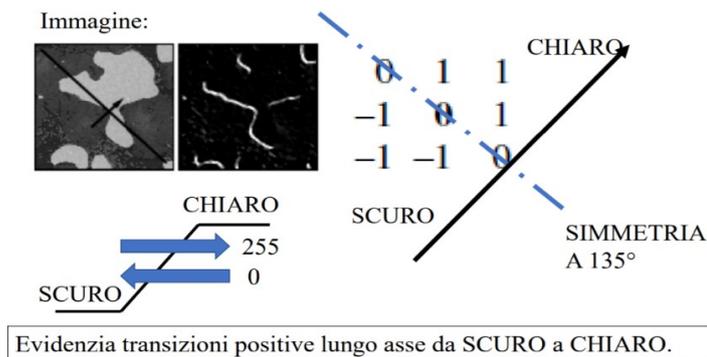


Figura 28 - manuale Vision (NI)

Se  $X=1$ , allora nell'immagine finale viene risaltato il bordo sopra l'immagine finale.

Se  $X=0$ , allora nell'immagine finale viene risaltato il bordo sopra uno sfondo scuro.

**Filtro laplaciano:** è un filtro lineare omnidirezionale passa alto, mette in evidenza i bordi, ma alza il rumore.

Kernel del filtro

$$\begin{matrix} a & d & c \\ b & x & b \\ c & d & a \end{matrix}$$



Filtro derivativo di secondo ordine

$$x = | (2 \times (a + b + c + d)) |$$

$$x > | (2 \times (a + b + c + d)) |$$

Figura 29 - manuale Vision (NI)

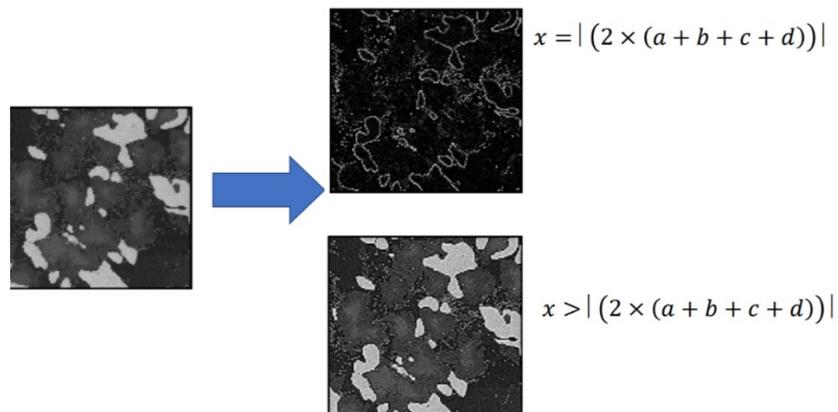


Figura 30 - manuale Vision (NI)

Nel primo caso il filtro determina tutti i bordi sopra uno sfondo scuro.

Nel secondo caso il filtro determina tutti i bordi sopra lo sfondo iniziale.

**Filtro smoothing:** è un filtro lineare passa basso, cioè attenua le variazioni di luce intensa nelle vicinanze di un pixel. Sfuma le variazioni di intensità (bordi), quindi attenua il rumore.

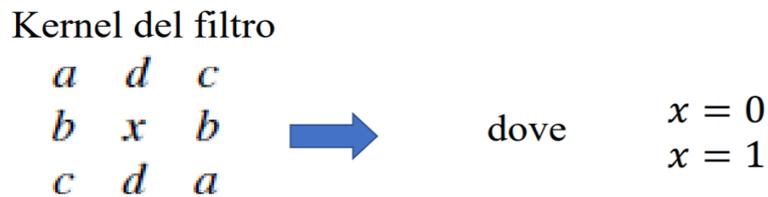


Figura 31 - manuale Vision (NI)

Se  $X=1$ , allora l'immagine originale è sommata a quella filtrata.

Se  $X=0$ , allora l'immagine originale non è sommata a quella filtrata.

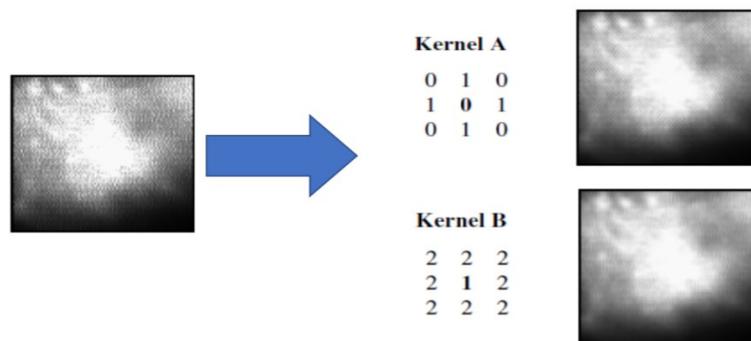


Figura 32 - manuale Vision (NI)

Quando il filtro è applicato all'immagine, il pixel centrale del kernel viene sostituito con la media delle intensità luminose che si hanno sopra, sotto, a destra e a sinistra nella matrice.

Più il kernel è grosso e più esso incide su uno spazio importante, quindi la sua risoluzione spaziale è più modesta e la media è ancora più spinta.

**Filtro gaussiano:** è un filtro lineare passa basso che attenua le variazioni di luce intensa nelle vicinanze di un pixel come lo smoothing, però ha un effetto meno evidente.

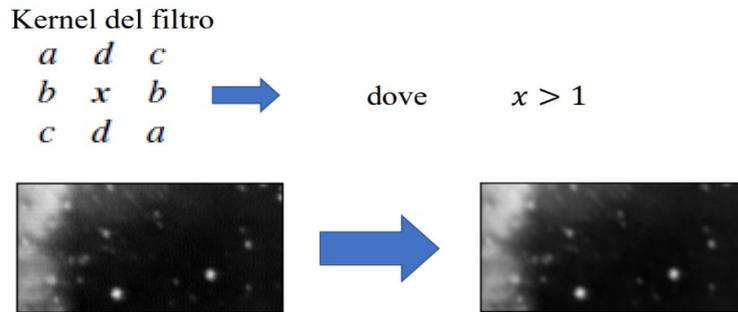


Figura 33 - manuale Vision (NI)

La distribuzione dei valori ha un valore massimo nel centro ( $X > 1$ ).

Se  $X > 1$ , ovvero il peso dell'immagine luminosa di partenza è più alto di 1, allora l'effetto del filtro è meno pronunciato di quello allisciatore (smoothing).

**Filtro di Prewitt:** è un filtro passa-alto non lineare, cioè sostituisce il valore di ciascun pixel dell'immagine con una funzione ( $f$ ) non lineare dei pixel che si trovano nei dintorni di esso, ed estrae i bordi luminosi di un oggetto luminoso su un bordo scuro.



Figura 34 - manuale Vision (NI)

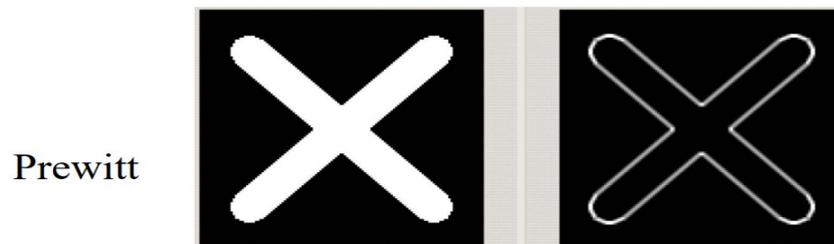


Figura 35 - manuale Vision (NI)

## → ANALISI DELLA MORFOLOGIA

La morfologia è la scienza delle forme ed è la disciplina finalizzata a fare misure dimensionali sugli oggetti presenti in una scena di un'immagine, in un dominio bidimensionale perché non si vede la profondità.

Le misure sugli oggetti vengono fatte in pixel, ma con opportune conversioni si possono trasformare in unità fisiche, attraverso processi di taratura e di calibrazione.

Oltre alle dimensioni, la morfologia permette di riconoscere le forme di oggetti bidimensionali come quadrati, cerchi, ecc., ma anche coordinate baricentriche, aree e momenti di inerzia.

L'analisi morfologica può essere eseguita su due categorie di immagini:

1. Immagini a livelli di grigio
2. Immagini binarie

**BINARIZZAZIONE:** è un processo che, grazie all'utilizzo di una speciale LUT, mi permette di ottenere un'immagine con solo 2 livelli di grigio, cioè un'immagine che per rappresentare l'intensità luminosa utilizza solo 1 bit, partendo da un'immagine con 256 livelli di grigio, cioè un'immagine che per rappresentare l'intensità luminosa utilizza 8 bit.

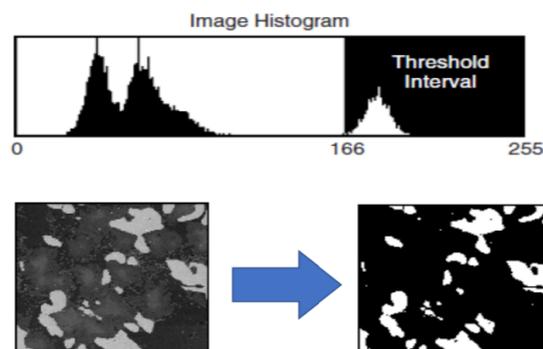


Figura 36 - manuale Vision (NI)

0 = nero

1= bianco (in realtà è 255, cioè bianco, così da restituire l'informazione all'utente)

**SOGLIATURA:** è un primo passo che mi permette di estrarre nella scena solo ciò che voglio vedere, infatti viene stabilita una soglia all'interno dell'istogramma, dove per i valori sotto la soglia avremo uno 0 e sopra avremo 1. Solitamente la soglia viene posizionata nel punto minimo, in mezzo a 2 picchi.

Talvolta la sottrazione dello sfondo è un qualcosa che migliora la qualità dell'immagine, prima di applicare il processo di sogliatura.

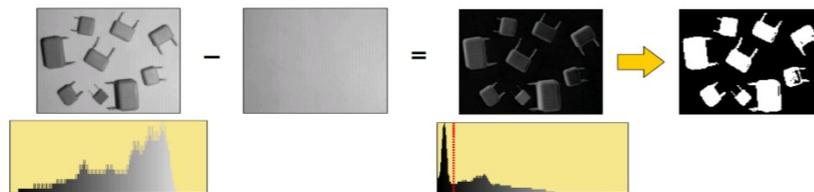


Figura 37 - manuale Vision (NI)

**Clusterizzazione:** è una tecnica di sogliatura automatica per segmentare una immagine e viene utilizzata quando si vuole un numero di classi maggiore di 1, cioè l'istogramma dei livelli di grigio viene suddiviso in classi e per ogni classe viene associata una soglia che è il baricentro della classe.

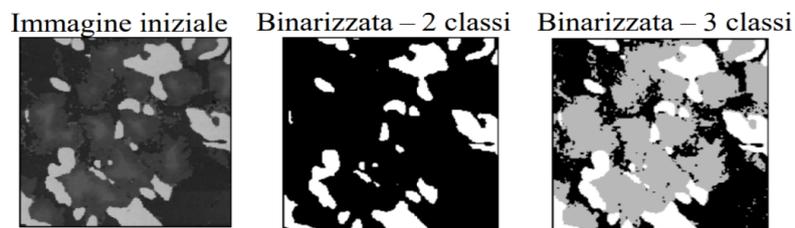


Figura 38 - manuale Vision (NI)

**Binarizzazione con soglia locale:** per ogni pixel la soglia è determinata considerando una porzione dell'immagine, cioè viene divisa ricorsivamente l'immagine in regioni finché l'istogramma è chiaramente bimodale (due picchi ben separati).

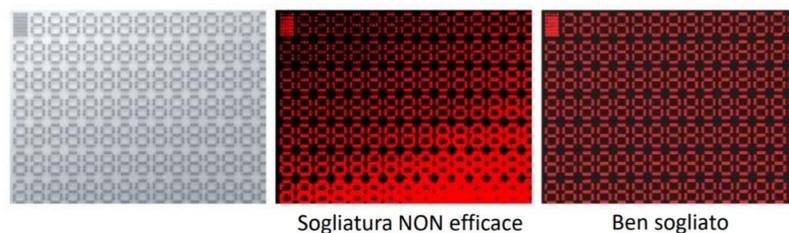


Figura 39 - manuale Vision (NI)

Dopo il processo di sogliatura, gli oggetti potrebbero contenere dei puntini neri al loro interno perché la luminosità in alcune parti dell'oggetto poteva essere al di sotto del valore della soglia oppure non si riesce a comprendere se i pixel fanno parte di uno stesso oggetto.

Proprio per questo motivo, prima di andare a fare la misura delle caratteristiche geometriche di un oggetto rappresentato da tanti pixel, bisogna superare questo problema attraverso operazioni chiamate **erosione**, **dilatazione**, e le loro combinazioni chiamate **opening** e **closing**.

**EROSIONE:** è un algoritmo logico che permette di limare i bordi, cioè vengono smussate le punte su un confine di un oggetto, permette di eliminare i pixel isolati, permette di eliminare il rumore, ma allo stesso tempo riduce le dimensioni dell'elemento in esame.

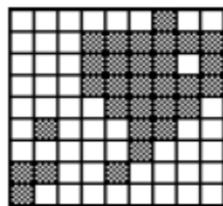


Immagine originaria (binaria)

Figura 40 - manuale Vision (NI)

Implementazione algoritmo:

ogni pixel che è uguale a 1 E che non ha i suoi tre vicini in alto a sinistra uguali a 1 viene cancellato. Questa erosione tronca i bordi in alto a sinistra.

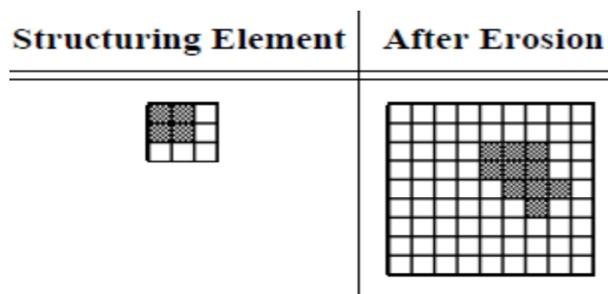


Figura 41 - manuale Vision (NI)

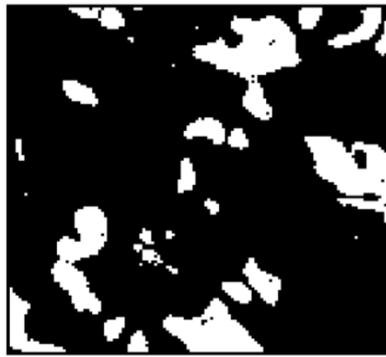


Immagine originaria (binaria)

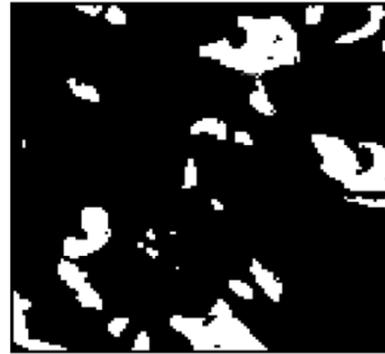


Immagine erosa

Figura 42 - manuale Vision (NI)

**DILATAZIONE:** è un algoritmo logico che permette di riempire i fori isolati, cioè i pixel bui presenti in un oggetto vengono accesi, ma allo stesso tempo aumenta le dimensioni dell'oggetto in esame.

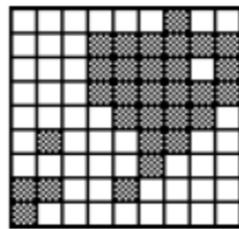


Immagine originaria (binaria)

Figura 43 - manuale Vision (NI)

Implementazione algoritmo:

Ogni pixel che è uguale a 1 O che ha uno dei suoi tre vicini in alto a sinistra uguale a 1 viene acceso. Questo la dilatazione espande i bordi in basso a destra dell'oggetto.

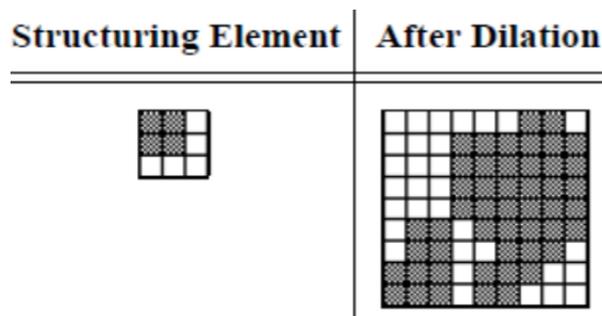


Figura 44 - manuale Vision (NI)

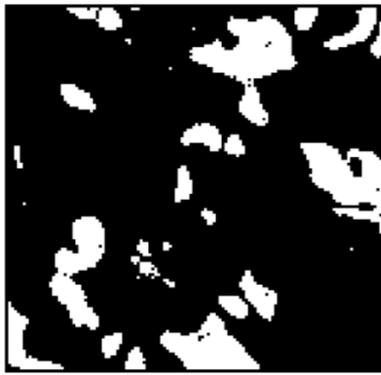


Immagine originaria (binaria)

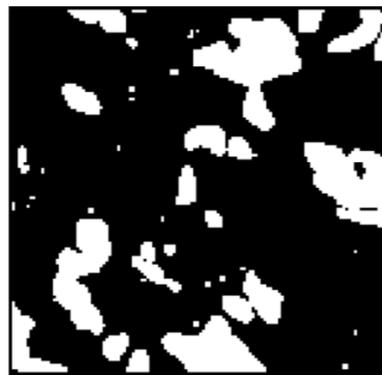


Immagine dilatata

Figura 45 - manuale Vision (NI)

Per ridurre al minimo le modifiche causate dall'erosione e dalla dilatazione sull'oggetto in esame, conviene utilizzare un uso combinato di questi algoritmi:

1. **OPENING** ( I ) = DILATATION [ EROSION ( I ) ]

a) Rimuove oggetti micro

b) Poi alliscia i bordi

2. **CLOSING** ( I ) = EROSION [ DILATATION ( I ) ]

a) Riempie forellini

b) Poi erode

**LABELLING:** è una procedura che etichetta gli oggetti individuati in un'immagine, cioè assegna un diverso livello di grigio a ciascun elemento. Per farlo, però, è necessario identificare gruppi di pixel connessi, che identificano oggetti, attraverso il **criterio di connettività**:

Connettività-4 → 2 pixel sono considerati come parte dello stesso oggetto se loro sono adiacenti orizzontalmente o verticalmente.

Connettività-8 → 2 pixel sono considerati come parte dello stesso oggetto se loro sono adiacenti orizzontalmente, verticalmente e diagonalmente.

**BLOB ANALYSIS:** misura la geometria di tutti gli oggetti presenti in una scena di un'immagine. Le misure che vengono analizzate sono:

θ Conteggio del numero di particelle su di una immagine.

θ Area delle singole particelle (unità in pixel) in una immagine.

θ Centro di massa X e Y delle particelle.

θ Rettangolo che include la particella i-esima.

θ Perimetro delle particelle.

θ Massima lunghezza della particella

θ Particelle nei buchi di altre particelle.

θ Dimensione dell'ellisse che circonda la singola particella.

θ Momenti d'inerzia delle particelle. θ Fattore di circolarità delle particelle.

Tutte le misure che si ottengono sono espresse in pixel, quindi per averle in unità fisiche si deve ricorrere alla calibrazione e questa si divide in:

- 1) Calibrazione in X e Y: serve una matrice di punti di calibrazione nella quale conosco la dimensione dei puntini neri e la distanza tra i loro centri. Se inquadro questa matrice ho un riferimento metrico (CAMPIONE) così da trasformare l'unità in pixel in unità metrica. Questo processo di calibrazione, però, è più complesso perché la matrice dei punti funziona bene solo se l'immagine di riferimento è contenuta nel piano oggetto e sta perpendicolare all'asse ottico, insieme al sensore. Nella realtà ci sono infiniti motivi per i quali l'asse ottico della telecamera non sarà mai esattamente perpendicolare al target e ciò genera effetti prospettici.

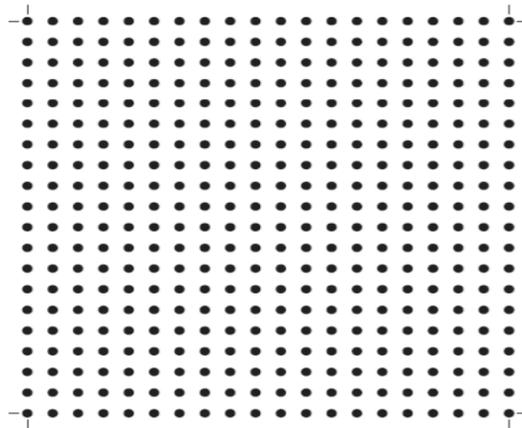


Figura 46 - manuale Vision (NI)

- 2) Calibrazione in intensità dell'immagine: sul pixel di una telecamera ad infrarossi per termovisione arriva una radiazione infrarossa con una certa intensità. Sapendo che l'intensità della radiazione infrarossa dipende dalla temperatura (funzione non lineare), allora attraverso un processo di taratura realizzo un ingresso noto per vedere quale è l'uscita. Verrà fuori una curva e attraverso una regressione lineare, cioè un'interpolazione polinomiale ai minimi quadrati, si ottiene una relazione tra una grandezza scalare, la temperatura, e la grandezza fisica che è l'uscita del sensore.

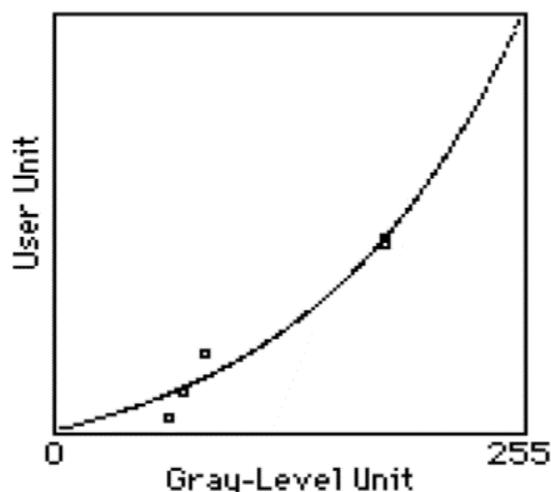


Figura 47 - manuale Vision (NI)

## → ALGORITMI DI MATCHING

Gli algoritmi di matching sono finalizzati a riconoscere e localizzare in una scena di un'immagine alcune distribuzioni di intensità luminose generate dalla presenza di oggetti.

Nel mondo dell'ingegneria, tali algoritmi sono estremamente utilizzati, infatti, per esempio vengono usati per il controllo qualità oppure per i sistemi di visione per la guida di un robot.

Per matching si intende la corrispondenza tra un'immagine di riferimento (template) e le parti di una scena dell'immagine iniziale.

**PATTERN MATCHING:** opera a partire da un template, cioè quello che io voglio cercare all'interno della scena dell'immagine iniziale.

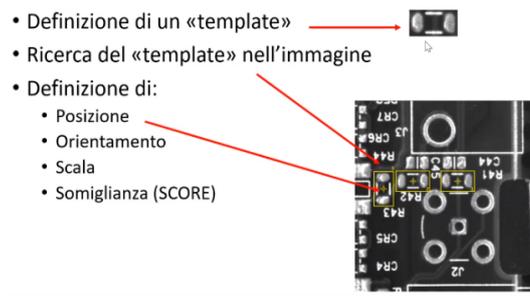


Figura 48 - manuale Vision (NI)

3 regioni con intensità luminosa simili al template sono state trovate, quindi l'algoritmo definisce la posizione, l'orientamento, la scala e l'indicatore di somiglianza (SCORE), cioè una funzione il cui valore dice di quanto l'oggetto trovato è somigliante al template.

Implementazione algoritmo:



Figura 49

È proprio il calcolo dello SCORE il cuore dell'algorithm.

Le ipotesi per il calcolo dello score sono le seguenti: le immagini sono rappresentate su livelli di grigio (immagini a 8 bit), la posizione dell'oggetto da riconoscere può essere descritta da una pura traslazione del template.



Figura 50

L'algorithm consiste nel far scorrere il Template sull'immagine da analizzare al fine di stimare in ogni posizione la similarità fra Template e sotto-immagine corrente.

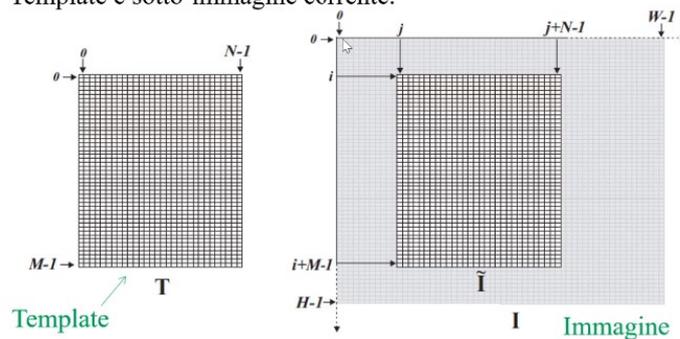


Figura 51 - manuale Vision (NI)

Formule calcolo score:

SAD Sum of the Absolute gray value Difference

$$S_{SAD}(i, j) = \frac{1}{n} \sum_{(u,v) \in T} |t(u, v) - I(u + i, v + j)|$$

Figura 52 - manuale Vision (NI)

Questa formula permette di trovare la somiglianza calcolando la differenza di intensità luminosa tra quella del template e dell'immagine sottostante. Si usa il modulo della

differenza perché raramente il template è uguale a ciò che è sotto di lui, quindi non si hanno valori negativi. Più il valore è vicino allo zero e più c'è somiglianza.

SSD Sum of the Squared gray value Difference

$$S_{SSD}(i, j) = \frac{1}{n} \sum_{(u,v) \in T} [t(u, v) - I(u + i, v + j)]^2$$

Figura 53 - manuale Vision (NI)

Questa formula utilizza la differenza al quadrato tra l'intensità luminosa del template e dell'immagine sottostante per far scomparire i segni.

Questi algoritmi sono molto sensibili alle differenze di luminosità che si hanno tra template e scena, quindi funzionano solo in condizioni di illuminazione stabile e ripetibile.

Il metodo SAD è da preferirsi se si intende risparmiare risorse di calcolo. Infatti, il calcolo dei quadrati nell'SSD è certamente più oneroso sia in termini di risorse adoperate, sia in termini di tempo di elaborazione.

La probabilità di un match sbagliato decresce in proporzione all'aumentare delle dimensioni della finestra di Template.

Template di piccole dimensioni aumentano la possibilità di individuazione, ma aumenta la probabilità di falsi accoppiamenti.

**Algoritmo di cross correlazione:** rappresenta un'alternativa per il calcolo dello SCORE poichè rappresenta la misura di similitudine di due segnali come funzione di uno spostamento o traslazione temporale applicata ad uno di essi. Considerando due segnali a valori reali x e y che differiscono solamente per uno spostamento sull'asse t, si può calcolare la correlazione incrociata per mostrare di quanto y deve essere anticipato per renderlo identico ad x. La formula essenzialmente anticipa il segnale y lungo l'asse t, calcolando l'integrale del prodotto per ogni possibile valore dello spostamento. Quando

i due segnali coincidono, il valore di  $(x*y)$  è massimizzato, poiché quando le forme d'onda sono allineate, esse contribuiscono solo positivamente al computo dell'area.

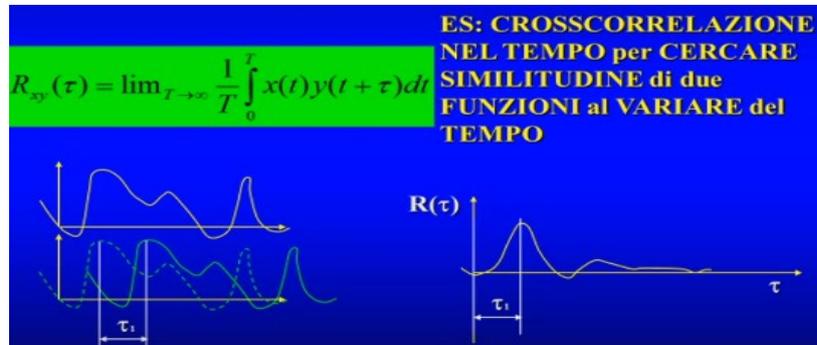


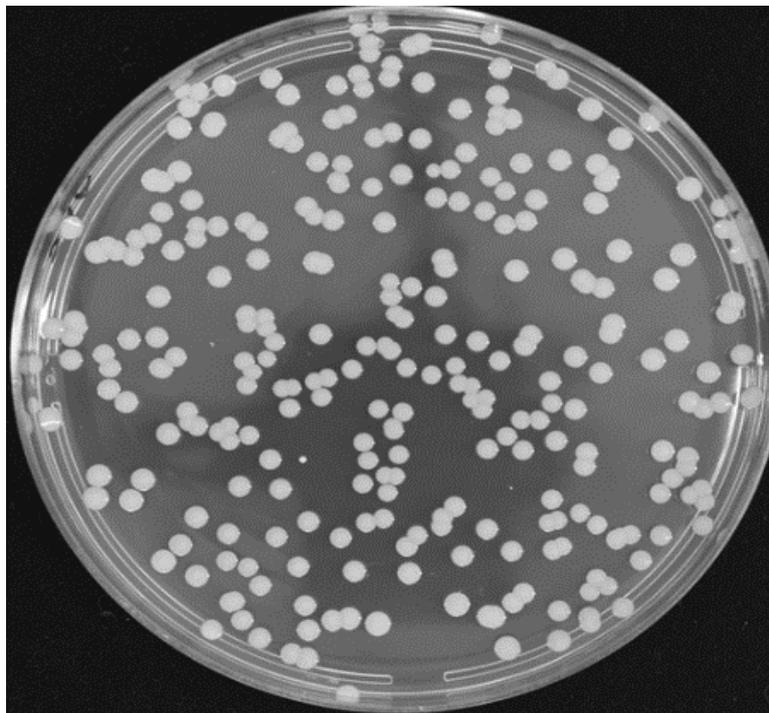
Figura 54

**GEOMETRIC MATCHING:** è un algoritmo che cerca le primitive geometriche in una scena di un'immagine, cioè punti, bordi, angoli. Secondo questo algoritmo, 2 oggetti si assomigliano se contengono gli stessi attributi geometrici nello spazio, e questi possono essere identificati tramite la trasformata di Hough.

## CAPITOLO 4

### IMPLEMENTAZIONE DEGLI ALGORITMI PER IL CONTEGGIO DELLE COLONIE BATTERICHE

L'immagine digitale, rappresentante le colonie batteriche all'interno del disco di petri, catturata e resa in questo modo "comprensibile" da un calcolatore, può quindi essere elaborata con un apposito software che comprende particolari algoritmi di calcolo ed analisi, in grado di individuare le caratteristiche dell'immagine e amplificarne alcuni aspetti - ad esempio contorni, spigoli, forme, strutture - allo scopo di eseguire il colony counting.

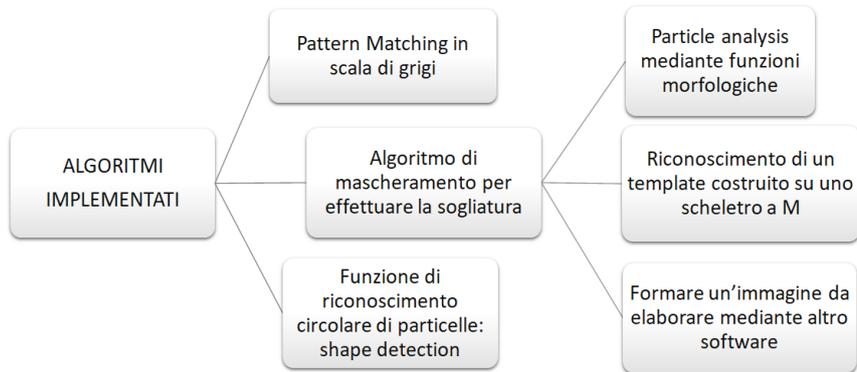


*Figura 55 – software Vision Assistant (NI)*

Per una corretta implementazione degli algoritmi per il conteggio, siamo partiti da una conoscenza empirica di **282 colonie batteriche**

I pacchetti software utilizzati sono stati due: **Vision Assistant** della National Instrument e **ImageJ** sviluppato dal National Institutes of Health degli Stati Uniti.

## ➔ IMPLEMENTAZIONE ALGORITMI SU VISION ASSISTANT



### Pattern Matching in scala di grigi:

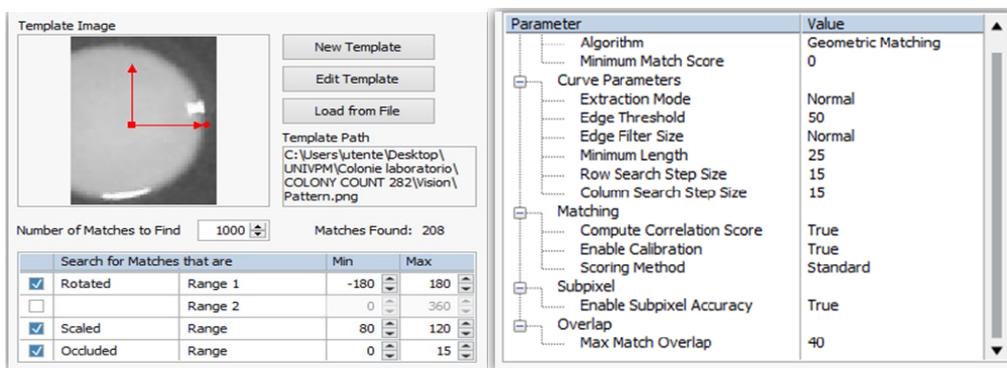


Figura 56 - software Vision Assistant (NI)

Una volta selezionato il template, per rintracciare più particelle nell'immagine, bisogna ridurre i parametri dello score e della percentuale di sovrapposizione, mentre bisogna impostare i parametri di rotazione, scala ed occlusione.

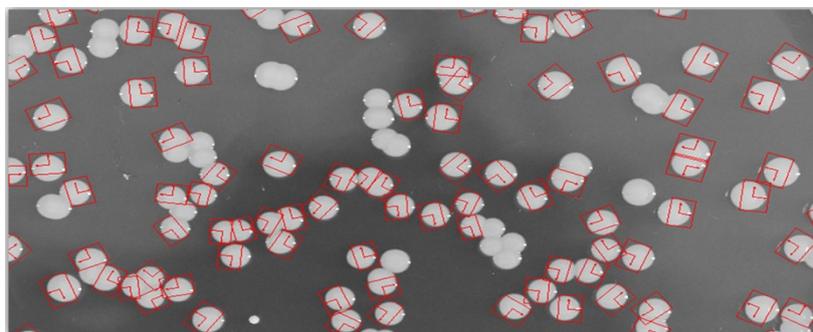


Figura 57 - software Vision Assistant (NI)

Le particelle trovate sono **208/282**, quindi questo algoritmo è poco affidabile ma rapido e richiede molto più tempo nel caso in cui si voglia ottimizzare il conteggio.

## Shape detection

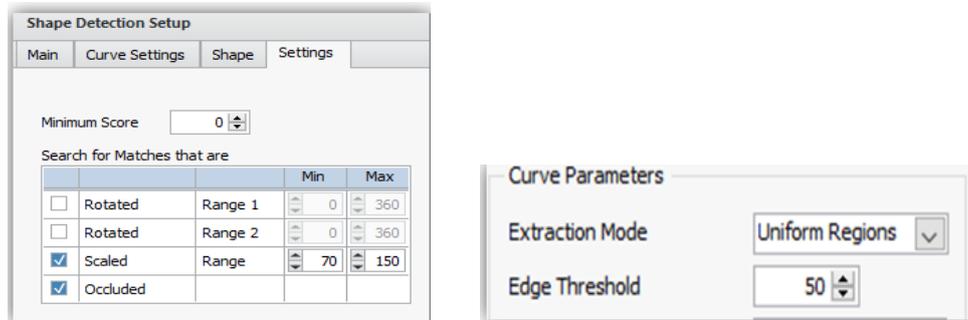


Figura 58 - software Vision Assistant (NI)

Una volta impostato il range del raggio, l'algoritmo riconosce le particelle circolari.

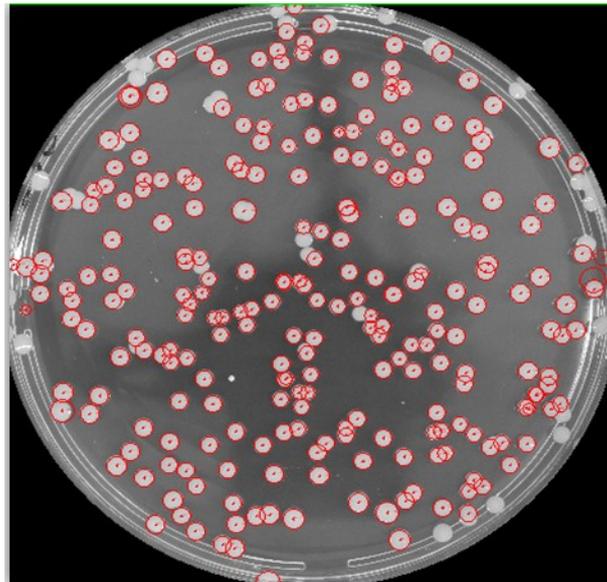


Figura 59 - software Vision Assistant (NI)

Le particelle trovate sono **254/282**, quindi questo algoritmo permette maggiore affidabilità rispetto al pattern matching, ed è stato ottenuto impostando pochi parametri.

## Algoritmo di mascheramento per effettuare la sogliatura

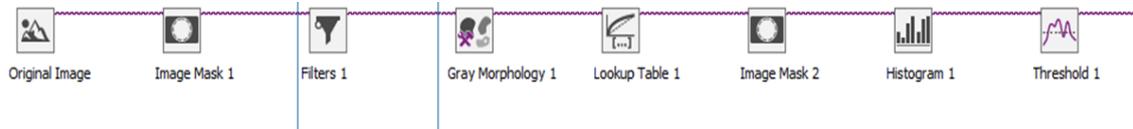


Figura 60 - software Vision Assistant (NI)

L'algoritmo ha l'obiettivo di trasformare l'immagine originale in un'immagine binaria o pronta per essere sottoposta a sogliatura.

La maschera iniziale serve per isolare il contenuto oggetto di studio dal resto dell'immagine, mentre quella(e) finale(i) elimina eventuali disturbi.

In tale algoritmo, nel caso di immagine a colori, è necessario effettuare l'estrazione dei colori.

L'istogramma è un indicatore del corretto valore di bit a cui sogliare l'immagine.

L'output dell'algoritmo può essere oggetto di lavoro su vision o su un software esterno.

La funzione definita come «filters 1» rappresenta un filtro di convoluzione che mette in risalto i dettagli.

La struttura del kernel di tale filtro è valutata in base alle caratteristiche dell'immagine di partenza.

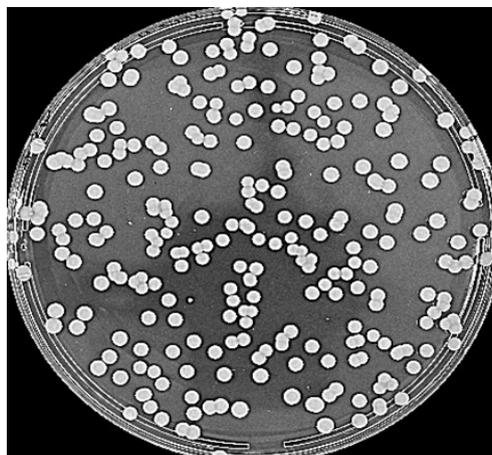
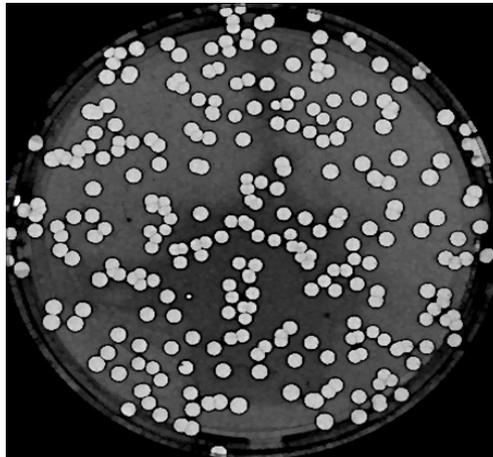


Figura 61 - software Vision Assistant (NI)

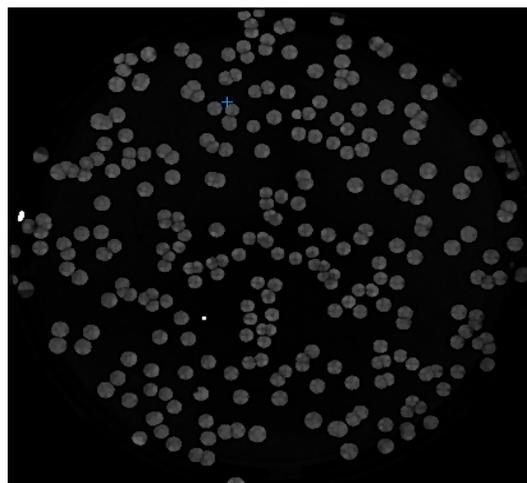
Al filtro di convoluzione segue la funzione morfologica open, che elimina dall'immagine tutti quei pixel chiari che si trovano circondati da pixel scuri.



*Figura 62 - software Vision Assistant (NI)*

Alla funzione morfologica segue una lookup table di tipo esponenziale, che neutralizza completamente lo sfondo dell'immagine e ciò che resta del bordo.

Tale funzione semplifica il processo di sogliatura di un'immagine.



*Figura 63 - software Vision Assistant (NI)*

## Riconoscimento di un template costruito su uno scheletro a m



Figura 64 - software Vision Assistant (NI)

L'algoritmo si compone dei seguenti passi:

- Erosione
- trasformazione dell'immagine nel suo scheletro
- applicazione della funzione morfologica close per rendere interpretabile lo scheletro
- una funzione di separazione oggetti

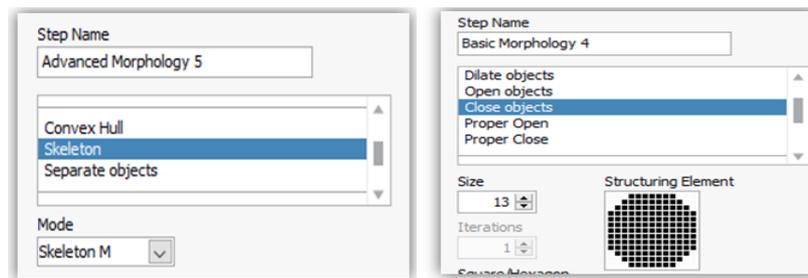


Figura 65 - software Vision Assistant (NI)

La struttura di ogni algoritmo è opportunamente dimensionata in base alle caratteristiche dell'immagine

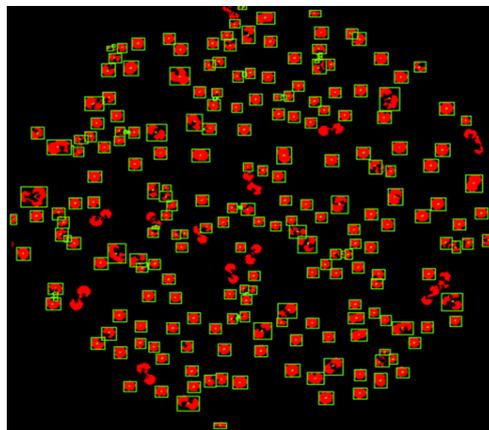


Figura 66 - software Vision Assistant (NI)

La funzione di ricerca binaria shape matching permette di individuare attraverso la costruzione di un template, gli oggetti dello scheletro corrispondenti alle particelle.

Le colonie trovate sono **271/282**, quindi l'algoritmo risulta impreciso anche se necessita di molti passaggi.

## ➔ IMPLEMENTAZIONE ALGORITMO SU IMAGEJ

ImageJ, a differenza di Vision, permette di avere un approccio diretto con l'immagine, quindi per il conteggio delle particelle è stato utile l'implementazione di un solo algoritmo.

*PASSI:*

- *PRIMO MASCHERAMENTO*, è un procedimento molto flessibile e non standardizzabile



Figura 67 – software ImageJ

- *SOGLIATURA*

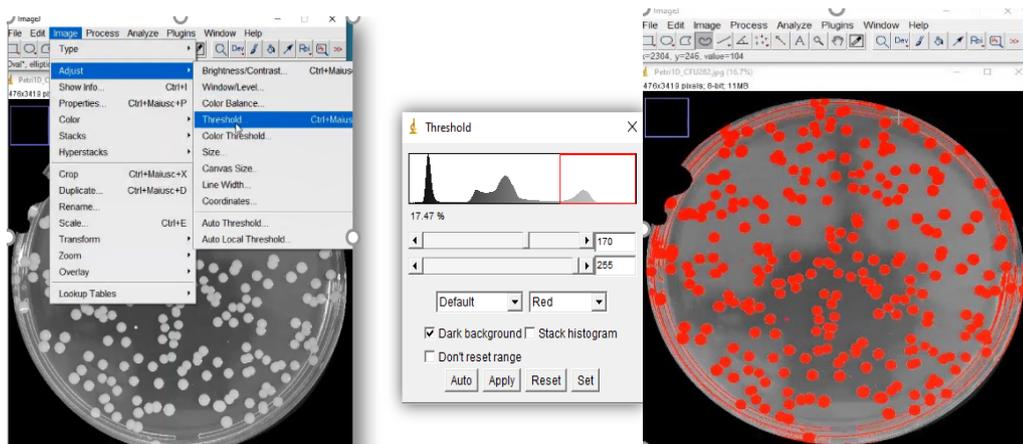


Figura 68 - software ImageJ

- *VARIAZIONI DELLA MORFOLOGIA MEDIANTE ALGORITMI E CON TECNICA MANUALE*

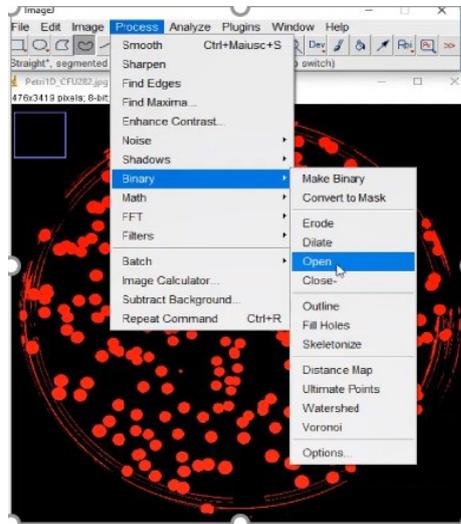


Figura 69 - software ImageJ

- *SEPARAZIONE AUTOMATICA E MANUALE DI PARTICELLE SOVRAPPOSTE,* mediante un confronto tra l'immagine di partenza e quella processata
- *PARTICLE ANALYSIS,* fornisce l'output dell'algoritmo e il risultato di tale conteggio è di **282/282**. In imagej è possibile selezionare le caratteristiche delle particelle da individuare in termini di pixel e geometria, neutralizzando i disturbi presenti.

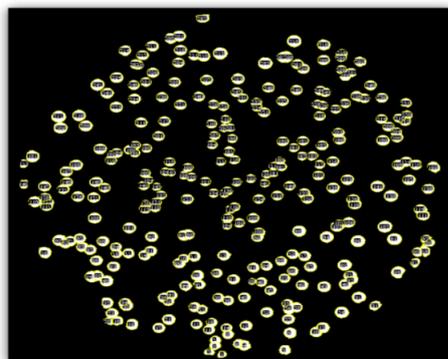


Figura 70 - software ImageJ

## CONCLUSIONI

Dopo aver implementato gli algoritmi per il conteggio delle colonie batteriche tramite software, è emerso che Vision Assistant utilizza un approccio standardizzato rispetto ad ImageJ, poiché, quest'ultimo, permette di avere un'interazione diretta tra l'utente e l'immagine per le operazioni di mascheramento, separazione di oggetti e rimozione di disturbi.

Nel caso di immagini complesse, però, un approccio di tipo diretto può richiedere del tempo, soprattutto nel lavoro sulla morfologia, quindi ogni immagine fa storia a sé.

Proprio per questo motivo un utilizzo combinato dei due software potrebbe portare a una soluzione più efficace, integrando l'elevata rapidità e standardizzazione degli algoritmi Vision con la flessibilità di ImageJ.

Un altro aspetto legato al conteggio delle colonie batteriche è l'analisi costi/benefici, attraverso uno studio comparativo tra il conteggio visivo e il conteggio tramite software; il pacchetto software combinato con lo strumento di visione sono dei costi da sostenere necessariamente, ma tali costi potrebbero essere marginali a fronte dei benefici che si possono ottenere, come l'incremento di certificazioni nell'unità di tempo o il risparmio sui costi legati alla manodopera per il conteggio visivo.

Bisogna tenere in considerazione, però, che i benefici sono proporzionali alla qualità dell'algoritmo implementato, ma soprattutto sono correlati all'obiettivo legato alla misura, cioè, o una massimizzazione della qualità o una minimizzazione dei tempi per il conteggio.

Anche in questo caso, una misura che permette allo stesso tempo di massimizzare la qualità e di minimizzare i tempi per il conteggio è la soluzione più efficiente e permette di avere maggiori benefici.

## **RINGRAZIAMENTI**

Il mio ringraziamento è rivolto principalmente al Prof. Nicola Paone che, con disponibilità e competenza, mi ha assistito nell'elaborazione del presente lavoro, nonostante le difficoltà del periodo, trasmettendomi la passione per l'approfondimento di tematiche di così grande interesse e attualità.

Un altro ringraziamento va alla mia famiglia, in particolare ai miei genitori, che mi hanno sempre motivato nei momenti di difficoltà credendo in me: sicuramente senza di loro questo traguardo non sarebbe stato possibile.

Voglio inoltre ricordare l'affettuosa vicinanza ed il sostegno che in questo lungo periodo ho potuto ricevere dai miei amici, in particolare da Gabriele, persona sempre generosa e disponibile nei miei confronti e Luigi, con il quale ho condiviso molto del mio tempo durante la mia permanenza a Fermo.

## BIBLIOGRAFIA

- Manuale vision (NI)
- ImageJ
- Norme UNI EN 14683:2019

## SITOGRAFIA

- <https://labc19.univpm.org/>
- <http://www.salute.gov.it/portale/nuovocoronavirus/dettaglioContenutiNuovoCoronavirus.jsp?area=nuovoCoronavirus&id=5351&lingua=italiano&menu=vuoto>
- <http://www.governo.it/it/coronavirus-misure-del-governo>
- <https://www.gazzettaufficiale.it/eli/gu/2020/03/02/53/sg/pdf>
- <https://www.gazzettaufficiale.it/eli/gu/2020/03/17/70/sg/pdf>
- <https://biomedicalcue.it/mascherine-vs-2019ncov-punto-situazione/19471/>

