



**UNIVERSITÀ POLITECNICA DELLE MARCHE**  
**FACOLTÀ DI INGEGNERIA**

---

**Corso di Laurea triennale in Ingegneria Gestionale**

**Analisi d'immagine per l'ottimizzazione del processo di certificazione  
delle mascherine chirurgiche secondo la normativa**

**Image analysis for certification process' optimisation of surgical mask  
according to regulations**

Relatore: Chiar.mo  
**Prof. Nicola Paone**

Tesi di Laurea di:  
**Giacomo Petroselli**

**A.A. 2019 / 2020**

# INDICE

• Introduzione.....	3
• Capitolo 1: Normative legate al processo di certificazione delle mascherine chirurgiche	
1.1 Contesto normativo d'emergenza legato alla certificazione delle mascherine chirurgiche.....	6
1.2 Disciplina di certificazione delle mascherine chirurgiche al di fuori dell'emergenza .....	8
1.3 Generalità sulle norme che disciplinano un sistema di gestione qualità (ISO 9000)..	12
1.4 Cenni sulla norma ISO 9001.....	13
1.5 Generalità sulla disciplina relativa ai laboratori di prova accreditati: la norma ISO/IEC 17025.....	16
• Capitolo 2: Richiami di image processing per il conteggio di colonie batteriche	
2.1 Test di efficienza di filtrazione batterica.....	20
2.2 Metodi di conteggio delle colonie batteriche.....	23
2.3 Richiami teorici sull' image processing.....	24
2.3.1 L'istogramma d'immagine.....	24
2.3.2 La funzione look up table (LUT).....	26
2.3.3 I filtri spaziali.....	27
2.3.4 Le funzioni morfologiche.....	29
2.3.5 Gli algoritmi di matching.....	32
• Capitolo 3: Algoritmi per il conteggio di colonie batteriche mediante software	
3.1 Conteggio colonie batteriche mediante Vision Assistant.....	35
3.2 Conteggio colonie batteriche su Vision per un'immagine da 282 CFU.....	36
3.2.1 Conteggio mediante pattern matching.....	36
3.2.2 Pattern matching con template raffigurante l'intera colonia.....	36
3.2.3 Pattern matching con template raffigurante una porzione della colonia.....	39
3.2.4 Conteggio con shape detection.....	40
3.2.5 Processamento di un'immagine contenente un disco di Petri al fine di effettuare una corretta operazione di sogliatura.....	42

3.2.6	Algoritmi per il conteggio di colonie batteriche su immagine binarizzata.....	46
3.2.7	Conteggio mediante separatore di oggetti e particle analysis.....	46
3.2.8	Riconoscimento delle particelle mediante un template costruito su uno scheletro a M.....	47
3.2.9	Riconoscimento circolare di particelle mediante la funzione “circle detection”.	49
3.3	Conteggio colonie batteriche su Vision per un’immagine da 1750 CFU.....	50
3.3.1	Riconoscimento circolare di particelle mediante la funzione “circle detection”.	52
3.3.2	Riconoscimento delle particelle mediante un template costruito su uno scheletro a M.....	52
3.4	Conteggio colonie batteriche su Vision per immagini con numero di colonie non noto.....	54
3.5	Conteggio colonie batteriche mediante ImageJ.....	56
3.5.1	Risultati dell’algoritmo di ImageJ applicato alle immagini analizzate.....	58
• Capitolo 4: Considerazioni economico-gestionali sugli algoritmi testati		
4.1	Presentazione e discussione degli output ottenuti dai vari algoritmi.....	61
4.2	Soluzioni ricavate.....	64
4.3	Analisi economica dell’investimento sul conteggio automatizzato.....	66
• Conclusione.....		
• Bibliografia e storiografia.....		
• Ringraziamenti.....		

# INTRODUZIONE

L'origine di questo elaborato è da ricondurre allo stato di emergenza nazionale innescato dall'esplosione della pandemia di Covid19 in Italia, che ha sollecitato gli organismi governativi ad individuare in breve tempo una risposta esaustiva alla crisi sanitaria.

Lo scenario normativo emergenziale ha preso forma, mediante le azioni legislative messe in atto dal governo italiano, a partire dal 31 gennaio 2020, con la delibera dello stato di emergenza da parte del Consiglio dei Ministri<sup>1</sup>, successivamente alla dichiarazione di “emergenza internazionale di salute” proveniente dall'Organizzazione Mondiale della Sanità. Il successivo Decreto Legge n.6 del 23/02/2020<sup>1</sup>, ha stabilito che le misure di contenimento dell'epidemia devono essere adottate mediante uno o più decreti del presidente del consiglio dei ministri.

In seguito, a fronte del Decreto Legge n.9 del 2 marzo 2020 (art.34)<sup>1</sup>, la Protezione Civile è stata autorizzata, fino alla fine del periodo di emergenza, ad acquisire dispositivi di protezione individuali e dispositivi medici. È stato consentito inoltre l'utilizzo di DPI e mascherine chirurgiche privi di marchio CE, per via della valutazione in deroga.

Tale intervento di emergenza, è giustificato dal fatto che, prima della pandemia, la filiera delle mascherine in Italia e anche in Europa era quasi inesistente, il che significa che il territorio era privo di costruttori di impianti per produrre le mascherine e di laboratori in grado di effettuare delle prove per la valutazione della qualità dei prodotti. Il ministero ha cercato quindi di mettere le imprese italiane nella condizione di poter entrare nel mercato senza sottostare all'iter della certificazione CE, che in un contesto emergenziale e con una filiera quasi assente, sarebbe stato impossibile da conseguire in tempi molto brevi.

Il Decreto Legge n°18 del 17 marzo 2020 illustra (Art. 15)<sup>1</sup> le disposizioni straordinarie per la produzione e la valutazione in deroga di mascherine chirurgiche e dispositivi di protezione individuale. Il successivo Art. 16 (comma 1) consente l'utilizzo delle mascherine chirurgiche (DM) reperibili sul mercato come dispositivi di protezione individuale. Il comma 2 del presente articolo autorizza gli individui ad indossare, oltre agli strumenti sopra descritti, maschere filtranti privi del marchio CE, non classificabili né come DM né come DPI, normate dalla disciplina generale del codice del consumo.

---

<sup>1</sup> Gazzetta ufficiale della Repubblica Italiana

L'art. 15 comma 2, relativo al decreto sopra citato, illustra l'iter procedurale a cui dovrà sottostare il produttore nel contesto della produzione di mascherine chirurgiche ad uso medico (DM); tale contenuto specifica che i produttori, per avvalersi della deroga, devono inviare un'autocertificazione all'Istituto superiore di sanità, dichiarando che le mascherine rispettino i requisiti di sicurezza presenti nella vigente normativa. Inoltre, i produttori devono trasmettere entro tre giorni dall'autocertificazione ogni elemento utile alla validazione delle mascherine chirurgiche. L'Istituto superiore di sanità, al termine di tre giorni dalla ricezione di quanto inviato, si pronuncia circa la rispondenza delle mascherine chirurgiche alle norme vigenti. Il Proponente dovrà fornire evidenza di rispondenza ai seguenti requisiti:

- conformità dei prodotti alla norma UNI EN 14683:2019;
- conformità alla norma UNI EN ISO 10993-1 (2010), in revisione corrente;
- implementazione di un Sistema di Gestione della Qualità per la produzione

I produttori si sono ritrovati nel bisogno di trovare qualcuno che fosse in grado di effettuare delle misure per attestare la conformità dei prodotti a queste norme. Il ministero della salute e le presidenze di regione hanno invitato le università a supportare le imprese impegnate nella produzione di mascherine chirurgiche nel rispetto della procedura di valutazione in deroga. Gli enti universitari hanno così allestito laboratori in grado di erogare attività di servizio per le aziende, e parallelamente svolgere un'attività di ricerca analizzando i dati raccolti, al fine di garantire un miglioramento continuo dell'intero processo.

La squadra dell'Univpm si è attrezzata per costruire gli impianti contenenti le tecnologie necessarie per verificare la conformità del prodotto in relazione alle due normative, allestendo il centro di ricerca e servizio LABC19. Il laboratorio si è dotato mediante un investimento di un macchinario per i test richiesti dalla norma UNI EN 14683:2019, mentre per verificare i requisiti imposti dalla la norma UNI EN ISO 10993-1, sono stati utilizzati strumenti già disponibili presso l'università nei laboratori di biologia.

Le norma UNI EN 14683:2019 definisce i requisiti delle mascherine chirurgiche e individua i test che bisogna effettuare per verificare la conformità alle prestazioni richieste:

- efficienza di filtrazione batterica;
- respirabilità;
- pulizia microbica;
- resistenza agli schizzi.

La norma UNI EN ISO10993-1 riguarda aspetti biologici, riferiti alla biocompatibilità, ovvero la capacità del tessuto della mascherina di essere ben accetto dal tessuto biologico umano, escludendo la probabilità di irritazioni, sfoghi o altre reazioni avverse.

L'elaborato si concentrerà prevalentemente sulla UNI EN 14683:2019, in particolare si focalizzerà sul test per la misurazione del livello di efficienza di filtrazione batterica. L'efficienza di filtrazione richiesta varia tra il 95 e il 98 % in base al tipo di prodotto che si sta testando, dalle mascherine di uso più generale a quelle da sala operatoria. La norma fornisce il metodo per determinare tale parametro percentuale e descrive la fisionomia dell'impianto da utilizzare per l'esecuzione di tale prova. All'interno dell'elaborato sarà approfondito il metodo per l'efficienza di filtrazione batterica e saranno proposte delle soluzioni per ottimizzarlo.

Seguendo una linea cronologica, la trattazione inizierà con un approfondimento dello scenario normativo relativo al contesto emergenziale, con una successiva generalizzazione sulla normativa riguardante la certificazione delle mascherine chirurgiche in periodi ordinari. Seguirà un approfondimento tecnico relativo alle prove sull'efficienza di filtrazione batterica e verrà illustrata l'attività di ricerca per l'implementazione di algoritmi di image processing per il conteggio di colonie batteriche su dischi di Petri. L'ultima parte dell'elaborato sarà riservata alla presentazione dei risultati della ricerca, con la finalità di ottimizzare il processo di certificazione, fornendo al lettore delle stime numeriche sul risparmio in forma di tempo e valore economico che deriva dall'eventuale investimento in sistemi di conteggio automatico di colonie batteriche.

L'obiettivo che si pone l'elaborato è quello di fornire strumenti che possano permettere l'acquisizione di una maggiore consapevolezza riguardo il processo di certificazione delle mascherine chirurgiche, relativamente al contesto normativo in cui esso opera e alle metodologie tecniche utilizzate per ottimizzarne le prestazioni in termini temporali ed economici.

# CAPITOLO 1: NORMATIVE LEGATE AL PROCESSO DI CERTIFICAZIONE DELLE MASCHERINE CHIRURGICHE

Questo capitolo si propone di descrivere il contesto normativo legato alla certificazione delle mascherine chirurgiche. Infatti, le prove di conformità successivamente illustrate, hanno come base la norma, che descrive come una prova debba essere fatta affinché possa considerarsi valida. Nel capitolo verrà prima esposto il contesto normativo attuale, legato allo stato di emergenza, poi sarà illustrata, su base ipotetica, la futura evoluzione dello scenario.

## 1.1 CONTESTO NORMATIVO D'EMERGENZA LEGATO ALLA CERTIFICAZIONE DELLE MASCHERINE CHIRURGICHE

La nascita di un contesto normativo emergenziale relativo alla certificazione delle mascherine chirurgiche, ha permesso alle aziende italiane produttrici di mascherine di entrare nel mercato, mediante l'ausilio dei laboratori di prova. È così sorto il LABC19, che ha avviato e sta proseguendo la sua attività in deroga alle disposizioni vigenti, senza alcun tipo di accreditamento. L'attività si concentra nello svolgimento di prove sperimentali per la verifica della conformità delle mascherine chirurgiche, col fine di supportare le imprese nel processo di autocertificazione, fornendo ad esse i rapporti di prova richiesti dall'istituto superiore di sanità. Tale verifica di conformità, la cui procedura è stata indicata dall'istituto superiore di sanità, non è idonea all'ottenimento del marchio CE ed è applicabile in virtù del contesto emergenziale. Le norme a cui si fa riferimento sono la ISO UNI EN 14683:2019 e la ISO UNI EN 10993-1:2010. Quest'ultima norma dispone prove di natura biologica per verificare la biocompatibilità delle mascherine chirurgiche, in particolare descrive:

- I principi generali che disciplinano la valutazione biologica dei dispositivi medici nell'ambito del processo di gestione del rischio;
- Le categorie dei diversi dispositivi medici in base alla natura e alla durata del loro contatto col corpo;
- La valutazione della sicurezza biologica del dispositivo medico e i relativi test da effettuare.

Di carattere più ingegneristico è la norma ISO UNI EN 14683: la norma specifica i requisiti di fabbricazione, progettazione e prestazione e i metodi di prova per le maschere facciali ad uso medico destinate a limitare la trasmissione di agenti infettivi. Di seguito verranno illustrati i requisiti che impone la norma.

1. Materiali e costruzione: la maschera ad uso medico è composta da uno strato filtrante modellato tra strati di tessuto. La maschera non deve rompersi durante l'uso previsto
  2. Progettazione: deve essere fabbricata in modo da garantire l'aderenza al viso
  3. Requisiti di prestazione: efficienza di filtrazione batterica, respirabilità, resistenza agli spruzzi, pulizia microbica, biocompatibilità (si rimanda alla 10993).
- L'efficienza di filtrazione batterica o BFE è una misura della resistenza di un materiale alla penetrazione dei batteri. I risultati sono riportati come percentuale del tessuto di resistere alla penetrazione batterica. Numeri più alti in questo test indicano una migliore prestazione del tessuto nella sua attività filtrante.
  - La respirabilità è legata alla difficoltà respiratoria dell'utilizzatore nel momento in cui indossa la mascherina. Tale difficoltà è causata dalla caduta di pressione che si verifica nell'aria. Il parametro che descrive la respirabilità è la pressione differenziale. Quest'ultima è funzione di quanto la mascherina sia permeabile all'aria. Una più alta pressione differenziale è indice di una maggior difficoltà respiratoria.
  - La resistenza agli spruzzi è presente solo nelle mascherine da sala operatoria, tale requisito consiste nella determinazione della capacità di una mascherina di resistere alla penetrazione di sangue proiettato ad una data pressione.
  - La pulizia microbica consiste nell'accertare l'assenza di popolazione di microrganismi vitali sulla mascherina.



Riepilogo dei requisiti di prestazione per le maschere facciali ad uso medico<sup>1</sup>:

Prova	Tipo I <sup>a)</sup>	Tipo II	Tipo IIR
Efficienza di filtrazione batterica (BFE), (%)	≥ 95	≥ 98	≥ 98
Pressione differenziale (Pa/cm <sup>2</sup> )	< 40	< 40	< 60
Pressione di resistenza agli spruzzi (kPa)	Non richiesto	Non richiesto	≥ 16,0
Pulizia microbica (ufc/g)	≤ 30	≤ 30	≤ 30

Figura 1

Dalla tabella possiamo distinguere tre tipi di maschere: le maschere facciali ad uso medico di tipo 1 sono rivolte alle persone comuni per ridurre il rischio di diffusione delle infezioni; le maschere di tipo 2 sono invece destinate all'uso da parte di operatori sanitari, mentre quelle di tipo 2R, che garantiscono la resistenza agli spruzzi, vengono riservate per un utilizzo da sala operatoria.

La norma si addentra poi nell'illustrare come bisogna effettuare le misure per la determinazione dei parametri sopra descritti. Di questo aspetto sarà approfondito il processo di misura dell'efficienza di filtrazione batterica (BFE).

## 1.2 DISCIPLINA DI CERTIFICAZIONE DELLE MASCHERINE CHIRURGICHE AL DI FUORI DELL'EMERGENZA

La trattazione normativa viene ora generalizzata al di fuori della pandemia, al fine di fornire un quadro più completo di come il mercato delle mascherine chirurgiche sia regolato in un contesto ordinario.

Le maschere facciali ad uso medico rientrano nell'insieme dei dispositivi medici e come tali, per essere immesse sul mercato, la disciplina ordinaria prevede che siano marcate CE. Si definisce dispositivo medico qualsiasi strumento, apparecchio, impianto, sostanza o altro prodotto, utilizzato per diagnosi, prevenzione, controllo, terapia o attenuazione di una malattia.

La normativa di riferimento dei dispositivi medici è stata fino al 2020 la direttiva 93/42/CEE, attuata il 6 marzo 1997. Tale direttiva sarà in parte superata dal nuovo regolamento (UE) 2017/745, in vigore dal 2017 e applicabile a partire dal 26 maggio 2020.

---

<sup>1</sup> Norma UNI EN 14683:2019

Nel caso delle mascherine chirurgiche la dichiarazione di conformità deve essere effettuata nel rispetto delle normative tecniche EN UNI 14683:2019 e UNI EN ISO 10993-1:2010. Tali norme non possono, al momento, essere utilizzate per conferire la presunzione di conformità ai requisiti del regolamento (UE) 2017/745, come precisato dalla “decisione di esecuzione (UE) 2020/437” (Art. 3)<sup>1</sup>, relativa alle norme armonizzate per i dispositivi medici elaborate a sostegno della direttiva 93/42/CEE.

La produzione di mascherine chirurgiche marcate CE avviene quindi in conformità alla direttiva 93/42/CEE. Di tale direttiva si riportano alcune informazioni di carattere generale:

- Ogni dispositivo medico deve soddisfare i pertinenti requisiti essenziali prescritti nell'allegato I della direttiva. (Art. 3)
- Gli stati membri presumono conformi ai requisiti essenziali i dispositivi che soddisfano le norme nazionali corrispondenti, adottate in applicazione delle norme armonizzate europee. (Art. 5)
- I dispositivi medici sono classificati in quattro classi di rischio crescente (Art. 9):
  - Classe I: dispositivi meno critici, quali la gran parte di quelli non attivi e non invasivi.
  - Classe IIa: dispositivi a rischio medio, quali dispositivi non attivi (invasivi e non) e dispositivi attivi che interagiscono con il corpo in maniera non pericolosa.
  - Classe IIb: dispositivi a rischio medio/alto, quali alcuni dispositivi non attivi invasivi e i dispositivi attivi che interagiscono con il corpo in maniera pericolosa.
  - Classe III: dispositivi ad alto rischio, quali gran parte dei dispositivi impiantabili, quelli contenenti farmaci o derivati animali ed alcuni dispositivi che interagiscono sulle funzioni di organi vitali.

Le maschere facciali ad uso medico rientrano nei dispositivi di classe I.

- La valutazione della conformità dei dispositivi medici e quindi delle mascherine chirurgiche viene regolata dall'articolo 11 della direttiva. In particolare, per i dispositivi di classe I, ad esclusione di quelli su misura e di quelli destinati ad indagini cliniche, il fabbricante, ai fini dell'apposizione della marcatura CE, si attiene alla procedura prevista

---

<sup>1</sup> Gazzetta Ufficiale dell'Unione Europea

dall'allegato VII e redige, prima dell'immissione in commercio, la dichiarazione di conformità CE richiesta.

Si riporta ora una descrizione sintetica degli allegati I e VII precedentemente citati, al fine di rendere più esaustiva la trattazione.

#### ALLEGATO I

L'allegato risponde ai requisiti generali che il fabbricante di un dispositivo medico deve rispettare prima di poter rilasciare la dichiarazione di conformità e affinché il dispositivo possa essere messo in commercio.

I contenuti dell'allegato si riferiscono a requisiti relativi alla progettazione e alla costruzione, in relazione a caratteristiche chimiche, fisiche e biologiche. È poi richiesto il compimento di azioni finalizzate ad eliminare o minimizzare nella misura del possibile i fattori di rischio inerenti all'utilizzo del dispositivo. Sono riportate anche le informazioni che il fabbricante deve provvedere a fornire al cliente. Queste sono costituite dalle indicazioni riportate nell'etichetta e dal libretto di istruzioni per l'uso. La direttiva specifica nel dettaglio tutte le informazioni che l'etichettatura deve contenere. Per quanto riguarda le mascherine chirurgiche si segnalano:

- il nome del fabbricante;
- il tipo di dispositivo (I, II, II R);
- la classe del dispositivo;
- la norma tecnica alla quale il dispositivo risponde;
- il lotto di produzione.

#### ALLEGATO XII

Questo contenuto illustra la procedura che il fabbricante deve eseguire per effettuare la dichiarazione di CE.

Il punto 3 dell'allegato specifica la composizione della documentazione tecnica, la quale deve consentire di valutare la conformità del prodotto ai requisiti della direttiva.

Essa comprende i seguenti documenti:

- una descrizione generale del prodotto, comprese le varianti previste;
- gli schemi di progettazione e i metodi di fabbricazione, gli schemi delle parti, dei pezzi, dei circuiti, ecc.;

- la descrizione e le spiegazioni necessarie per la comprensione del funzionamento del prodotto;
- i risultati dell'analisi dei rischi e un elenco delle norme previste all'articolo 5, applicate interamente o in parte, e una descrizione delle soluzioni adottate per soddisfare i requisiti essenziali della direttiva quando non siano state applicate interamente le norme previste all'articolo 5;
- nel caso di prodotti immessi in commercio in confezione sterile, la descrizione dei metodi utilizzati;
- i risultati dei calcoli di progettazione, dei controlli svolti, ecc.;
- le relazioni di prova e, ove necessario, i dati clinici previsti all'allegato X;
- l'etichettatura e le istruzioni per l'uso.

Il fabbricante o chi ne fa le veci è obbligato a mantenere la documentazione, compresa la dichiarazione di conformità, a disposizione delle autorità nazionali a fini di controllo per almeno cinque anni dall'ultima data di fabbricazione del prodotto.

In riferimento ad un contesto normativo ordinario, il Labc19 Univpm, per continuare a svolgere la sua attività, dovrà operare in conformità allo scenario normativo appena illustrato, fornendo al fabbricante delle relazioni da allegare alla documentazione tecnica.

Ciò che emerge da questo parallelismo è la corrispondenza delle norme tecniche sia nel caso di procedura ordinaria e sia in quello emergenziale. Ciò che cambia è solo la modalità con cui si prova che la mascherina è conforme alla norma: nel contesto emergenziale è l'istituto superiore di sanità che valuta l'idoneità della mascherina, nel contesto ordinario invece il compito appartiene ad un organismo notificato, che effettua delle ispezioni al fine di verificare la correttezza della documentazione fornita dal fabbricante.

Nel caso in cui si torni alla situazione ordinaria, potrebbe essere opportuno, per il laboratorio di prova, valutare l'implementazione di un sistema di gestione per la qualità secondo la norma ISO 17025, al fine di ottenere l'accreditamento.

L'esigenza di accreditare il laboratorio potrebbe sorgere da esplicite richieste da parte di un organismo notificato oppure potrebbe essere legata all'intenzione di consolidare ed eventualmente espandere, il numero di clienti.

Di seguito, per completare questa generalizzazione dello scenario normativo, si riportano le principali caratteristiche relative alle normative alle politiche di qualità che il laboratorio dovrà implementare nel caso in cui sorgerà l'esigenza dell'accreditamento. Verranno prima richiamate le norme della serie ISO 9000, per poi addentrarsi nel contesto del laboratorio.

### 1.3 GENERALITÀ SULLE NORME CHE DISCIPLINANO UN SISTEMA DI GESTIONE QUALITÀ (ISO 9000)

Un sistema di controllo qualità è disciplinato a livello italiano e internazionale dalle norme della serie ISO 9000. Queste delineano i concetti e i principi fondamentali che stanno a capo di un qualsiasi sistema di gestione qualità e ne forniscono i termini e le definizioni. La famiglia di norme legate al tema di gestione qualità, al fine di effettuare corrette politiche di gestione qualità, va vista in termini integrati, mettendo insieme tutti i concetti.

I destinatari, potenziali utilizzatori di tale famiglia di norme sono:

- organizzazioni che cercano il successo durevole mediante l'attuazione di un sistema di gestione qualità;
- clienti che cercano affidabilità nei venditori;
- fornitori e acquirenti che cercano un vocabolario comune di gestione qualità in modo da migliorare il loro rapporto;
- organizzazioni che valutano la qualità dei fornitori a fronte della norma ISO 9001.

I concetti base per un corretto sistema di gestione qualità sono:

- Il contesto, ovvero l'ambiente in cui si colloca, nel rispetto di mission, vision e politiche strategiche;
- Le parti interessate, riassumibili come attori che interagiscono con l'organizzazione;
- Il supporto, che deve venire dall'alto, in modo da sviluppare un sistema di gestione qualità integrato che conduca, da una parte, all'assunzione di persone competenti e consapevoli, dall'altra a pianificare un corretto sistema di comunicazione interna ed esterna.

Principi di un sistema di gestione qualità:

A partire dai concetti base sopra esposti ricaviamo i principi di un corretto sistema di gestione qualità, che si possono riassumere in: focalizzazione sulle parti interessate, necessità di leadership, approccio di gestione dei processi integrato, coinvolgimento del personale negli obiettivi prefissati, gestione della comunicazione, miglioramento continuo del sistema.

Il glossario della qualità:

- PROCESSO: insieme di attività che utilizzano input per conseguire un risultato.
- REQUISITO: può essere un'esigenza o un'aspettativa, a volte il rispetto di un requisito è obbligato da un organo legislativo o dall'autorità, altre volte è invece un'esigenza dell'azienda legata a dei requisiti fissati per il prodotto, che possono riguardare specifiche di progettazione o il collaudo.
- RISULTATO: è legato al raggiungimento dell'obiettivo previsto. Un obiettivo può essere relativo alla qualità oppure ad un successo economico finanziario. Il risultato è soggetto ad un'incertezza, ovvero uno scostamento da quanto atteso; la riduzione dell'incertezza viene messa in atto con azioni preventive o mediante azioni riparative, quando possibile.

## 1.4 CENNI SULLA NORMA ISO 9001

Per un'organizzazione l'implementazione di un sistema di gestione per la qualità secondo la norma ISO 9001, è una decisione strategica che può aiutare a migliorare la sua prestazione complessiva.

Una certificazione ISO 9001 fornisce la garanzia che l'azienda è capace di rispondere in modo coerente ed esaustivo alle aspettative del cliente. I benefici derivanti dall'attuazione di tale sistema riguardano:

- a) La capacità di fornire con regolarità prodotti o servizi che soddisfano i requisiti del cliente e i requisiti cogenti applicabili;
- b) La formazione di opportunità per accrescere la soddisfazione del cliente;
- c) La capacità di affrontare rischi e opportunità associati al suo contesto e ai suoi obiettivi;

d) La capacità di dimostrare la conformità ai requisiti specificati dal sistema di gestione per la qualità.

I requisiti specificati nella norma sono complementari ai requisiti dei prodotti e dei servizi. La presente norma internazionale promuove l'adozione un approccio per processi, che permette ad un'organizzazione di pianificare i processi e le loro interazioni. Tale approccio permette all'organizzazione di tenere sotto controllo le interrelazioni e le interdipendenze fra i processi del sistema, in modo che le sue prestazioni complessive possano essere incrementate. Il nucleo di ogni singolo processo riguarda l'insieme di punti di controllo per il monitoraggio e la misurazione delle prestazioni del prodotto o servizio.

*Rappresentazione schematica degli elementi di un singolo processo*

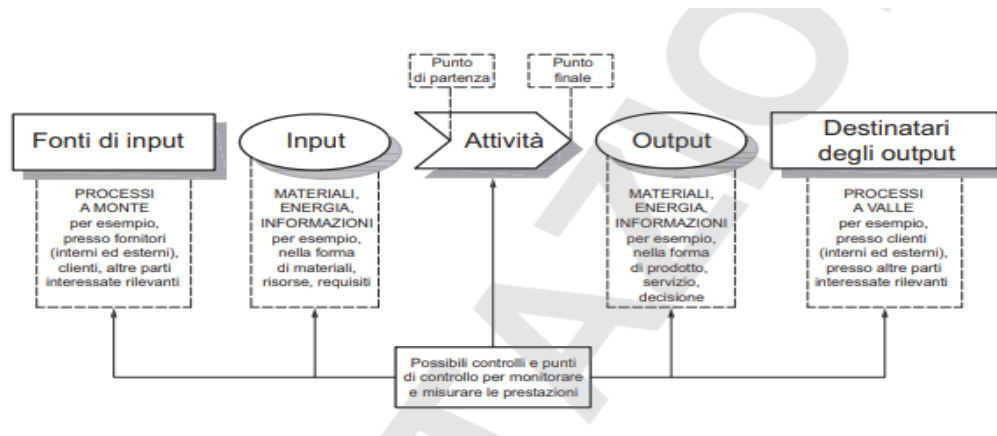


Figura 2

L'approccio per processi incorpora il ciclo Plan-Do-Check-Act (PDCA) e il risk-based thinking.

Il ciclo PDCA permette all'organizzazione di assicurare che i propri processi siano adeguatamente dotati di risorse e che le opportunità di miglioramento siano determinate e si agisca di conseguenza. L'obiettivo è ottenere un processo continuamente monitorato e migliorato.

Il risk-based thinking permette all'organizzazione di determinare i fattori che potrebbero far deviare i suoi processi e il suo sistema di gestione per la qualità dei risultati pianificati, di mettere in atto controlli preventivi per minimizzare gli effetti negativi e massimizzare le opportunità, quando esse si presentano.

I requisiti a cui la norma 9001 si riferisce riguardano svariati aspetti, si riportano in via illustrativa i più significativi:

- È richiesto di individuare fattori interni ed esterni e le parti interessate ai prodotti/servizi relativi all'organizzazione. In base a tali elementi si identifica il campo di applicazione del sistema di gestione qualità, che deve dichiarare i tipi di prodotti e servizi coperti e fornire una giustificazione per ogni requisito della presente norma che risulta non applicabile.
- L'organizzazione deve determinare e mettere a disposizione le risorse necessarie per la verifica della conformità dei prodotti; tale verifica può avvenire attraverso sistemi di monitoraggio e misurazione.
- Nel caso in cui la riferibilità della misurazione sia un requisito le apparecchiature devono essere:
  - tarate a fronte di campioni di misura riferibili a campioni di riferimento internazionali o nazionali;
  - identificate affinché ne sia determinato lo stato;
  - salvaguardate da danni o deterioramenti che potrebbero invalidare le loro prestazioni. Quando un'apparecchiatura di misura viene riscontrata non adatta all'utilizzo previsto, l'organizzazione deve determinare se la validità dei risultati di misura precedenti sia stata influenzata negativamente e intraprendere azioni appropriate quando necessario.
- Il sistema di gestione per la qualità dell'organizzazione deve comprendere:
  - Le informazioni documentate richieste dalla presente norma;
  - Le informazioni documentate che l'organizzazione ritiene necessarie per l'efficacia del sistema di gestione per la qualità.Tali informazioni devono essere tenute sotto controllo in modo da essere aggiornate al bisogno e conservate in modo adeguato affinché siano protette da alterazioni involontarie.
- L'organizzazione deve determinare dei requisiti relativi ai prodotti/servizi e verificare che tali requisiti siano rispettabili. Nel determinare i requisiti relativi ai prodotti/servizi da offrire ai clienti l'organizzazione deve intraprendere con questi ultimi una corretta strategia di comunicazione, che comprende:



- la fornitura di informazioni relative ai prodotti/servizi;
  - la gestione delle richieste, contratti o ordini, comprese le modifiche;
  - l'ottenimento, dal cliente, di informazioni di ritorno relative ai prodotti/servizi, compresi i reclami;
  - la definizione di specifici requisiti per le azioni di emergenza, quando pertinenti.
- Il rilascio dei prodotti e l'erogazione dei servizi al cliente non devono essere effettuati prima che quanto pianificato sia stato completato in modo soddisfacente, salvo diversa approvazione da parte di un'autorità competente e ove applicabile del cliente.
  - L'organizzazione deve conservare informazioni documentate circa il rilascio dei prodotti e servizi. Tali informazioni devono comprendere:
    - L'evidenza della conformità ai criteri di accettazione;
    - La riferibilità alla persona autorizzata al rilascio.

## 1.5 GENERALITÀ SULLA DISCIPLINA RELATIVA AI LABORATORI DI PROVA ACCREDITATI: LA NORMA ISO/IEC 17025

Nel caso in esame, il soggetto che deve implementare un sistema di gestione qualità, è il laboratorio di prova. Questo implica che nel momento in cui si procede ad un adeguamento della struttura al fine di ottenere l'accreditamento, si fa riferimento alla norma ISO/IEC 17025. I laboratori che operano in conformità alla ISO/IEC 17025 rispettano anche la ISO 9001. Di seguito verranno espone le principali voci della norma 17025, che dovranno essere rispettate per l'eventuale accreditamento del laboratorio.

### 1. Il laboratorio deve garantire l'imparzialità:

- le attività di laboratorio devono essere effettuate in modo imparziale, strutturate e gestite in modo da salvaguardare l'imparzialità;
- L'imparzialità è l'unico requisito che espressamente richiede di identificare i rischi e di farlo su base continuativa;
- Se viene identificato un rischio per l'imparzialità, il laboratorio deve essere in grado di dimostrare come eliminare o minimizzare tale rischio.

## 2. I requisiti strutturali:

Il laboratorio deve definire e documentare la gamma delle proprie attività, per le quali opera in conformità con la norma. Il laboratorio può dichiarare la conformità al presente documento solo per le suddette attività.

## 3. Le procedure:

Il laboratorio deve documentare le proprie procedure nella misura necessaria per assicurare un'esecuzione regolare e coerente delle attività di laboratorio e la validità dei risultati.

## 4. Le risorse:

Si parla di risorse come tutto ciò che è necessario per effettuare il processo:

### • Il personale:

- Tutto il personale del Laboratorio, sia esso interno che esterno, deve agire con imparzialità, essere competente ed operare in conformità al sistema di gestione.

- Il laboratorio deve documentare i requisiti di competenza per ogni funzione che influenza i risultati delle attività di Laboratorio inclusi i requisiti di istruzione, qualifica, formazione, conoscenza tecnica, abilità ed esperienza.

- Il laboratorio deve assicurare che il personale abbia la competenza sia per eseguire le attività di laboratorio per le quali è responsabile sia per valutare la significatività degli scostamenti.

- Il laboratorio deve disporre di procedure di supervisione (comporta un intervento da parte del supervisore sul lavoro del supervisionato) e monitoraggio (chi lo effettua si limita ad osservare).

• Le dotazioni di laboratorio, tra cui informazioni registrate, software, campioni di riferimento.

• La riferibilità metrologica, ovvero la capacità di ottenere un risultato di misurazione correlabile ad un riferimento noto. Il laboratorio deve stabilire e mantenere la riferibilità metrologica dei propri risultati di misura, per mezzo di una documentata e ininterrotta catena di tarature, ciascuna delle quali contribuisce all'incertezza di misura.

## 5. I requisiti di processo

Tali requisiti comprendono:

- il riesame delle richieste, delle offerte e dei contratti: le regole decisionali, in caso di dichiarazione di conformità, sono oggetto del riesame del contratto. In fase contrattuale le regole decisionali devono essere chiaramente definite, comunicate e concordate con il cliente. Tali regole decidono in che modo si tiene conto dell'incertezza di misura quando ci sono le condizioni per dichiarare la conformità;
- selezione, verifica e validazione dei metodi;
- campionamento;
- manipolazione degli oggetti da sottoporre a prova o taratura: Quando il cliente richiede che un oggetto sia sottoposto a prova, anche se consapevole di uno scostamento dalle condizioni specificate, il laboratorio deve includere nel rapporto una dichiarazione in cui declina la responsabilità e indica quali siano i risultati che possono essere influenzati dallo scostamento;
- registrazioni tecniche;
- valutazione dell'incertezza di misura;
- assicurazione della validità dei risultati;
- presentazione dei risultati: Quando fornisce una dichiarazione di conformità a una norma o una specifica, il laboratorio deve documentare la regola decisionale utilizzata, tenendo conto del livello di rischio ad essa associato e applicare tale regola;
- gestione dei reclami;
- attività non conformi;
- controllo dei dati e gestione delle informazioni.

Nell'esprimere una dichiarazione di conformità, deve essere chiaro:

- a quali risultati si riferisce la dichiarazione di conformità;
- quali specifiche, norme o parti di esse sono soddisfatte o non soddisfatte;
- la regola decisionale applicata, a meno che non sia già contenuta nella norma.

Nel presentare i risultati la norma indica dei requisiti specifici per i rapporti di prova e per i certificati di taratura. I requisiti comuni sono così espressi:

- Il laboratorio deve assumersi la responsabilità di tutte le informazioni presentate nel rapporto, tranne quando queste sono fornite dal cliente. I dati forniti dal cliente devono essere chiaramente identificati.
- Quando le informazioni fornite dal cliente possono influire sulla validità dei risultati, il laboratorio deve includere nel rapporto una dichiarazione con cui ne declina la responsabilità.
- Quando il laboratorio non è stato responsabile della fase di campionamento (ad. esempio se il campione è stato fornito dal cliente) deve indicare, nel rapporto, che i risultati si riferiscono al campione così come ricevuto.

## 6. Sistema di gestione delle informazioni

Il sistema di gestione delle informazioni, al fine di garantire la privacy e non arrecare danni al cliente, deve:

- essere protetto da accessi non autorizzati;
- salvaguardato contro la manomissione e perdita dei dati;
- funzionare in ambiente conforme alle specifiche o nel caso di sistemi non computerizzati, che salvaguardi l'accuratezza dati;
- essere mantenuto per l'integrità dei dati e delle informazioni.

Per concludere il capitolo, si riepiloga le relazione tra le norme illustrate e il laboratorio di prova in esame.

Il laboratorio, per ottenere l'accreditamento, dovrà essere in conformità con i requisiti della ISO/IEC 17025.

Tale norma prevede che il sistema di gestione sia conforme ai principi della norma ISO 9001. Essere in conformità con i requisiti della ISO/IEC 17025 significa, quindi, che il laboratorio soddisfa sia i requisiti tecnici che quelli relativi al sistema di gestione qualità, necessari per offrire risultati tecnicamente validi di prove e di tarature.

La certificazione ai sensi della ISO 9001 non costituisce evidenza che il laboratorio sia in grado di fornire prove o tarature accurate e affidabili. Per esserlo, il laboratorio deve essere accreditato in conformità a ISO/IEC 17025.

# CAPITOLO 2: RICHIAMI DI IMAGE PROCESSING PER IL CONTEGGIO DI COLONIE BATTERICHE

## 2.1 TEST DI EFFICIENZA DI FILTRAZIONE BATTERICA

La trattazione si addentra ora in aspetti tecnici, illustrando, come già anticipato, quanto concerne il test di efficienza di filtrazione batterica. Si richiameranno poi le basi degli algoritmi di image processing e infine, sarà esposta l'attività di ricerca che, a partire da un sistema di visione, propone degli algoritmi per snellire il calcolo della BFE.

La norma Uni En 14683 presenta un'appendice che descrive dettagliatamente il metodo per determinare l'efficienza di filtrazione batterica; il test fa uso di un aerosol batterico, contenente stafilococco. La mascherina da testare può essere completa, a condizione che le estremità siano rimosse, oppure tagliata e assumendo in tal caso il nome di provino. Ogni provino deve essere condizionato a  $(21 \pm 5) ^\circ\text{C}$  e  $(85 \pm 5)\%$  di umidità relativa per almeno quattro ore, per portarlo in equilibrio con l'atmosfera prima della prova.

A monte del provino, l'impianto è costituito da un tubo verticale, nel quale viene inalato l'aerosol batterico, che scorre lungo il tubo mediante una pompa aspirante. A valle del provino è collocato un impattatore a cascata. L'aerosol attraversa la mascherina e fluisce nell'impattatore. Quest'ultimo è costituito da sei stadi: ogni fase contiene un disco di Petri con agar nutriente, una sostanza nel quale i batteri vivono. Gli stadi (in figura) hanno ugelli

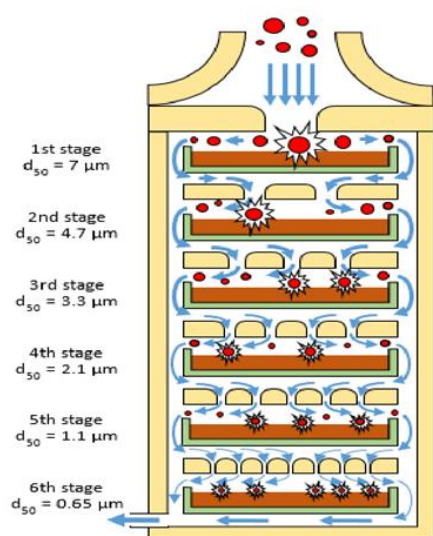


Figura 1

progressivamente più piccoli, e creano una velocità di impatto delle particelle sempre più elevata.

Le particelle di diametro maggiore impattano il disco nella prima fase, mentre quelle di dimensioni ridotte si depositeranno nei dischi di Petri sottostanti.

Una volta che l'aerosol si è completamente distribuito, i dischi vengono immessi in un incubatore, in modo tale che i batteri crescano e possano, il giorno dopo, essere visibili ad occhio nudo. Il resto dell'impianto serve solo per traspirare, condensare l'aerosol, farlo finire in una beuta e buttare in aria uno scarico privo di batteri, intrappolando questi ultimi nella beuta.

*Schema dell'impianto per misurare l'efficienza di filtrazione batterica (BFE) <sup>1</sup>*

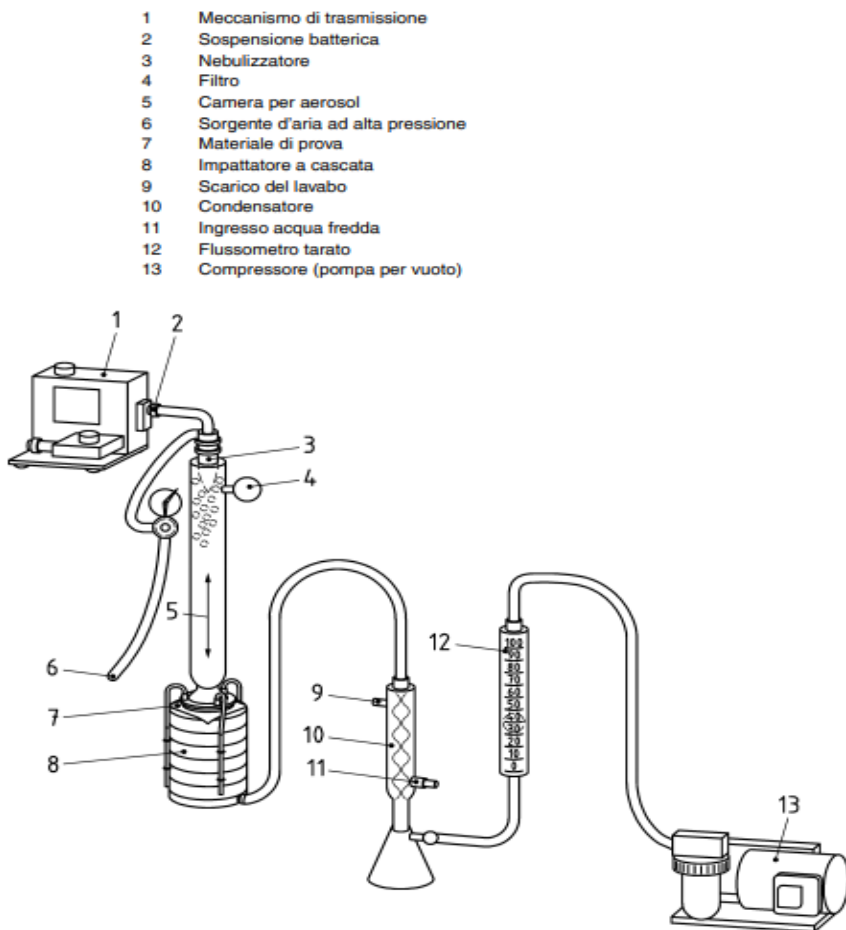


Figura 2

<sup>1</sup> NORMA UNI EN 14693:2019

Il test va effettuato prima senza mascherina (test positivo) e poi ripetuto con la mascherina. Per ogni provino bisogna calcolare l'efficienza di filtrazione batterica B, in percentuale, utilizzando la seguente formula:  $B = (C - T) / C \times 100$ , dove C è la media del totale delle conte di colonie batteriche su dischi di Petri per i due controlli positivi; T è la conta totale su dischi di Petri col provino.

Terminato il test, il laboratorio deve fornire una documentazione come richiesto dalla norma. Nel rapporto di prova devono essere riportate le seguenti informazioni:

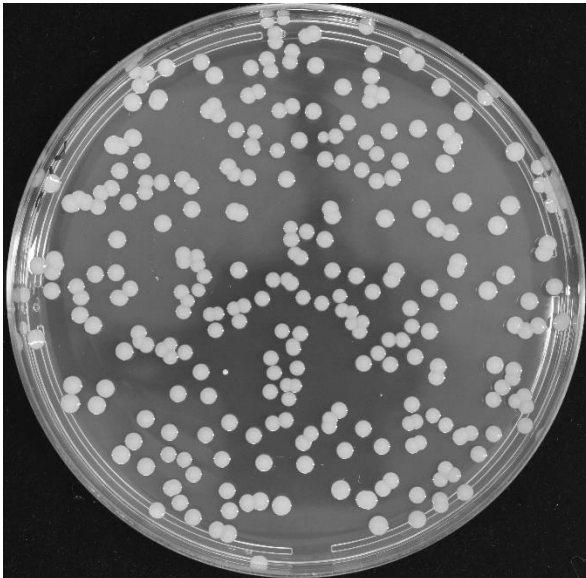
- a) numero e data della presente norma europea;
- b) numero di lotto o codice del lotto delle maschere sottoposte a prova;
- c) dimensioni dei provini e la dimensione dell'area sottoposta a prova;
- d) quale lato del provino era rivolto verso l'aerosol di prova;
- e) portata durante la prova;
- f) media delle conte totali su piastre dei due controlli positivi;
- g) conta medio delle piastre dei controlli negativi;
- h) efficienza di filtrazione batterica (BFE) per ogni provino.

## 2.2 METODI DI CONTEGGIO DELLE COLONIE BATTERICHE

Il conteggio delle colonie batteriche depositate su dischi di Petri può essere svolto in maniera empirica o mediante uno strumento di visione e tecniche di image processing.

Il conteggio visivo, nel caso di un numero di colonie batteriche non troppo elevato, potrebbe risultare più accurato, in quanto l'occhio umano riesce a distinguere meglio le colonie batteriche sovrapposte, mentre il software potrebbe contarle come un'unità; il software potrebbe scambiare per colonie batteriche quelli che in realtà sono dei disturbi dell'immagine. La lentezza del conteggio visivo però fa sì che si tenda a prediligere il conteggio mediante software, soprattutto quando il numero di colonie batteriche sia elevato.

*Fotografia di un disco di Petri contenente colonie batteriche*



*Figura 3*



## 2.3 RICHIAMI TEORICI SULL'IMAGE PROCESSING <sup>1</sup>

### 2.3.1 L'istogramma d'immagine

Il conteggio automatico di colonie batteriche avviene a partire da un'immagine digitale, output di un sistema di visione. L'estrazione di informazioni da un'immagine viene effettuata mediante algoritmi di image processing. La condizione base affinché tali algoritmi risultino implementabili è che l'immagine sia qualitativamente idonea.

L'immagine di tipo digitale è definita come una matrice di pixel. Ogni singolo pixel contiene una minima porzione dell'immagine.

L'immagine può essere a colori o meno, solitamente il mondo delle misure non si avvale dei colori, ma piuttosto gli algoritmi si occuperanno di estrarre il colore dall'immagine, ottenendo una scena in scala di grigi. Lo standard che caratterizza un'immagine digitale a colori è l'RGB, che consiste nella formazione di qualsiasi colore a partire da rosso verde e blu.

L'immagine è organizzata secondo un diagramma cartesiano, mediante la matrice  $I=f(x,y)$ .  $I$  è una grandezza scalare che rappresenta, per ogni pixel, il valore corrispondente alla sua intensità luminosa. L'intervallo dei valori che questa grandezza può assumere dipende dal numero dei bit per pixel ammessi. In un'immagine ad 8 bit per pixel la scala va da 0 a 255, lo zero rappresenta il nero, il 255 invece è il bianco. L'intensità luminosa di un'immagine ad 8 bit può essere caratterizzata da una tabella in scala di grigi, dove ad ogni colore è associato un livello di grigio. La scala segue una graduale variazione del livello di grigio che va dal nero, lo zero, al bianco, il 255. Un'immagine ad 8 bit può raffigurare anche altri colori, per esempio un'immagine colorata da una gradazione di marroni.

Considerando per semplicità l'immagine in scala di grigi, si può parlare di istogramma d'immagine come frequenza con cui si possa osservare ciascun livello di grigio sull'immagine. Dato un livello  $K$  in ascissa, l'ordinata rappresenta  $nK$ , ovvero il numero dei pixel aventi quello stesso livello di grigio. Si distinguono due tipi di istogrammi: l'istogramma lineare si riferisce al singolo livello  $k$  e al numero di pixel caratterizzati da quel livello; l'istogramma logaritmico ( $\log k$ ) ci permette di evidenziare bassi livelli di pixel. L'istogramma fornisce informazioni sul contenuto dell'immagine: è solitamente un indicatore di oggetti presenti nella scena, riconoscibili da picchi di determinati livelli di

---

<sup>1</sup> Le immagini contenute nel paragrafo provengono dal manuale del Vision Assistant

grigio, a patto che gli oggetti abbiano un'intensità luminosa ben definita. Un'altra informazione che si può ricavare interpretando l'istogramma è quella relativa alla qualità dell'immagine: se l'istogramma occupa tutta la scala abbiamo una corretta illuminazione, se invece esso è stretto ci sarà un'errata esposizione dell'immagine. Un istogramma spostato a destra rappresenta una scena molto luminosa, se a sinistra invece descrive una scena scura. Infine, l'istogramma individua la presenza di eventuali imperfezioni nell'immagine da processare: nel caso di presenza di picchi in prossimità del livello 0 o del livello 255 siamo in presenza di saturazione; il convertitore AD può saturare in alto o in basso nel caso in cui il segnale abbia livelli troppo alti o troppo bassi. Tutto ciò che è sopra 255 e tutto ciò che è sotto 0 viene portato a questi due valori. Bisogna lavorare sull'illuminazione della scena e lavorare sul tempo di esposizione quando ci si vuole dotare di un'immagine idonea a ricavare informazioni, altrimenti si rischia di ottenerne una per la quale è impossibile applicare gli algoritmi di image processing.

*Esempio di istogramma d'immagine di tipo lineare*



*Figura 4*

Avvenuto l'accertamento circa le caratteristiche dell'immagine digitale per mezzo dell'istogramma, si procede ad applicare gli algoritmi di Image Processing al fine di ricavare dall'immagine le informazioni desiderate, attraverso un'opportuna combinazione dei vari algoritmi.

### 2.3.2 La funzione look up table (LUT)

Le LUT sono funzioni utilizzate per condizionare la luminosità presente nella scena e fanno parte delle operazioni preliminari al processamento delle immagini. Questi algoritmi agiscono sui livelli di grigio e consentono di modificare il contrasto o la luminosità della scena, non alterando il contenuto informativo presente nell'immagine, ma la distribuzione dei livelli di grigio. La funzione rende l'intensità del pixel in output funzione del pixel iniziale. Si costruisce una nuova immagine mappando l'intensità luminosa in ingresso con quella in uscita. L'immagine risulta più intellegibile per chi la guarda.

Tipi di look up table:

- Reverse: algoritmo che trasforma i pixel neri in bianchi e viceversa, non è altro che la costruzione del negativo dell'immagine o creare un positivo a partire dal negativo.

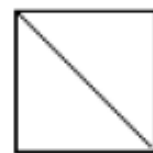


Figura 5

- Equalize: redistribuisce un intervallo di livelli di intensità luminosa su tutto l'asse delle ampiezze, rimappando l'intensità luminosa dell'intervallo. L'effetto di tale funzione è quello di aumentare il contrasto aumentando la distribuzione dei livelli di grigio.

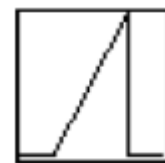


Figura 6

- Logaritmica: la pendenza della funzione è più alta nella prima parte della scala, mentre poi si abbassa. Tale funzione aumenta il contrasto nelle regioni scure, viceversa cala il contrasto nelle regioni luminose. Complessivamente avrò una scena più chiara, maggiore luminosità.



Figura 7

- Esponenziale: Tale funzione, che possiede la concavità verso l'alto, lavora in maniera contraria alla LUT logaritmica. In questo caso la curva è meno ripida nella prima metà della scala. Ciò determina un calo del contrasto nelle regioni scure e un aumento del contrasto nelle regioni a luminosità elevata.



Complessivamente l'immagine sarà più scura, con minore luminosità. Figura 8

### 2.3.3 I filtri spaziali

Più complessi e di maggior impatto nel processamento sono i filtri spaziali. In generale gli algoritmi per il processamento dell'immagine si dividono in: operatori per immagini, filtri spaziali per immagini e filtri mediante analisi in frequenza dell'immagine.

I primi algoritmi citati sono gli operatori per immagini, delle vere e proprie operazioni da applicare alle immagini. Tali algoritmi sono predisposti al fine di eliminare alcune informazioni poco interessanti e predisporre l'immagine ai processi di misura.

Le operazioni con gli operatori aritmetici o logici vengono effettuate in modo ricorsivo. Gli operatori utilizzati sono quelli aritmetici (+, -, \*, /), con i quali svolgere operazioni sulle intensità luminose dei pixel. Questi algoritmi sono sempre vincolati agli intervalli, infatti l'algoritmo di moltiplicazione dà in output il minimo tra il prodotto e 255 e con la sottrazione non si potrà mai scendere sotto lo zero.

I filtri spaziali lavorano nel campo delle frequenze spaziali e hanno il compito di far passare solo le alte frequenze spaziali o le basse frequenze spaziali. Facciamo uso di questi filtri per eliminare basse o alte frequenze in una scena. Le frequenze spaziali sono l'inverso delle periodicità, si possono considerare come l'astrazione della frequenza temporale nello spazio. Se l'intensità luminosa da punto a punto varia lentamente parliamo di bassa frequenza spaziale, altrimenti parliamo di alta frequenza. Ciò che è uniforme in termini di luminosità ha una frequenza spaziale nulla, ad esempio un muro bianco. L'applicazione di filtri spaziali è a tutti gli effetti un processamento dell'immagine, perché si verifica l'eliminazione di alcuni contenuti presenti nella scena. L'intensità luminosa finale deve essere compresa tra 0 e 255.

Gli algoritmi che effettuano le funzioni di filtraggio sono:

Filtro passa alto: non fa passare le basse frequenze spaziali, eliminandole così dalla scena, non fa passare le regioni della scena in cui la luminosità è uniforme, mentre amplifica le parti dell'immagine in cui ci sono repentine variazioni di luminosità. Il filtro passa alto esalta il rumore anche in regioni più uniformi

Filtro passa basso: non fa passare nell'immagine risultante le regioni dove ci sono variazioni di luce repentine, fa passare invece le regioni con luminosità costante o lentamente variabile nello spazio.

Un filtro passa alto sarà utile per identificare i bordi degli oggetti in quanto enfatizza le differenze di luce da punto a punto, un filtro passa basso invece non fa passare le regioni con repentine variazioni di luce, per cui quando su una scena è presente un punto luminoso isolato, accade che quel punto della scena viene eliminato. Un filtro passa basso è utilizzato per eliminare dettagli dalla scena, rendendola più dolce eliminando le variazioni repentine di luminosità, attenuare il rumore e sfumare i bordi.

Si distinguono filtri lineari o non lineari e riguardano il tipo di funzione che determina l'algoritmo.

Nei lineari si distinguono i filtri passa alto di tipo gradiente e di tipo laplaciano o filtri passa basso di tipo smoothing e di tipo gaussiano. Ce ne sono poi altri con algoritmi più complessi ed effetti confrontabili.

I filtri spaziali generano un'immagine avente una distribuzione luminosa diversa rispetto all'immagine di partenza. Le funzioni del filtro riguardano: l'eliminazione dei disturbi nella scena, come ad esempio il malfunzionamento dei sensori che determinano pixel neri o bianchi; l'identificazione dei bordi e ciò può essere fatto in varie direzioni; la messa in risalto dei dettagli o la loro eliminazione.

L'algoritmo di un filtro spaziale sfrutta una matrice di tipo 3x3, 5x5, 7x7, 9x9. Le dimensioni della matrice sono sempre dispari, in modo che ci sia un pixel centrale circondato da pixel in ogni direzione. L'algoritmo di un filtro spaziale parte dal pixel centrale della matrice, che è il pixel sul quale opera l'algoritmo. La matrice può occupare uno spazio più piccolo o più grande, le matrici più distribuiscono gli stessi effetti su uno spazio più ampio, fornendo come risultato un'immagine più rumorosa. Solitamente si opta per matrici 3x3.

Una volta dimensionata la matrice l'algoritmo lavorerà in maniera ricorsiva traslando di volta in volta la matrice, in modo che uno alla volta tutti i pixel della scena assumano il ruolo di pixel centrale. L'obiettivo dell'algoritmo è quello di modificare l'intensità luminosa del pixel di partenza. L'intensità luminosa risultante  $P(i,j)$  sarà funzione di quella del pixel di partenza e di quella caratterizzante tutti i pixel adiacenti.

L'algoritmo di funzionamento del filtro è composto dalla combinazione lineare dei termini  $K(a,b)$  e  $P(a,b)$ , dove  $a$  e  $b$  rappresentano le coordinate di una matrice che consideriamo per semplicità 3x3. Tale algoritmo è esprimibile mediante una sommatoria, che sarà pesata, come nella formula qui riportata (figura 11), nel caso in cui il filtro sia di tipo passa basso:

$$P_{i,j} = \sum_{a=i-1}^{a=i+1} \sum_{b=j-1}^{b=j+1} k_{a,b} P_{a,b} \frac{1}{N}$$

Figura 9

Sia i coefficienti K, che gli scalari P, relativi all'intensità luminosa dei pixel, sono rappresentati mediante una matrice.

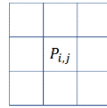


Figura 10

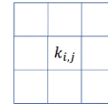


Figura 11

La matrice dei coefficienti può contenere sia valori positivi che negativi, se i coefficienti sono in parte positivi e in parte negativi il filtro fa delle differenze fra intensità luminose in posti diversi dello spazio, in modo da evidenziare le variazioni, ovvero quelle regioni in cui la luminosità è disuniforme: si tratta in tal caso di un filtro passa alto.

Nel caso in cui invece la matrice è composta da tutti numeri positivi si tratta di un filtro passa basso, che comporta lo svolgimento di una media pesata per attenuare le differenze di intensità luminosa.

Il filtro è a tutti gli effetti un processamento dell'immagine perché avviene l'eliminazione di alcuni elementi dell'immagine. L'intensità luminosa finale deve essere compresa tra 0 e 255.

Lavorando con la matrice dei coefficienti, i filtri possono apportare i seguenti risultati: enfatizzare i bordi e far scomparire l'immagine, enfatizzare di più i bordi secondo una specifica direzione, avere una risoluzione più o meno grossolana in base alle dimensioni della matrice.

### 2.3.4 Le funzioni morfologiche

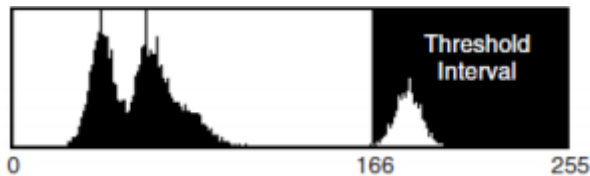
Terminata la trattazione dei filtri la serie degli algoritmi per il processamento dell'immagine continua con l'analisi di quelli legati all'analisi della morfologia. Per morfologia si intende la disciplina finalizzata a fare misure dimensionali sulla scena, estraendo informazioni riguardanti lunghezze, coordinate di punti, baricentro. Oltre alle misure, gli algoritmi morfologici permettono di riconoscere nell'immagine degli oggetti.

La morfologia si divide in due categorie: la morfologia in immagini a livello di grigio e la morfologia su immagini binarizzate. La binarizzazione è un processo che restituisce

un'immagine a due livelli, o tutto nero o tutto chiaro. L'immagine binaria si rappresenta con un solo bit. Lo zero corrisponde al livello 0. Con l'uno si considera il livello 255.

Il processo di binarizzazione consiste nel dividere un'immagine in due regioni, una regione oggetto e una regione sfondo. L'algoritmo di binarizzazione non è altro che una look up table, in cui viene stabilita una soglia (threshold) per cui tutti i pixel che avranno un'intensità superiore a quella soglia saranno posti uguale a 255. Il resto a sinistra della soglia viene spento a zero. La binarizzazione di un'immagine permette di eliminare dalla scena tutti quegli oggetti aventi una bassa intensità luminosa, che non sono interessanti ai fini dell'analisi.

*Istogramma di un'immagine binarizzata*



*Figura 12*

Nel caso in cui i cluster di un istogramma di compenetrano si verificano problemi di sogliatura: trovando il minimo dei picchi tra i due cluster, con la consapevolezza del fatto che parte di ciò che si vuole eliminare resterà comunque presente nell'immagine, si arriva ad un buon compromesso. A volte possono essere applicabili algoritmi di binarizzazione automatica, in altri casi è opportuno effettuare l'azione manualmente.

Nel caso in cui si volessero identificare anche delle scene con luminosità intermedia rispetto all'immagine oggetto e allo sfondo, bisognerebbe rappresentare quelle zone con un altro valore ad esempio 128.

A volte per rintracciare la soglia corretta si divide l'immagine in regioni d'interesse. La sottrazione dello sfondo dall'immagine può essere un'altra tecnica utilizzata per migliorare la qualità dell'immagine.

Negli oggetti, dopo la soglia, si potrebbe verificare la presenza di punti neri o punti luminosi, frutto del rumore. Prima di effettuare la misura delle caratteristiche geometriche dell'oggetto, vengono effettuate sull'immagine binaria una serie di operazioni morfologiche come la dilatazione e l'erosione. Tali algoritmi hanno la funzione di preparare la particella alla misura. L'erosione elimina pixel isolati ed erode le punte dei bordi degli oggetti, diminuendo quindi il contenuto di pixel accesi; la dilatazione invece effettua un'operazione

inversa, riempie qualsiasi forellino isolato, mentre espande ed alliscia i bordi scabri. Si usano maggiormente le loro combinazioni, in quanto tali funzioni morfologiche applicate singolarmente alterano le dimensioni degli oggetti da misurare. La funzione opening è un'operazione sequenziale che consiste nel dilatare un'immagine erosa, mentre la funzione closing riguarda l'erosione di un'immagine dilatata.

L'operazione di erosione lavora sui pixel accesi i cui pixel vicini sono spenti. Quali pixel confinanti devono essere spenti, affinché si spenga il pixel in esame, dipende dalla struttura della matrice che determina l'algoritmo. Se non ci sono dei pixel uguali a uno nelle direzioni indicate dalla matrice allora il pixel in esame si spegne, di conseguenza scompaiono dall'immagine tutti i pixel isolati.

In un'immagine binaria sorge il dubbio nel capire se due pixel confinanti appartengano o meno allo stesso oggetto: si identificano i gruppi di pixel che appartengono allo stesso oggetto, mediante i criteri di connettività.

Connettività-4: due pixel sono considerati parte dello stesso oggetto se essi sono adiacenti in orizzontale o in verticale.

Connettività 8: due pixel sono considerati parte dello stesso oggetto se essi sono adiacenti non solo in orizzontale e in verticale, ma anche se sono in contatto le loro diagonali. La scelta può essere di natura iterativa, valutando il risultato che si ottiene scegliendo l'una o l'altra opzione.

L'operazione morfologica che consiste nel rilevare le informazioni desiderate dall'immagine prende il nome di Blob analysis. Tale operazione misura la geometria degli oggetti in un'immagine, effettua operazioni di conteggio del numero di particelle, determina l'area di singoli oggetti, espressa in unità di pixel, il perimetro delle particelle, ecc. I pacchetti software presentano algoritmi mediante i quali forniscono tali informazioni geometriche sull'immagine.



### 2.3.5 Gli algoritmi di matching

Un'altra tecnica di image processing per estrapolare informazioni da una scena sono gli algoritmi di matching. Questi servono a effettuare il riconoscimento di oggetti all'interno dell'immagine osservando la geometria delle distribuzioni di intensità luminosa. Il controllo della conformità della forma di un oggetto viene spesso effettuato mediante algoritmi di matching. Nel caso in cui il pezzo presenti delle imperfezioni, l'algoritmo è in grado di indicare anche il livello di somiglianza con il pezzo desiderato. Un algoritmo di Matching può inoltre essere implementato all'interno di un robot dotato di un sistema di visione.

Gli algoritmi di matching che cercano la corrispondenza tra un'immagine di riferimento, chiamata template, e delle immagini presenti nella scena, sono detti algoritmi di "Pattern Matching". L'obiettivo di questo algoritmo è effettuare la ricerca del template e fornire un risultato in funzione della posizione, dell'orientamento, della scala, e di un indicatore di somiglianza (score). Il calcolo della somiglianza difficilmente mi darà uno score massimo (solitamente 999 su una scala da zero a mille), ma restituirà nella maggior parte dei casi un valore compreso tra 800 e 980 perché bisogna considerare la presenza di rumore e le differenze di esposizione tra il template e l'oggetto da ricercare.

Occorre definire una funzione  $S$  che rappresenti la somiglianza.

Si considerano le seguenti ipotesi:

- immagini in scala di grigio;
- la posizione dell'oggetto da riconoscere possa essere descritta da una traslazione.

Dato un template definito come  $t(u,v)$ , dove  $u$  e  $v$  rappresentano le generiche coordinate di ogni pixel presente all'interno della sotto-immagine (template), e dati gli indici  $i,j$  riferiti all'immagine di partenza, aventi dimensioni maggiori di  $u$  e  $v$ , si definisce

$S$  come una funzione che considera i valori di grigio del template espressi come  $t(u,v)$  e della sottostante immagine nella posizione corrente come  $I(u+i, v+j)$  e calcola, variando in modo ricorsivo  $(i,j)$ , un elenco di valori (score) proporzionali alla similitudine tra il template e l'immagine sottostante. Ci sono vari algoritmi che permettono di calcolare la somiglianza, tra i quali si citano SAD, SSD, cross correlazione.

Gli algoritmi di cross correlazione sono molto più precisi, ma risultano molto lunghi a causa dei numerosi calcoli che vengono effettuati.

Nell'applicare gli algoritmi di matching oltre alla traslazione può essere compresa la rotazione del template: una matrice di rotazione ruota il template di un angolo noto e se si

vuole esplorare l'immagine a 360° sorgerà l'esigenza di ripetere la cross-correlazione 360 volte.

Un'altra possibile aggiunta è quella della variazione di scala del template, che comporterà a sua volta un maggior numero di calcoli e un maggior tempo di attesa, oneroso da un punto di vista computazionale.

*Effetti di un algoritmo di "pattern matching"*

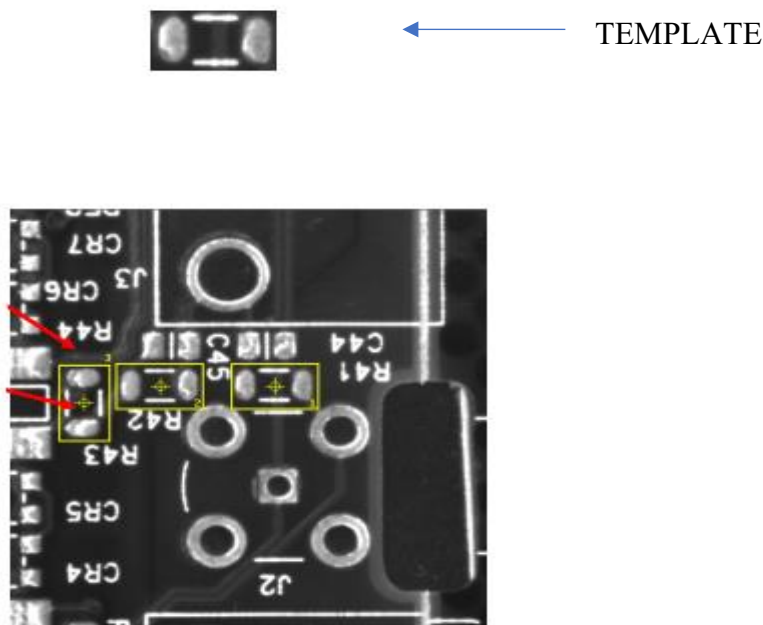


Figura 13

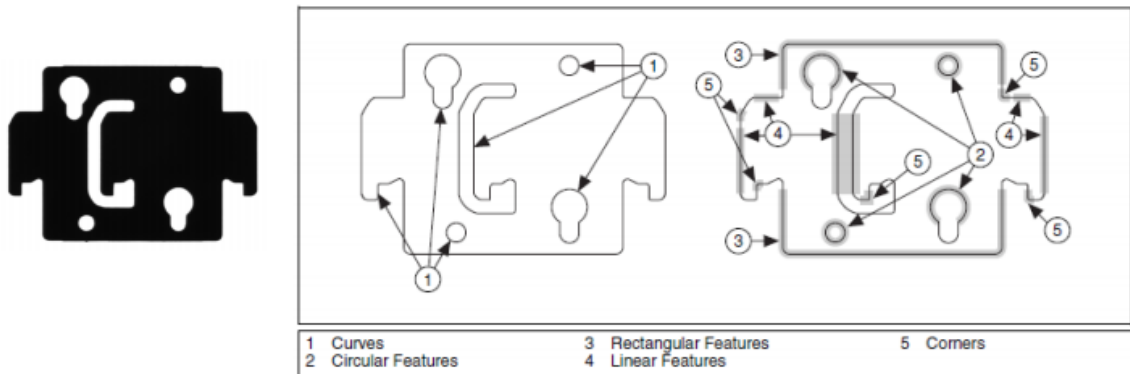
Oltre al pattern c'è un'altra classe di algoritmi di matching, detta geometric matching, più complessi rispetto a quelli di pattern. Tale algoritmo cerca le primitive geometriche in una scena: linee rette, curve, cerchi. L'algoritmo di matching geometrico afferma che due oggetti si somigliano se contengono gli stessi attributi geometrici nello spazio; le primitive geometriche emergono attraverso l'analisi dei bordi degli oggetti. l'algoritmo che permette di rintracciare tali primitive è la trasformata di Hough. Il processo di geometric matching è suddiviso in due stadi:

- Una fase di apprendimento sul template, che consiste nell'estrazione dei bordi degli oggetti per mezzo dei filtri spaziali. La trasformata di Hough permette di estrarre dai bordi le caratteristiche geometriche. Infine, si delineano le relazioni spaziali tra le caratteristiche geometriche estratte.

- Una seconda fase che ricalca il procedimento della prima fase, non più sul template ma sull'immagine. Si verifica poi l'eventuale congruenza degli attributi geometrici.

L'algoritmo di geometric matching risulta più veloce rispetto al pattern matching poiché ci sono meno calcoli da effettuare.

*Risultato di un algoritmo di geometric matching*



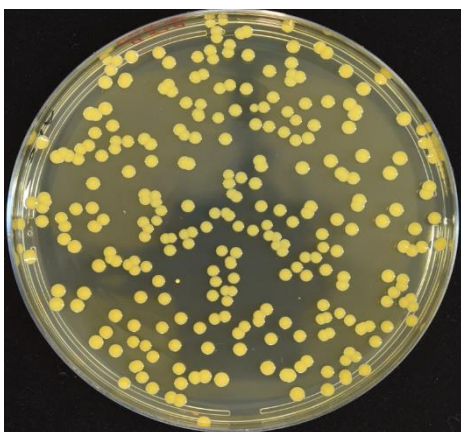
*Figura 14*

# CAPITOLO 3: ALGORITMI PER IL CONTEGGIO DI COLONIE BATTERICHE MEDIANTE SOFTWARE

## 3.1 CONTEGGIO COLONIE BATTERICHE MEDIANTE VISION ASSISTANT

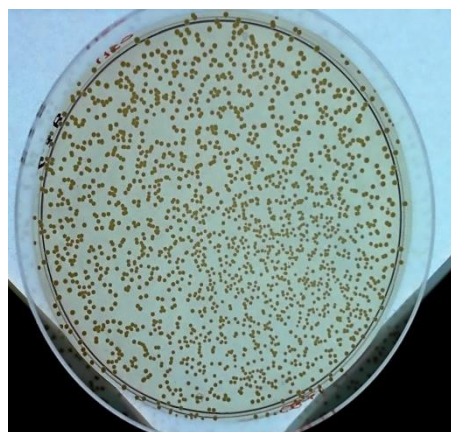
Il nucleo di questo elaborato riguarda l'illustrazione di algoritmi di image processing applicati al conteggio di colonie batteriche depositate su dischi di Petri, con l'obiettivo di snellire le procedure del test per determinare l'efficienza di filtrazione batterica. L'attività di ricerca per la determinazione di questi algoritmi si è basata sull'utilizzo di due software: Vision Assistant e ImageJ.

Vision assistant è un software a pagamento fornito dalla National Instruments, che permette di eseguire analisi d'immagine tramite un'interfaccia intuitiva e dettagliata. Per sviluppare la sequenza di algoritmi si è partiti da immagini raffiguranti una distribuzione di colonie batteriche di valore noto.



282 CFU

Figura 16



1750 CFU

Figura 15

Gli algoritmi considerati sono:

- pattern matching in scala di grigi;
- algoritmo di matching "shape detection", per il riconoscimento di particelle di natura circolare;
- processamento di un'immagine contenente un disco di Petri, al fine di effettuare una corretta operazione di soglia.

Da quest'ultimo algoritmo si ottiene un'immagine binarizzata, dalla quale possono essere estratti gli oggetti contenuti, mediante l'applicazione di svariate funzioni morfologiche:

- l'esecuzione diretta di una particle analysis dopo la separazione delle particelle;
- il riconoscimento di un template costruito a partire da uno scheletro a M;
- il riconoscimento di oggetti circolari mediante la funzione "circle detection".

Il confronto degli algoritmi è iniziato per semplicità a partire dall'immagine di 282 CFU e sono stati ottenuti risultati molto diversi in base al tipo di algoritmo applicato.

## 3.2 CONTEGGIO COLONIE BATTERICHE SU VISION PER UN'IMMAGINE DA 282 CFU<sup>1</sup>

### 3.2.1 *Conteggio mediante pattern matching*

Il conteggio di colonie batteriche eseguito mediante pattern matching risulta impreciso e poco ripetitivo, infatti cambiando il template gli oggetti trovati nella scena variano, anche notevolmente. Inoltre, una volta ottenuto il Template, bisogna regolare in modo ricorsivo i vari parametri che regolano l'algoritmo affinché si ottenga un risultato comparabile col valor vero.

Il pattern matching è stato impiegato a partire da due template, uno raffigurante l'intera colonia batterica, l'altro rappresentante solo una porzione della colonia. Il risultato ottenuto è che applicando l'algoritmo con il secondo template, vengono individuate nella scena anche alcune delle colonie batteriche tra loro sovrapposte.

### 3.2.2 *Pattern matching con template raffigurante l'intera colonia*



Figura 17

---

<sup>1</sup> Tutte le immagini contenute in questo paragrafo sono state ottenute attraverso il Vision Assistant

Una volta caricato il template, prima di avviare l'algoritmo, il software richiede di modificare dei settaggi. È possibile modificare il centro delle coordinate cartesiane del template oppure mascherare una regione del template che può arrecare disturbo.

Confermato il template il software fornisce una prima stima degli oggetti presenti nella scena. Tale stima si è mostrata molto lontana dal valor vero di 282 cfu, con alcuni template anche sotto il valore 100.

La fase successiva è quella di mettere a punto determinati settaggi dell'algoritmo al fine di avvicinare il risultato al valor vero:

- introdurre la ricerca di oggetti ruotati di un determinato range rispetto al template. In tal caso è stato inserito come campo di rintracciabilità tutto l'angolo giro;
- introdurre dei fattori di scala, in modo da rintracciare oggetti più grandi o più piccoli del template. Nell'attività svolta è stato assegnato il range 80/120 %;
- accettare oggetti che non sono perfettamente uguali al template, con un range di occlusione impostato tra lo zero e il 15%.

Search for Matches that are		Min	Max
<input checked="" type="checkbox"/>	Rotated	Range 1	-180 180
<input type="checkbox"/>		Range 2	0 360
<input checked="" type="checkbox"/>	Scaled	Range	80 120
<input checked="" type="checkbox"/>	Occluded	Range	0 15

Figura 18

Oltre a queste specifiche, attraverso le quali non si ottiene ancora una soluzione rigorosa, sono state revisionate le impostazioni avanzate, che comprendono:

- il minimo score accettabile, che è stato posto uguale a zero;
- la soglia dei bordi è stata abbassata ad uno: questo crea molto rumore di fondo nel momento in cui l'algoritmo scansiona l'immagine, ma permette di trovare molte più colonie;
- la percentuale massima accettabile relativa alla sovrapposizione di oggetti ricavati è stata ridotta al 40%, in modo tale da prevenire il fenomeno del doppio conteggio di una singola colonia;
- nelle impostazioni dettagliate relative al Matching è stata modificata, da bilanciata ad aggressiva, la voce relativa alla strategia di ricerca degli oggetti nella scena.

Parameter	Value
Algorithm	Geometric Matching
Minimum Match Score	0
Curve Parameters	
Extraction Mode	Normal
Edge Threshold	1
Edge Filter Size	Normal
Minimum Length	25
Row Search Step Size	15
Column Search Step Size	15
Matching	
Compute Correlation Score	True
Enable Calibration	True
Scoring Method	Standard
Subpixel	
Enable Subpixel Accuracy	True
Overlap	
Max Match Overlap	40

Figura 19

Parameter	Value
Matching	
Compute Correlation Score	True
Compute Target Template Score	False
Enable Calibration	True
Contrast Reversal	False
Search Strategy	Aggressive
Scoring Method	Standard

Figura 20

Il risultato finale ottenuto mediante l'algoritmo di pattern matching con template completo è di 191/282 colonie batteriche.

Number of Matches to Find  Matches Found: 191

*Risultato algoritmo di pattern matching*

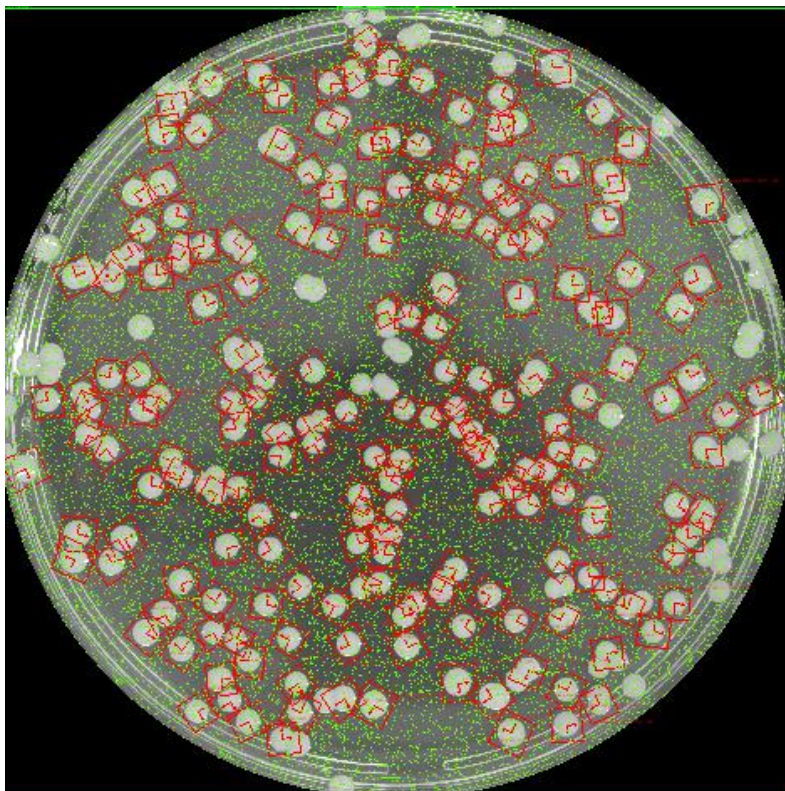


Figura 21

### 3.2.3 Pattern matching con template raffigurante una porzione della colonia

Il nuovo template raffigura solamente una porzione della colonia batterica, in modo che l'algoritmo possa trovare delle somiglianze anche nelle colonie tra loro sovrapposte. Infatti, due colonie sovrapposte appaiono come due cerchi compenetranti, quindi ciascuna colonia somiglia al template rappresentato qui sotto.



Figura 22

Il risultato finale ottenuto mediante l'algoritmo di pattern matching col template raffigurante parte della colonia è di 264/282 CFU, mostrando quindi un netto miglioramento rispetto al template utilizzato in precedenza.

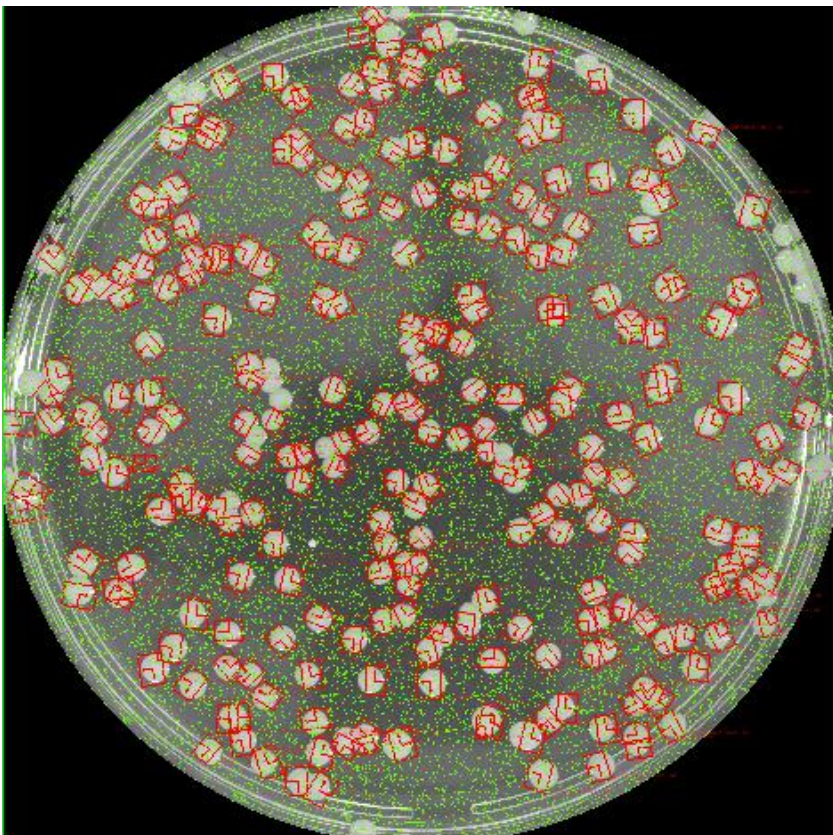


Figura 23

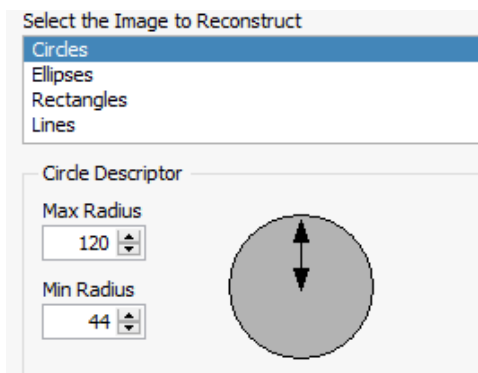


In conclusione, l' algoritmo di pattern matching su un' immagine in scala di grigi, per il conteggio di colonie batteriche, risulta poco affidabile con un calcolo rapido, complesso da un punto di vista temporale e computazionale, nel caso in cui si voglia ottenere un risultato più accurato, che è comunque raggiungibile dopo aver scelto il giusto template.

### 3.2.4 Conteggio con shape detection

Lo shape detection è un algoritmo di matching che fornisce il risultato a partire da un template predefinito raffigurante una figura geometrica. Questo algoritmo fornisce, a parità di tempo, un risultato più attendibile rispetto all' algoritmo precedente che, essendo più oneroso da un punto di vista computazionale, richiede molte più azioni per essere perfezionato.

L' obiettivo dell' algoritmo è quello di rintracciare all' interno dell' immagine oggetti i cui bordi rappresentano una figura geometrica prescelta, in tal caso il cerchio.



Una volta scelto il cerchio come figura geometrica da ricercare, bisogna procedere a specificare il range del raggio che descrive tale cerchio.

Figura 24

Il passaggio successivo consente nel regolare i parametri presenti nella tabella sottostante. Nell' attività svolta l' unico dato modificato riguarda le modalità di estrazione della curva.

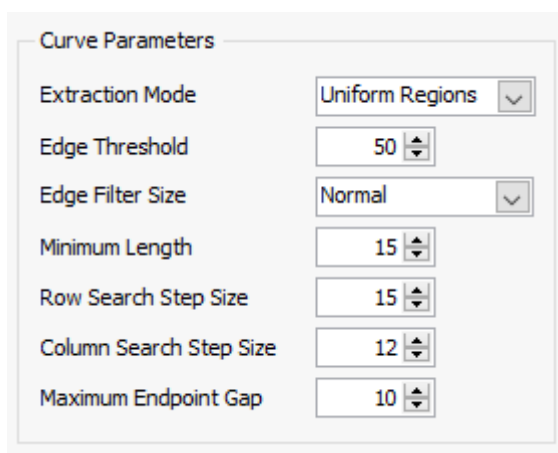


Figura 25

L' estrazione per regioni uniformi consente di evitare eccessive sovrapposizioni di oggetti identificati che in ogni caso non troverebbero alcun riscontro nella scena.

Minimum Score

Search for Matches that are

			Min	Max
<input type="checkbox"/>	Rotated	Range 1	<input type="text" value="0"/>	<input type="text" value="360"/>
<input type="checkbox"/>	Rotated	Range 2	<input type="text" value="0"/>	<input type="text" value="360"/>
<input checked="" type="checkbox"/>	Scaled	Range	<input type="text" value="70"/>	<input type="text" value="130"/>
<input checked="" type="checkbox"/>	Occluded			

Figura 26

Infine, si provvede a impostare i corretti rapporti di scala e l'occlusione.

Questi parametri vengono fissati attraverso una procedura iterativa.

Il risultato dell'algoritmo ottenuto durante l'attività di ricerca è 254/282. Si tratta di un

risultato non molto preciso, considerando anche il fatto che alcune circonferenze ricostruite sulla scena non sono corrisposte da altrettanti oggetti. I pregi riguardano la semplicità e il risparmio temporale, a fronte di un risultato discreto.

*Risultato fornito dall'algoritmo di shape detection*

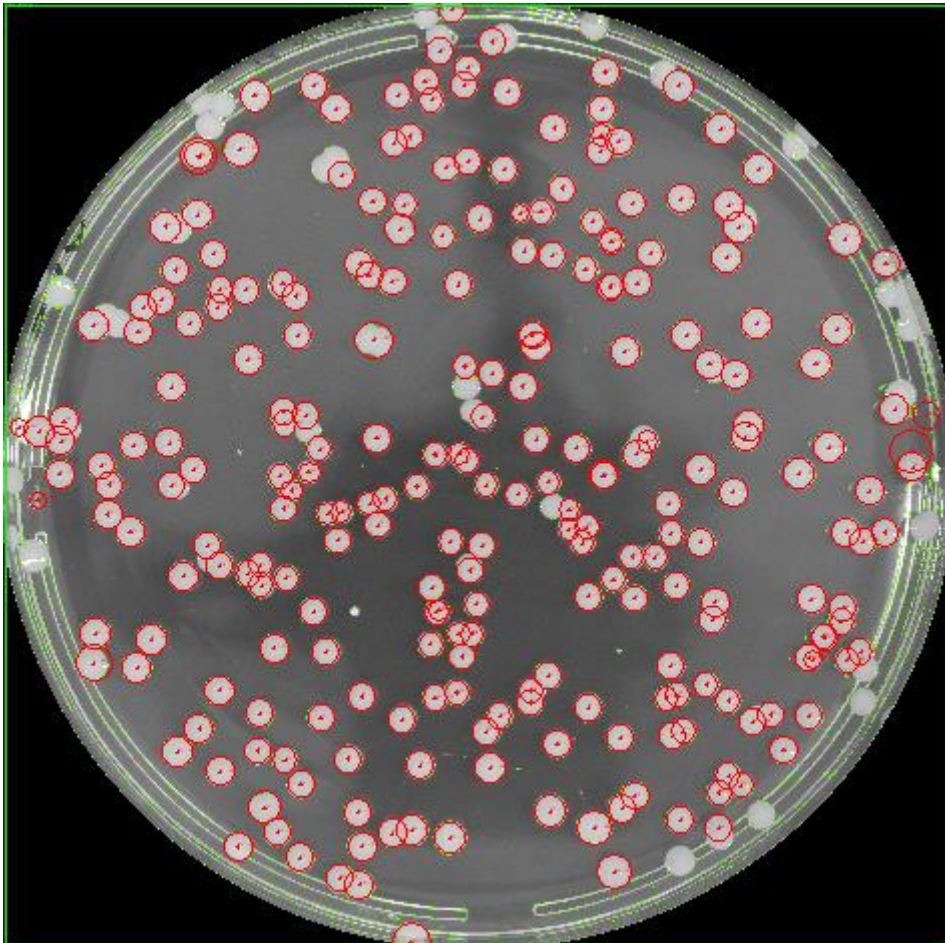


Figura 27

### 3.2.5 Processamento di un'immagine contenente un disco di Petri al fine di effettuare una corretta operazione di sogliatura

L'algoritmo ha l'obiettivo di trasformare l'immagine originale in un'immagine pronta per essere sottoposta a sogliatura. L'immagine in esame può essere a colori oppure in scala di grigi; nel caso in cui l'immagine sia a colori è necessario estrarre un piano di colore, in modo tale che sia rappresentata da una scala monocromatica.

Struttura dell'algoritmo di binarizzazione applicato all'immagine in esame<sup>1</sup>

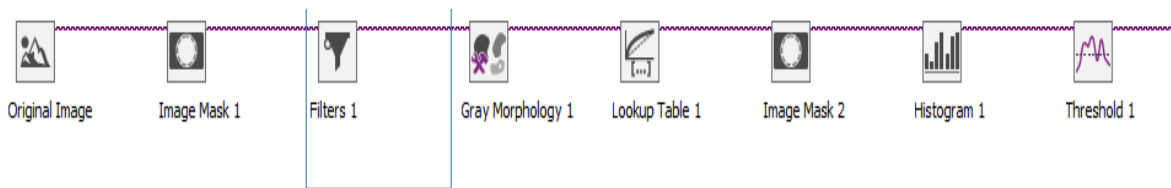


Figura 28

Trattandosi di un'immagine già in scala di grigi non è presente come primo step la funzione “color plane extraction”.

1) Il procedimento che da avvio all'algoritmo è un primo mascheramento dell'immagine, col fine di eliminare parte del bordo, la cui intensità luminosa è comparabile con quella delle colonie.

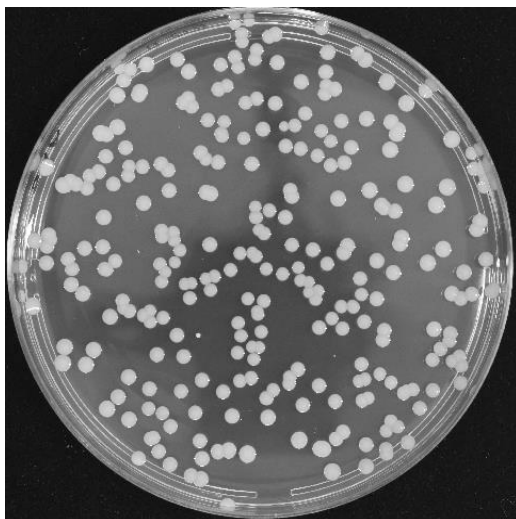


Figura 30

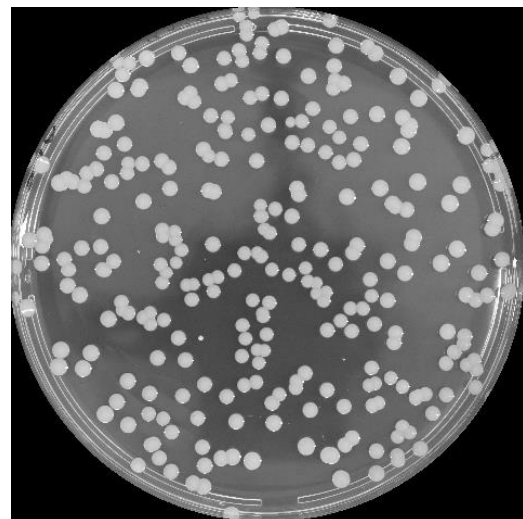


Figura 29

<sup>1</sup> Interfaccia utente Vision Assistant

Il mascheramento dell'immagine permette di isolare la regione d'interesse dal resto della scena. In tal caso lo scostamento dall'immagine di partenza risulta minimo a causa della presenza di colonie batteriche in prossimità del bordo.

2) Alla regione ricavata viene applicato il filtro spaziale “Convolution – highlights details”, un filtro passa alto che mette in risalto gli oggetti nella scena rispetto allo sfondo. L'immagine risulta più granulosa ed è aumentato il contrasto.

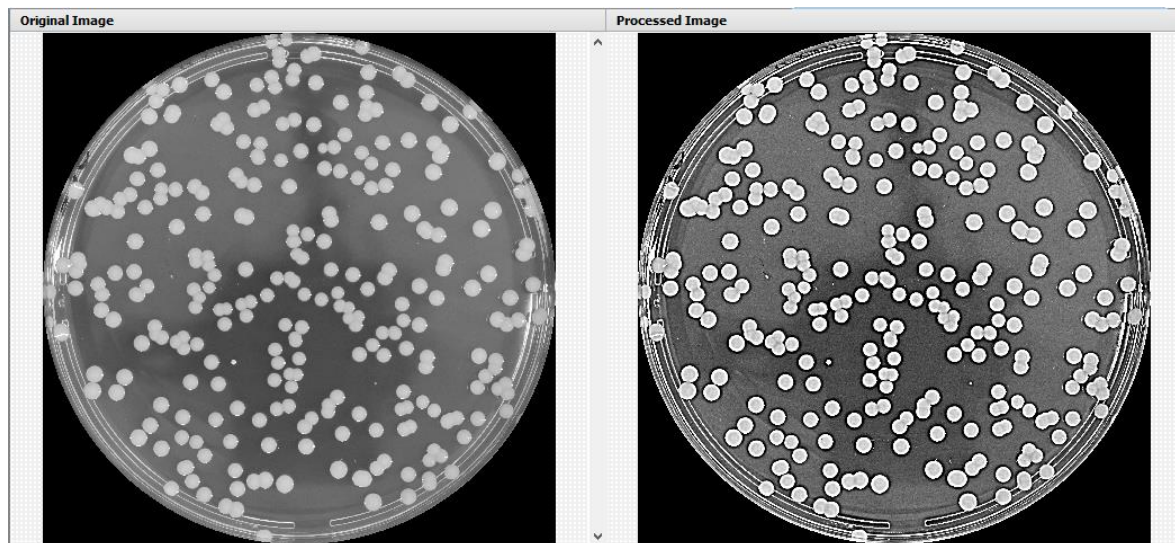


Figura 31

Il risultato del filtro spaziale è dipendente dalla sua matrice: ad un aumento del kernel corrisponde una maggiore illuminazione degli oggetti. Questo parametro è dipendente dalla natura dell'immagine. In questo caso il kernel size impostato è 39.

3) Lo step successivo dell'algoritmo è rappresentato dall'applicazione della funzione morfologica “open”, prima descritta come la dilatazione di un'immagine erosa.

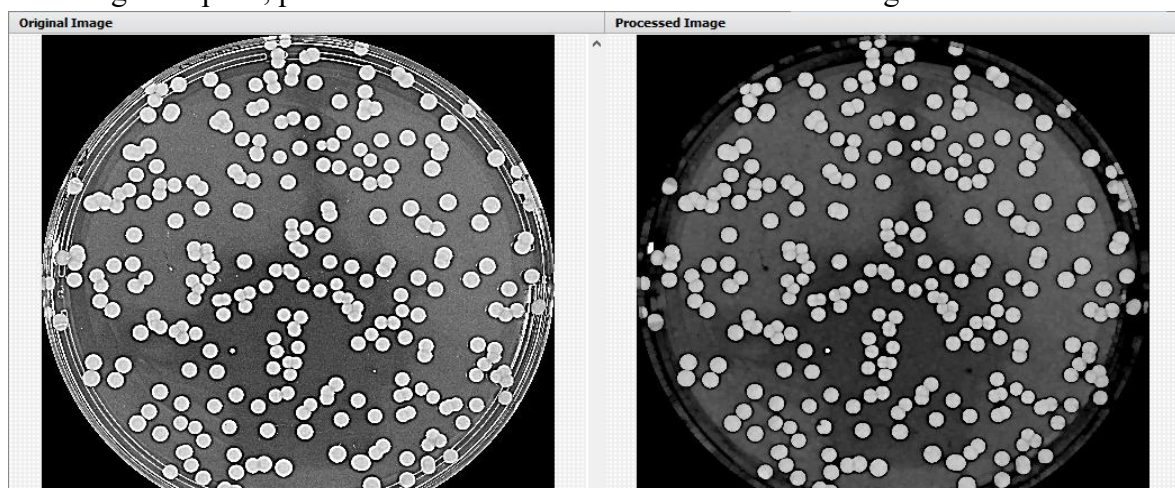


Figura 32

Anche nel caso della funzione morfologica il software chiede di impostare la taglia della matrice. Maggiore è la taglia, più l'erosione risulta drastica e di conseguenza anche la perdita di contenuto dell'immagine sarà maggiore.

Analizzando l'immagine processata si nota la totale eliminazione del bordo del disco, che arrecava un disturbo alla fase di soglia. Inoltre, l'immagine risulta scurita nel suo complesso. L'aumento del contrasto per mezzo del filtro precedentemente applicato, comporta che non si verifichino perdite di informazioni nell'immagine legate al calo dell'intensità luminosa. Può però verificarsi, in caso di immagini di scarsa qualità o contenenti migliaia di colonie batteriche, che l'intensità di alcuni oggetti sia inferiore a quella dei pixel del bordo, pur essendo questi attenuati dall' algoritmo. In tal caso dopo l'applicazione della funzione "open" l'intensità luminosa di tutti i pixel degli oggetti è di gran lunga superiore a quella del bordo.

4) La fase successiva consiste nell'applicazione di una LUT di natura esponenziale, attraverso la quale l'immagine viene ripulita dal rumore e lo sfondo assume un colore uniforme.

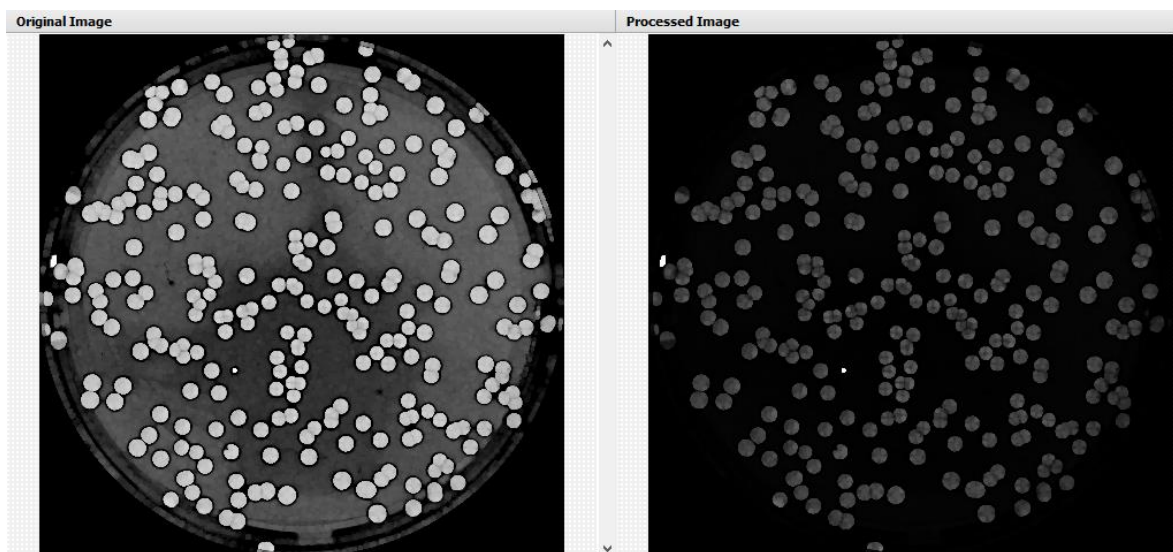
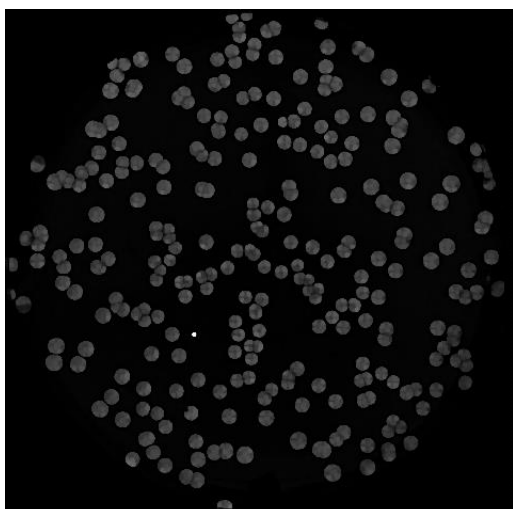


Figura 33

Il risultato della LUT è la formazione di un'immagine pronta per essere binarizzata, in cui gli oggetti emergono sopra uno sfondo uniforme. È stato per scrupolo effettuato un controllo di conformità tra l'immagine ottenuta e quella iniziale, con lo scopo di rintracciare eventuali disturbi ancora presenti nella scena. Una volta identificati è stata perciò applicata un'altra maschera.

*Immagine finale output dell'algoritmo di preparazione alla sogliatura*

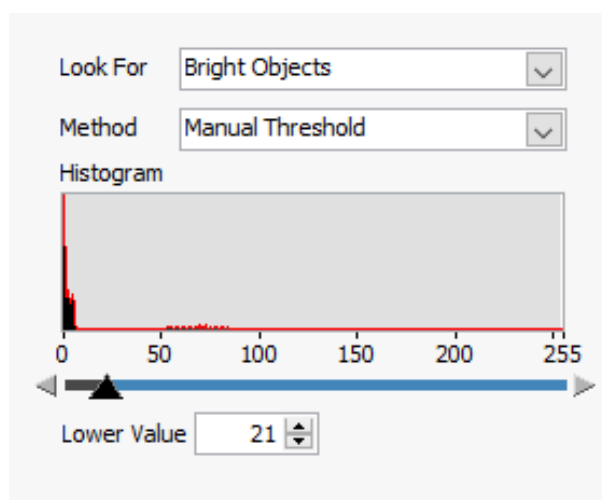


*Figura 34*

5) L'atto finale dell'algoritmo è la conversione in binario dell'immagine in scala di grigi, mediante il processo di sogliatura.

Il software fornisce i settaggi per l'operazione di sogliatura, relativi alla possibilità di individuare nell'immagine oggetti chiari o scuri e al tipo di metodo da adottare. L'immagine può essere binarizzata in modo automatico mediante algoritmi (il software ne propone diversi) oppure con tecnica manuale. La complessità dell'immagine in esame ha scaturito la decisione di optare per la tecnica manuale. La funzione di sogliatura automatica che, nelle prove effettuate, si avvicina di più a quanto stabilito manualmente, è la "clustering".

Nello specifico per l'immagine in esame è stata impostata una soglia bassa, a causa della funzione LUT di tipo esponenziale, che ha reso la scena molto scura nel suo complesso.



*Figura 35*

### 3.2.6 Algoritmi per il conteggio di colonie batteriche su immagine binarizzata

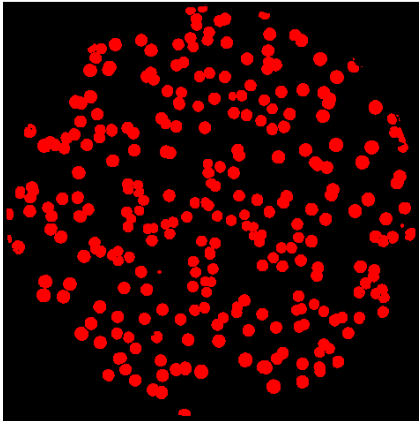


Figura 36

Gli algoritmi implementati in Vision, per effettuare il colonies counting a partire da un'immagine binarizzata, sono risultati poco precisi rispetto alle funzioni fornite da ImageJ. La maggiore difficoltà che il software trova sta nel riconoscimento di colonie sovrapposte, considerate quasi sempre un'unica entità.

Di seguito verranno illustrati tre metodi per ottenere il numero di colonie batteriche a partire da un'immagine binaria.

### 2.3.7 Conteggio mediante separatore di oggetti e particle analysis

La funzione di separazione oggetti, molto personalizzabile in relazione alla dimensione della matrice e al suo contenuto, dovrebbe disaggregare le colonie batteriche che il software vede inizialmente come unica entità, ma non fornisce in output i risultati desiderati.

La particle analysis conta tutti gli oggetti presenti nell'immagine binaria e ne estrae informazioni di natura geometrica.

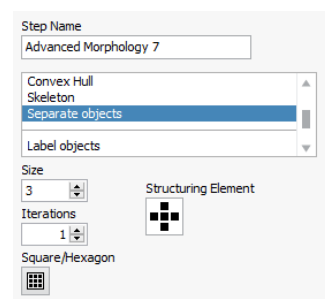


Figura 37

Applicando prima e dopo l'algoritmo di separazione oggetti una particle analysis, il risultato ottenuto varia di una colonia, da 215 cfu a 216 cfu, su 282 totali. Questo algoritmo risulta perciò poco rappresentativo del numero di colonie batteriche, in quanto la funzione di disaggregazione non fornisce le prestazioni attese.

### 3.2.8 Riconoscimento delle particelle mediante un template costruito su uno scheletro a M

L'algoritmo si compone dei seguenti passi:

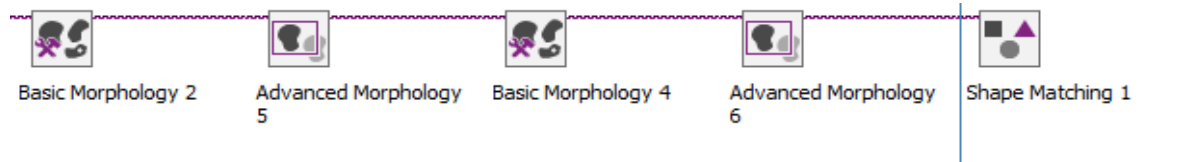


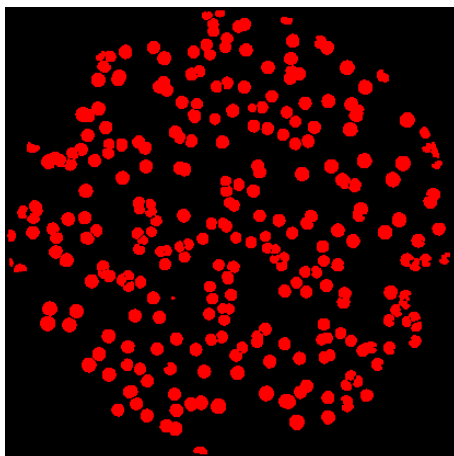
Figura 38

1. L'erosione, il cui dimensionamento della matrice è effettuato in maniera ricorsiva mediante l'osservazione dell'evoluzione dell'immagine.
2. La trasformazione dell'immagine nel suo scheletro, funzione di morfologia avanzata che riproduce l'oggetto luminoso dell'immagine binaria in maniera stilizzata. Lo scheletro può assumere una configurazione ad L o una configurazione ad M. È stata scelta la seconda opzione.
3. L'applicazione della funzione morfologica "close", per rendere interpretabile lo scheletro, con l'obiettivo di riempire gli spazi vuoti tra una linea e l'altra e ricostruire una fisionomia degli oggetti.
4. La funzione di separazione oggetti.
5. L'utilizzo della funzione binaria "shape matching", con l'obiettivo di riconoscere, a partire da un template raffigurante l'oggetto stilizzato, l'intera distribuzione delle colonie batteriche nella scena.

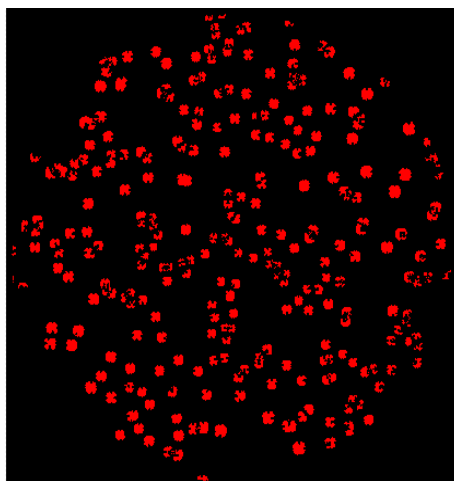
L'implementazione di questo algoritmo non ha raggiunto i risultati sperati, in quanto non si riesce ad individuare in maniera univoca gli scheletri delle singole colonie. Gli oggetti trovati nella scena sono 275/282, ma alcuni degli oggetti rintracciati non corrispondono alle colonie batteriche. L'algoritmo risulta perciò poco attendibile e questo si unisce ad un'elevata complessità computazionale e un conseguente impiego temporale. Il risultato è comunque in termini numerici vicino al valore dato.



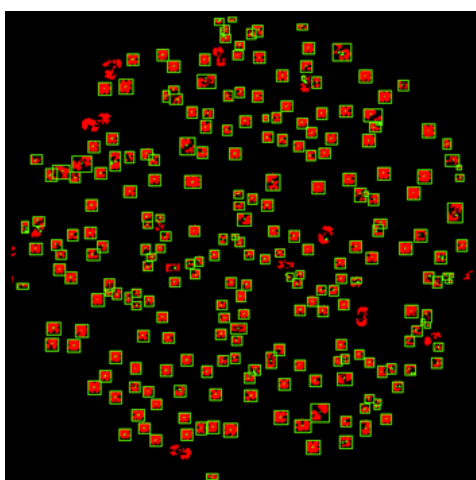
*Illustrazione algoritmo di riconoscimento delle particelle mediante un template costruito su uno scheletro*



*Figura 39*



*Figura 40*



*Figura 41*

### 3.2.9 Riconoscimento circolare di particelle mediante la funzione “circle detection”

Il procedimento in questo caso risulta frutto di un solo passaggio, ovvero l’applicazione della funzione “circle detection”.

L’unica specifica che l’algoritmo richiede di impostare è il range del raggio, in base al quale varierà il numero di cerchi trovati. Procedendo in maniera ricorsiva, si è deciso che il migliore valore del raggio minimo è 30, per il quale si ottiene un numero di colonie pari a 286/282.

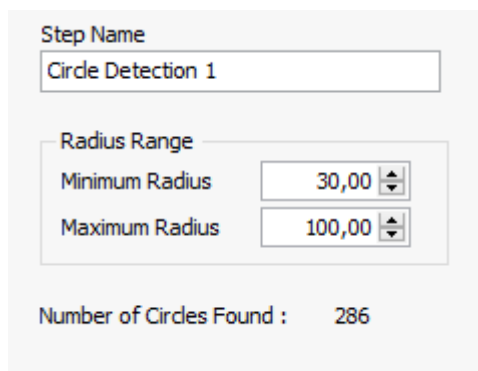


Figura 42

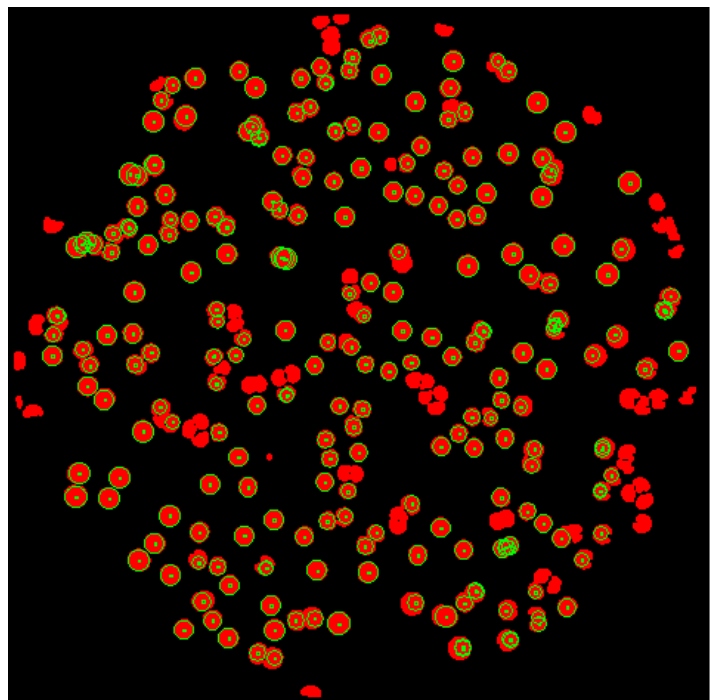


Figura 43

I cerchi evidenziati nell’immagine non sempre corrispondono ad una colonia batterica. Alcune colonie sono contornate da più cerchi mentre altre ne sono sprovviste. L’algoritmo risulta quindi incerto ed approssimativo.

### 3.3 CONTEGGIO COLONIE BATTERICHE SU VISION PER UN'IMMAGINE DA 1750 CFU

Per quanto riguarda l'immagine da 1750 cfu sono state effettuate le stesse prove. L'unica differenza sta nel fatto che l'immagine di partenza è a colori e gli oggetti sono rappresentati col nero. Sono stati effettuate perciò, prima di applicare qualsiasi tipo di algoritmo, delle operazioni preliminari:

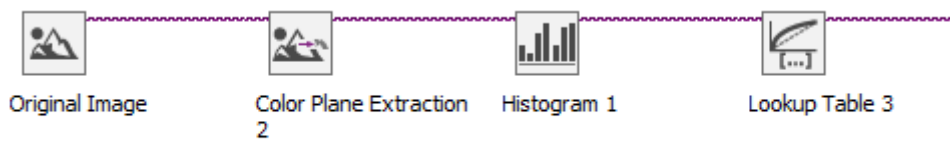


Figura 44

L'immagine originale è stata prima convertita in scala di grigi, poi ne è stato realizzato il negativo mediante l'appropriata LUT reverse.

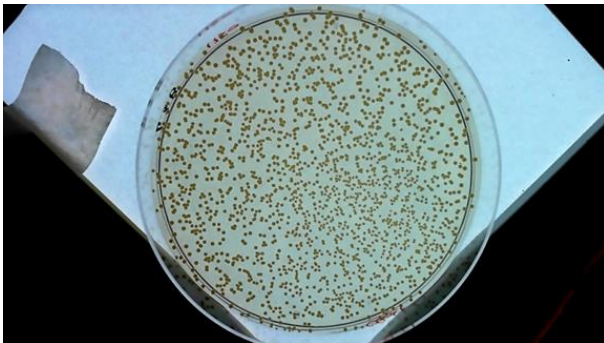


Figura 45 <sup>1</sup>

La conversione dell'immagine in scala di grigi viene effettuata mediante la funzione Color plane extraction: il software fornisce vari tipi di algoritmi aventi la funzione di estrarre dall'immagine RGB un piano di colore. In questo caso si è optato per estrarre il piano blu.

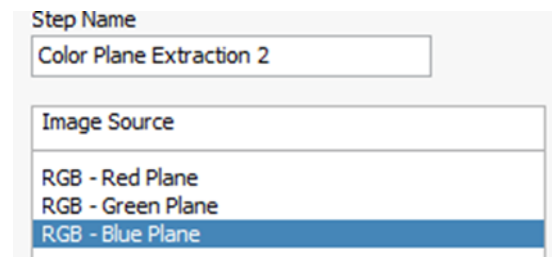
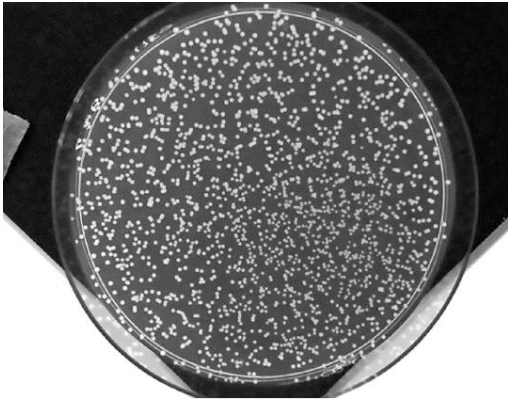


Figura 46

<sup>1</sup> La figura 45 è stata fornita dal LABC19, le altre presenti in questo paragrafo sono state costruite attraverso Vision Assistant

La fase successiva prevede la costruzione del negativo dell'immagine mediante la LUT reverse, in modo tale che le colonie batteriche siano rappresentate dai pixel bianchi.

*Immagine dopo le operazioni preliminari*



*Figura 47*

Per questa immagine gli algoritmi in scala di grigi sopra descritti, il pattern matching e lo shape detection, non risultano applicabili. Il pattern matching in scala di grigi ha come requisito che il numero degli oggetti da trovare sia sotto a 1000. Lo shape detection non è riuscito ad individuare tutte le colonie batteriche a causa della scarsa risoluzione dell'immagine in confronto alle dimensioni delle colonie batteriche presenti.

L'unico modo di ottenere un risultato attendibile utilizzando Vision, è quello di applicare gli algoritmi di colonies counting per l'immagine binaria.

Gli algoritmi in binario che saranno di seguito illustrati sono quelli già utilizzati per l'immagine precedente. La trattazione risulterà per cui più snella al fine di non incorrere in ripetizioni.

### 3.3.1 Riconoscimento circolare di particelle mediante la funzione “circle detection”

La funzione “circle detection” fornisce per questa immagine il risultato di 1627 CFU. Viste le piccole dimensioni delle colonie il raggio minimo è stato impostato ad uno.

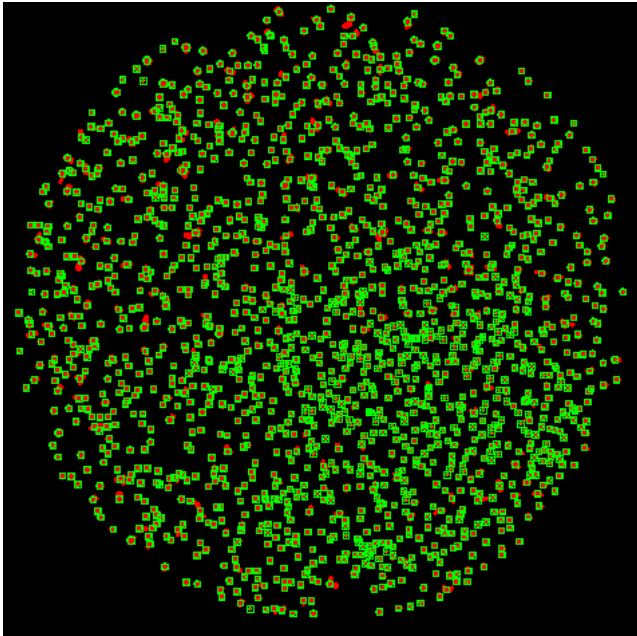


Figura 48

### 3.3.2 Riconoscimento delle particelle mediante un template costruito su uno scheletro a M

La funzione shape matching, a partire da un template ricavato su uno scheletro a M, fornisce un risultato di 1725 CFU.

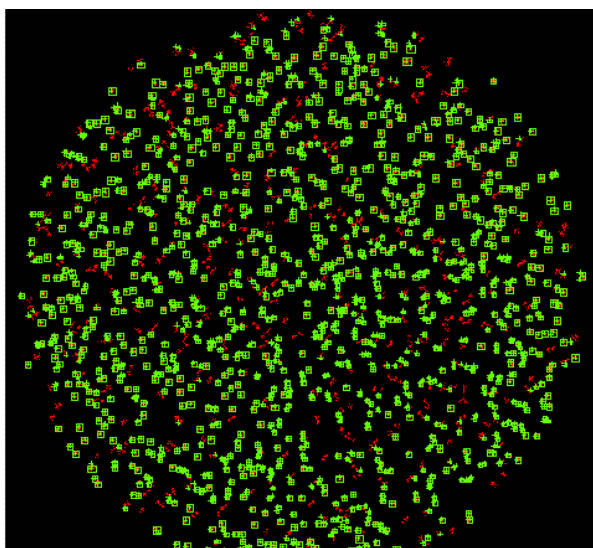


Figura 49

Entrambi gli algoritmi di colonies counting per l'immagine binaria mostrano i loro limiti anche questa volta. I problemi che generano questi algoritmi sono coerenti con quanto è stato osservato nell'immagine precedente. Il riconoscimento circolare di particelle produce un discreto risultato, pur essendo chiaro dall'osservazione dell'immagine che ci sono varie incongruenze tra ciò che è colonia batterica e ciò che l'algoritmo ha selezionato. La funzione shape matching risulta poco attendibile a causa della scarsa somiglianza tra lo scheletro a M ottenuto e l'immagine originale, per cui è difficile valutare se l'algoritmo stia lavorando correttamente, pur essendo il risultato molto vicino a quanto desiderato.

### 3.4 CONTEGGIO COLONIE BATTERICHE SU VISION PER IMMAGINI CON NUMERO DI COLONIE NON NOTO

#### - IMMAGINE 1

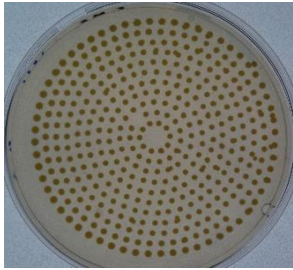


Figura 50<sup>1</sup>

A partire da tale immagine con valore non noto ma ridotto di colonie batteriche è stato applicato l'algoritmo di pattern matching. Il risultato di 364 CFU è probabilmente sottostimato come si può notare osservando l'immagine.

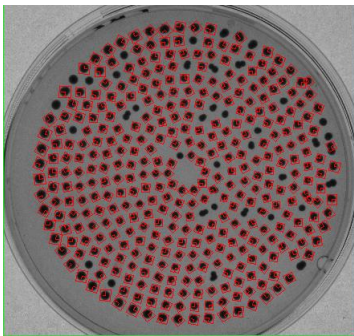


Figura 51

Tale immagine risulta idonea ad un conteggio mediante pattern matching in scala di grigi, vista la qualità della risoluzione e la relativa grandezza delle particelle.

Il pattern matching fornisce un discreto risultato.

#### - IMMAGINE 2

Tale immagine presenta un numero molto elevato di particelle: l'unica strada è convertire l'immagine in binario, tenendo conto del risultato approssimato che ne verrà fuori. A causa del numero elevato di colonie, l'algoritmo di processamento per la binarizzazione dell'immagine risulta più complesso, poiché la funzione morfologica open, che ha l'obiettivo

---

<sup>1</sup> In questo paragrafo, le immagini 50 e 53 sono state fornite dal laboratorio, le altre sono state costruite mediante il software

di eliminare il bordo, scurisce l'immagine. Questo può creare delle difficoltà nella soglia: l'intensità luminosa del bordo potrebbe continuare ad essere maggiore rispetto a quella di una zona interna dell'immagine. Ciò consegue la necessità di eliminare il bordo mediante maschera, sacrificando così alcune colonie batteriche presenti in quella zona. Il calcolo complessivo risulterà per cui sottostimato in partenza.

Il numero di colonie batteriche dell'immagine in esame (in figura sotto a sinistra) è stato calcolato mediante la funzione di "circle detection", l'unica risultata applicabile vista la complessità dell'immagine.

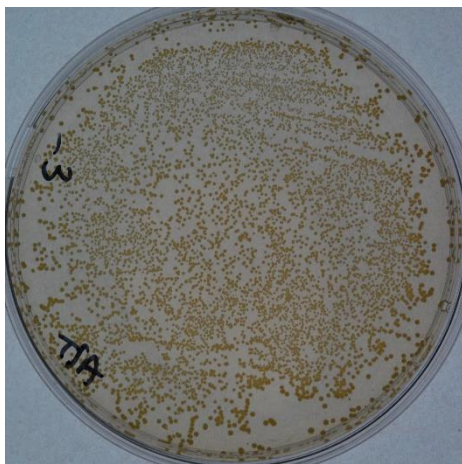


Figura 53

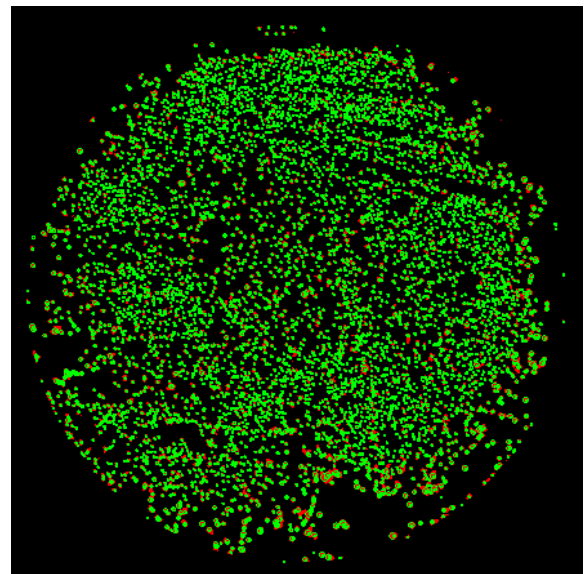


Figura 52

Mediante tale funzione sono state individuate 5872 colonie batteriche.



### 3.5 CONTEGGIO COLONIE BATTERICHE MEDIANTE IMAGEJ<sup>1</sup>

ImageJ è un software open source per l'analisi e il processamento dell'immagine al fine di ricavare delle informazioni. Rispetto al software precedentemente analizzato possiede un'interfaccia più elementare e una minore flessibilità nel personalizzare gli algoritmi.

Il maggior pregio di ImageJ, che ne determina il conseguimento di risultati migliori rispetto al Vision, per l'argomento in analisi, sta nella sviluppatissima interazione diretta utente-immagine.

L'utilizzatore di ImageJ può scrivere sopra l'immagine, sostituendo ad esempio un pixel bianco con uno nero. Anche la delimitazione della regione di interesse è molto più flessibile e questo consente la possibilità di eliminare manualmente i disturbi.

Tornando all'immagine da 282 CFU, con il software ImageJ è stato possibile contare 282/282 colonie batteriche, sfruttando le potenzialità dell'interazione diretta.

L'algoritmo costruito in ImageJ per il conteggio delle colonie batteriche è determinato dai seguenti passi:

1. primo mascheramento;
2. sogliatura;
3. variazioni della morfologia mediante algoritmi e con tecnica di interazione diretta;
4. separazione automatica e manuale di agglomerati di particelle;
5. particle analysis.

Il primo mascheramento consiste nell'eliminare le porzioni dell'immagine non significative o arrecanti disturbo. L'eliminazione avviene a partire da figura geometriche prestabilite come cerchi o poligoni regolari, le cui dimensioni vengono modellate a piacimento dell'utente, oppure disegnando a mano libera la zona dell'immagine che si vuole eliminare.

---

<sup>1</sup> Le immagini di questo paragrafo sono ottenute a partire dal software ImageJ, tranne le figure 58,61 e 63, fornite dal LABC19

La fase successiva consiste nella sogliatura, ovvero la conversione dell'immagine da scala di grigi a binario. A differenza di Vision ImageJ chiede di impostare un range di valori per cui i pixel devono rimanere accesi.

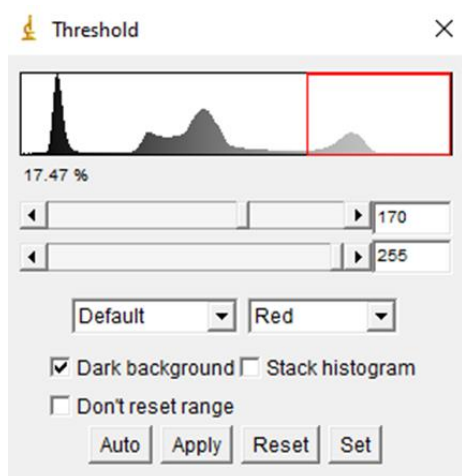


Figura 54

Il passo seguente rappresenta l'applicazione di funzioni di morfologia binaria: gli algoritmi utilizzati sono l'erosione e la funzione open. In questo contesto non è possibile personalizzare le matrici legate a tali algoritmi, per cui le funzioni sono state applicate in sequenza, finché il disturbo da eliminare, ovvero il bordo, è risultato neutralizzato.

A volte non è possibile ottenere un risultato ottimo dagli algoritmi di morfologia binaria, ma grazie all'interazione diretta utente-immagine è possibile neutralizzare quei disturbi sui quali le funzioni morfologiche non sono intervenute.

La penultima azione dell'algoritmo esegue la separazione automatica e manuale di agglomerati di particelle: la funzione di separazione automatica presente in ImageJ è un vero e proprio punto di forza del software, infatti riesce ad individuare e separare gran parte degli agglomerati di particelle. La funzione, chiamata nel software watershed, separa le particelle analizzando la distribuzione dell'intensità luminosa dell'immagine.

Questo algoritmo mette in risalto ImageJ rispetto a Vision, dove l'analoga funzione di separazione di particelle non fornisce in output i risultati desiderati.

Una volta eseguita la funzione, si procede verso una comparazione tra l'immagine ottenuta e quella di partenza, per verificare ed eventualmente separare manualmente delle colonie batteriche ancora unite.

L'algoritmo di colonies counting in ImageJ si conclude con una particle analysis. Quest'ultima risulta più personalizzabile rispetto al Vision, infatti è possibile selezionare le caratteristiche delle particelle che si vogliono individuare in termini di geometria e numero di pixel.

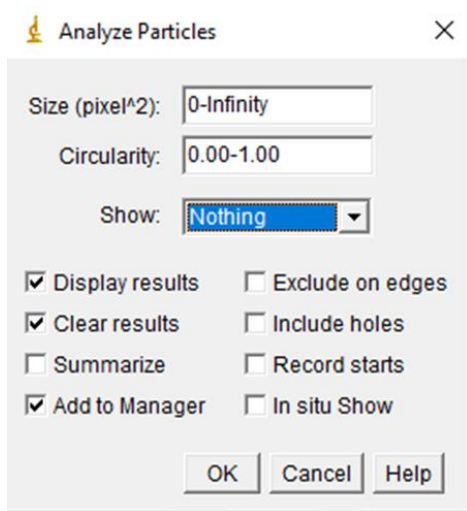


Figura 55

### 3.5.1 Risultati dell'algoritmo di ImageJ applicato alle immagini analizzate

1. Per quanto riguarda l'immagine di prova, è stato raggiunto mediante l'algoritmo il valor vero di 282/282 CFU.

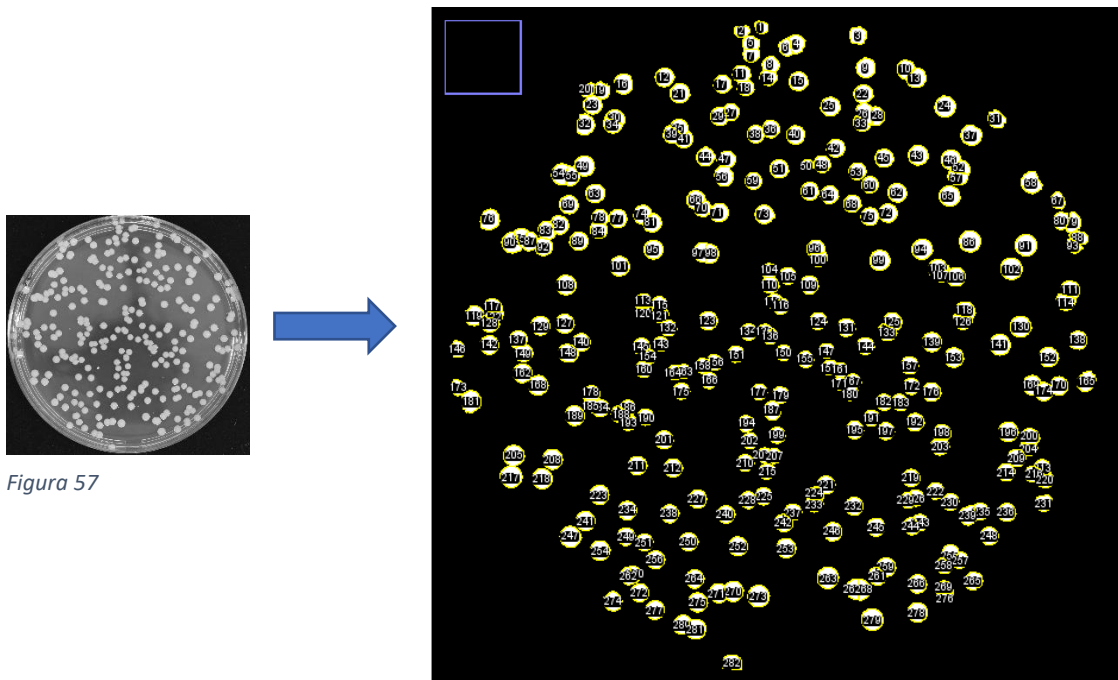


Figura 57

Figura 56

2. Per quanto riguarda l'immagine da 1750 CFU, nemmeno con ImageJ il risultato del conteggio equivale al valore fornito. Dopo la separazione manuale delle particelle l'algoritmo ha prodotto un valore maggiore (1878), mentre con la sola separazione automatica un valore inferiore (1625). Le ipotesi avanzate riguardano un'incertezza sul risultato fornito e un'erronea concezione di coppia di colonie, dovuta alle piccole dimensioni dei singoli oggetti.

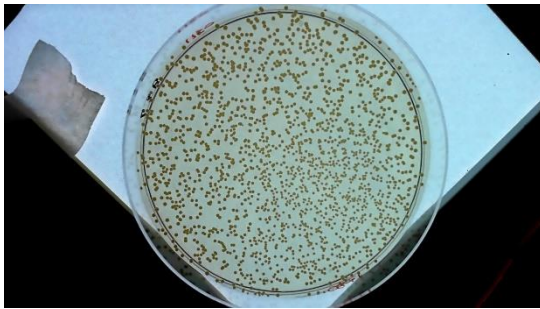


IMMAGINE ORIGINALE (fornita da LAB19)

Figura 58

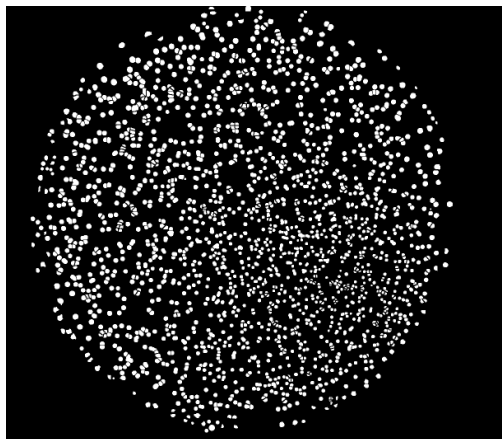


IMMAGINE ELABORATA DA IMAGEJ

Figura 59

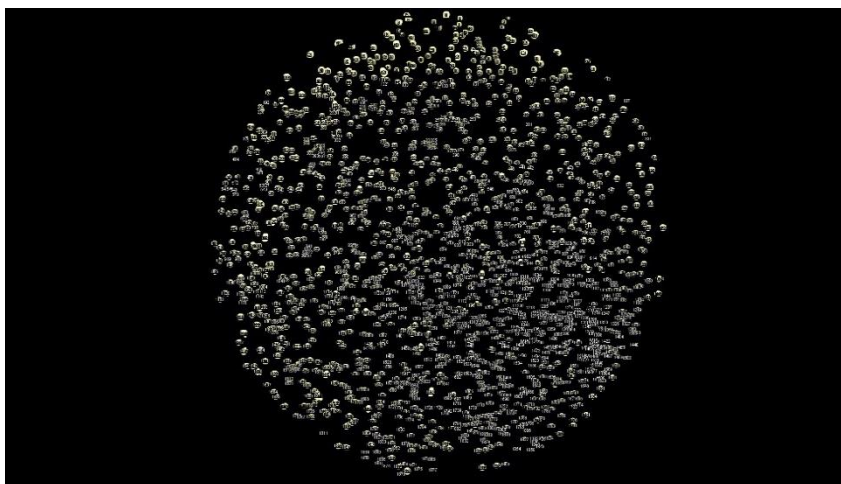


IMMAGINE DOPO  
PARTICLE  
ANALYSIS (1878)

Figura 60

3. Immagini senza valor noto (le stesse implementate in Vision).



Figura 61

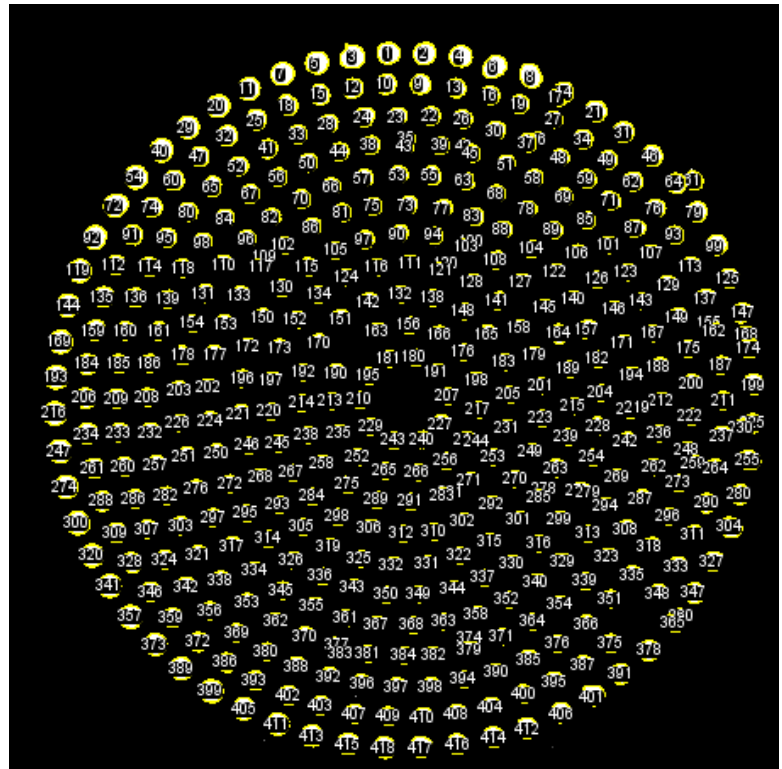


Figura 62

418 CFU



Figura 63

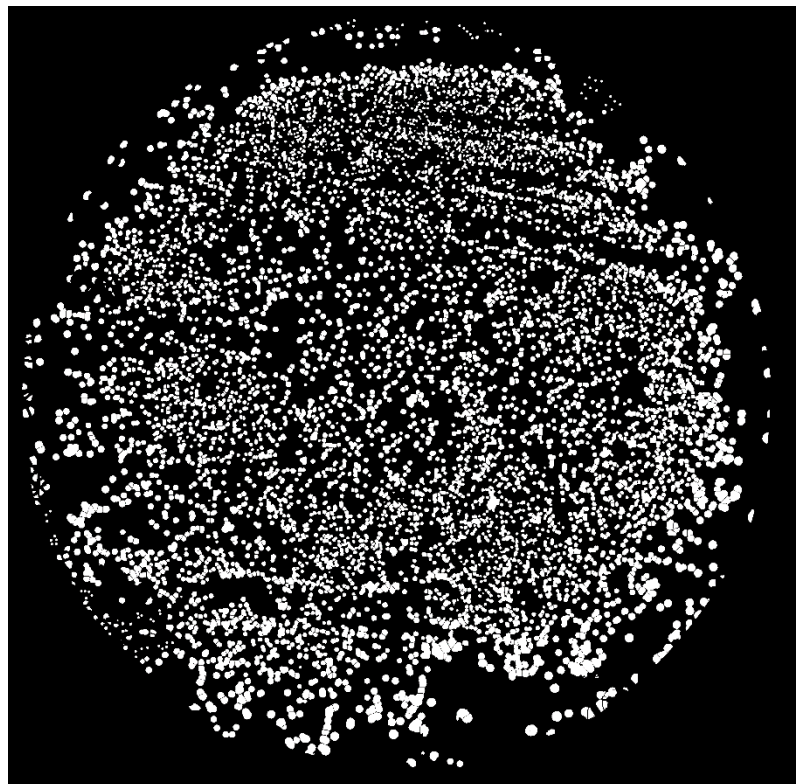


Figura 64

5475 CFU

## CAPITOLO 4: CONSIDERAZIONI ECONOMICO-GESTIONALI SUGLI ALGORITMI TESTATI

### 4.1 PRESENTAZIONE E DISCUSSIONE DEGLI OUTPUT OTTENUTI DAI VARI ALGORITMI

L'attività di ricerca si è conclusa senza individuare una soluzione ottimale che escluda tutte le altre. Entrambi i software hanno riscontrato delle difficoltà ad eliminare o neutralizzare il bordo del disco. Questo, avendo un'intensità luminosa comparabile con quella degli oggetti, inibisce la corretta lettura dell'immagine.

Un altro problema relativo alla lettura dell'immagine riguarda le difficoltà che i software hanno riscontrato nell'individuare le particelle singole all'interno di agglomerati.

In base al numero delle particelle, alla risoluzione ed altre specifiche relative alla singola immagine, sono stati costruiti molti algoritmi diversi tra loro.

Attraverso il Vision Assistant sono state individuate molte strade, ma non tutte sono applicabili ad una singola immagine. Alcuni algoritmi si distinguono per rapidità e ripetibilità, ma poi difettano in precisione del conteggio e non possono essere applicati a tutte le immagini; altri sono in grado di processare qualsiasi tipo di immagine, ma mostrano problemi di complessità computazionale e risultano poco precisi.

Il software ImageJ, d'altra parte, processa ogni immagine con lo stesso algoritmo e mostra ottimi risultati in termini di precisione. Questo però a discapito di un'interazione diretta utente-immagine e un considerevole dispendio temporale.

Di seguito sono riportate delle tabelle che descrivono i risultati dell'attività di ricerca.

Software	Algoritmo	Rapidità	Precisione	Ripetibilità	Livello di automazione	Immagine idonea
Vision Assistant	Pattern matching	Media	Media	Bassa	Medio/basso	Scala di grigi e limite di 1000 oggetti
Vision Assistant	Shape detection	Alta	Media	Alta	Medio	Scala di grigi ed elevata risoluzione
Vision Assistant	Circle detection	Media	Media	Medio/alta	Alto	Binaria
Vision Assistant	Shape matching a partire da scheletro	Bassa	Bassa	Media	Medio	Binaria
Vision Assistant	Particle analysis	Media	Bassa	Medio/alta	Alto	Binaria
ImageJ	Particle analysis mediante l'utente	Bassa	Alta	Alta	Molto basso	Qualsiasi

La tabella descrive le qualità di ogni singolo algoritmo. Di seguito alcune informazioni esplicative.

Per rapidità si intende il tempo complessivo impiegato dall'algoritmo per mostrare l'output.

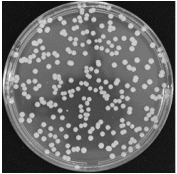
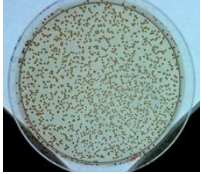
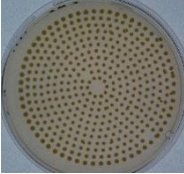

Per precisione sono stati considerati due fattori:

1. La discrepanza tra il valore ottenuto e il valore noto.
2. La coincidenza o meno dell'oggetto trovato con la singola colonia batterica.

La ripetibilità si riferisce alla probabilità che lanciando lo stesso algoritmo sulla stessa immagine, eventualmente ruotata, si ottiene lo stesso risultato. Si precisa che la bassa ripetibilità del pattern matching è dovuta al fatto che ogni volta bisogna individuare un template. I risultati ottenuti cambiando template possono discostarsi anche di molto.

Per quanto riguarda gli algoritmi che richiedono l'immagine binaria, i problemi di ripetibilità sono connessi al fatto che, ruotando l'immagine, gli eventuali mascheramenti annessi all'algoritmo vanno a cadere su altre regioni della scena, modificandone il contenuto informativo.

Il livello di automazione descrive l'autonomia dell'algoritmo di processare l'immagine senza l'ausilio dell'utente.

Immagini				
Algoritmi				
Valore noto	282 CFU	1750 CFU		
Pattern matching con template intero	191		364	
Pattern matching con template a specchio	264			
Shape detection	254			
Circle detection	286	1627		5872
Shape matching a partire da scheletro	275	1725		
Particle analysis (Vision)	216			
Particle analysis mediante utente (ImageJ)	282	1625 1878 *	418	5475

\* Risultato ottenuto dopo l'operazione di separazione manuale.



La seconda tabella mostrata fornisce i risultati di tutti gli algoritmi costruiti durante l'attività di ricerca. Si nota la versatilità dell'algoritmo costruito mediante il software ImageJ, il quale è stato in grado di processare tutte e quattro le immagini. Per il software Vision, solo l'algoritmo di circle detection ha mostrato uno spiccato grado di adattamento al tipo di immagine.

## 4.2 SOLUZIONI RICAVATE

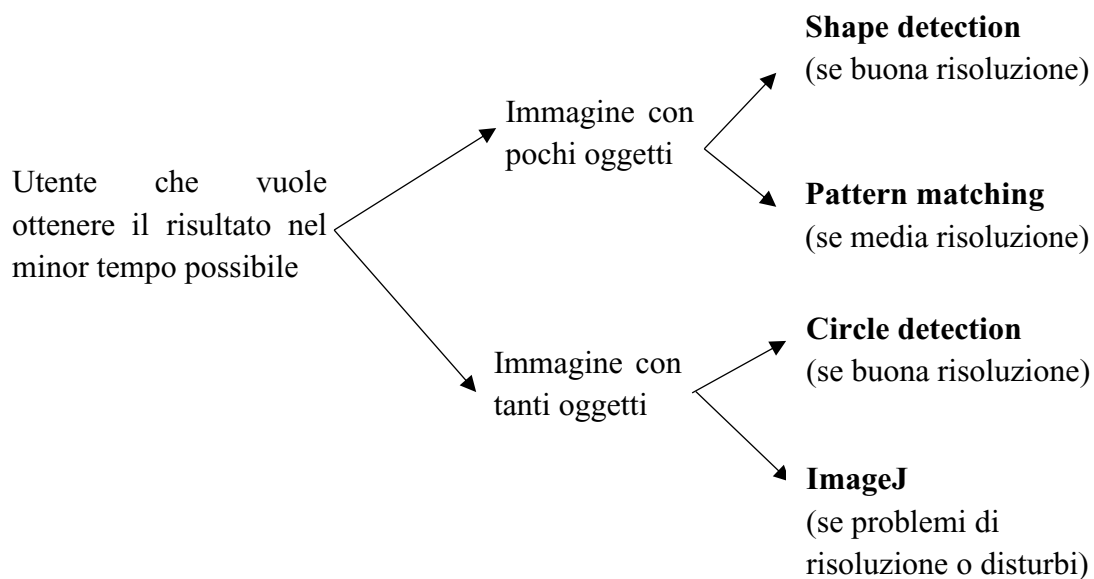
Come già detto precedentemente non è possibile parlare di soluzione univoca: sono stati dimensionati tanti algoritmi, la scelta dipende quindi dal contesto in cui ci si trova.

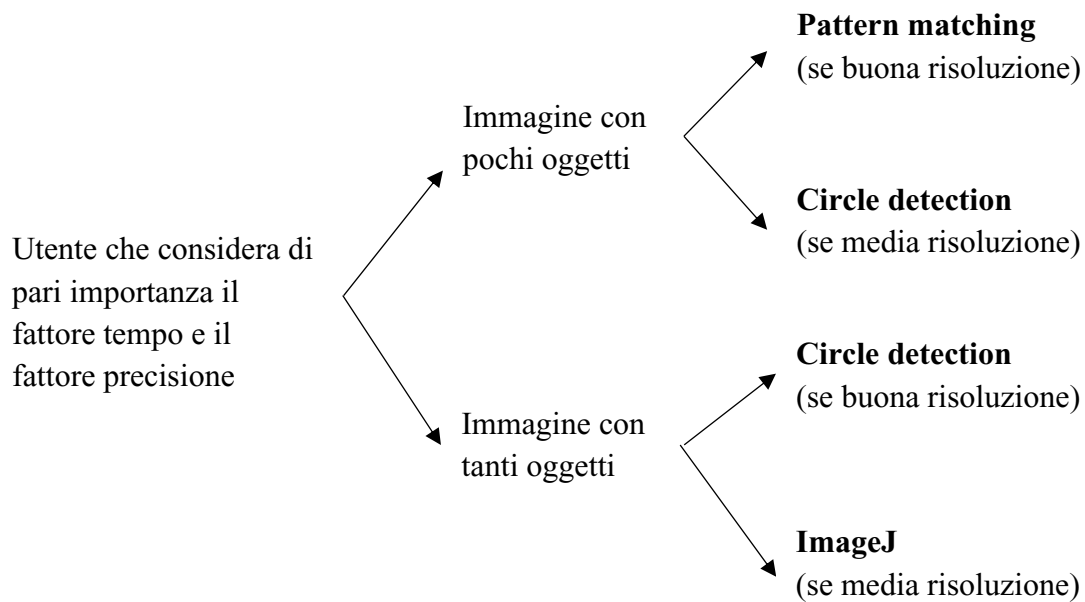
Per operare la giusta scelta bisogna conoscere:

- La necessità dell'operatore, che può essere quella di conoscere una stima del numero nel minor tempo possibile, oppure ottenere un valore mediante un algoritmo che fornisca un'adeguata garanzia di precisione.
- Il tipo di immagine, in funzione del numero di oggetti presenti, della risoluzione e di eventuali disturbi da eliminare.

Si assume per ipotesi un'immagine in cui sono presenti delle colonie batteriche sovrapposte e dei disturbi creati dall'intensità luminosa del bordo del disco.

Di seguito gli schemi relativi all'individuazione dell'algoritmo corretto.





Utente che da maggior peso al fattore precisione → **ImageJ** (miglior scelta indipendentemente dal tipo di immagine)

Esposti tutti i risultati, si nota che Vision offre molte strade, ImageJ ne offre una sola, ma questa è più precisa. L'interazione macchina-utente che richiede l'algoritmo di ImageJ, costituisce però un limite all'obiettivo dell'addetto al conteggio delle colonie. Tale obiettivo infatti consiste nell'automatizzare il conteggio delle colonie batteriche. Il tempo che il funzionario impiega per ogni conteggio utilizzando gli algoritmi di Vision è di gran lunga inferiore a quanto ne richiede ImageJ.

I problemi temporali relativi ad ImageJ riguardano le operazioni preliminari al processamento dell'immagine. Eliminare i disturbi derivanti dal bordo del disco, specie nelle immagini in cui sono ammassate, in prossimità del disco, molte colonie batteriche, risulta difficile da ottenere con le funzioni morfologiche presenti nel software. Questo problema induce l'utente ad eliminare manualmente i disturbi, mediante la funzione di interazione diretta con l'immagine.

In alcune situazioni in cui le immagini non sono eccessivamente complesse il Vision è in grado di depurare l'immagine dai disturbi con una facilità, mediante l'algoritmo di processamento precedentemente illustrato.

Si ipotizza che, nel caso in cui la priorità è contare con precisione le colonie batteriche, per contenere il tempo impiegato dall'algoritmo a fornire l'output, la soluzione è un utilizzo combinato di entrambi i software. In particolare, si utilizza Vision per binarizzare l'immagine e ImageJ per ricavare il numero esatto di colonie a partire da un'immagine già binarizzata e ripulita dai disturbi. Con ImageJ poi si provvede a separare gli agglomerati di particelle, sia in modo automatico (funzione watershed) che manuale (ritocchi).

#### 4.3 ANALISI ECONOMICA DELL'INVESTIMENTO SUL CONTEGGIO AUTOMATIZZATO

I metodi di conteggio delle colonie batteriche mediante software illustrati in questo elaborato permettono, a chi ne usufruisce, un risparmio temporale rispetto al tradizionale conteggio visivo, pur con la consapevolezza che una macchina non è in grado di ragionare come il cervello umano. Di ogni algoritmo sono stati infatti descritti non solo i pregi ma anche i difetti.

L'obiettivo finale che si pone l'elaborato è quello di far fruttare in valore economico questo risparmio temporale generato dal conteggio mediante software. Si provvede quindi ad effettuare un'analisi costi benefici di tipo qualitativo.

I costi da sostenere sono relativi all'acquisto della licenza per l'utilizzo del software e di un adeguato sistema di visione. Un'alternativa è quella di investire in un contatore di colonie automatizzato. La convenienza del conteggio tramite software si presenta nell'eventualità che si rientri nell'investimento.

Gli eventuali benefici relativi all'utilizzo di un contatore di colonie automatizzato si riscontrano nel risparmio del costo di manodopera e nell'incremento della velocità di esecuzione della prova. Ad esempio, un operatore che prima impiegava un'ora per contare tutte le particelle di un disco di Petri, con il software è in grado di processarne un numero maggiore nello stesso lasso di tempo. Ciò comporta una drastica riduzione del costo di manodopera unitario e un incremento della velocità di processamento della prova.

L'investimento può consistere nell'acquisto di una licenza software e un sistema in visione. In tal caso è fondamentale padroneggiare gli algoritmi descritti in questa trattazione al fine di far fruttare al meglio l'acquisto.

Nel mercato sono però presenti dei macchinari chiamati contatori automatizzati di colonie, che integrano, in un unico blocco, lo strumento di visione e un software già programmato, in grado di estrapolare automaticamente informazioni dall'immagine. Un investimento di questo tipo rappresenta un'alternativa più costosa rispetto alla licenza software, ma offre un maggiore beneficio grazie all'alto livello di automazione che si raggiungerebbe con un eventuale acquisto.

## CONCLUSIONE

Questo elaborato è stato sviluppato in relazione all'attività che svolge il laboratorio di prova Univpm Labc19, la quale consiste nell'effettuare prove per la verifica della conformità delle mascherine chirurgiche secondo la norma.

Nel primo capitolo è stato approfondito il contesto normativo emergenziale e una sua ipotetica evoluzione nel momento in cui l'emergenza dovesse cessare. Si è giunti alla conclusione che lo scenario normativo che contraddistingue il contesto emergenziale è una disciplina semplificata delle normative valide in contesti ordinari. Infatti, le normative tecniche a cui il laboratorio risponde per validare la conformità delle mascherine sono le stesse che verrebbero seguite in tempi ordinari. Ciò che cambia è la modalità con cui si verifica l'idoneità del processo di certificazione.

Sempre nello stesso capitolo, è stata illustrata la disciplina inerente alla qualità dei laboratori di prova, con la finalità di percorrere, in sintesi, un'ipotetica strada che il laboratorio, allo stato embrionale, dovrà seguire per perdurare e affermarsi nel tempo.

Il resto della trattazione ha avuto come obiettivo l'ottimizzazione dei processi inerenti alle prove di conformità eseguite sulle mascherine chirurgiche. Nello specifico sono state approfondite le tecniche per la determinazione dell'efficienza di filtrazione batterica, con l'ausilio di algoritmi di image processing. È stata illustrata un'attività di ricerca attraverso la quale sono stati ricavati e confrontati svariati algoritmi mediante i software Vision e ImageJ. Sono state proposte soluzioni migliorative al fine di ottenere un risparmio in termini temporali ed economici. Alla luce di quanto sperimentato, si può affermare che gli algoritmi di image processing sono uno strumento utile e pratico per il conteggio delle colonie batteriche, ma ad esso è necessario affiancare un operatore in grado di indirizzare il software e compiere quelle operazioni che l'intelligenza artificiale non è in grado di svolgere.

Il filo che ha accomunato tutta la trattazione è stato quello di agire secondo la norma, costruire metodi innovativi e fornire al lettore maggiore consapevolezza, al fine di suggerire delle direzioni di sviluppo, relative all'ottimizzazione delle funzionalità del laboratorio e ad eventuali investimenti che ne accrescano le potenzialità.

## BIBLIOGRAFIA

- Gazzetta Ufficiale della Repubblica Italiana
- Gazzetta Ufficiale dell'Unione Europea
- Norma UNI EN 14683:2019
- Norma ISO UNI EN 10993-1:2010
- direttiva 93/42/CEE
- Norma ISO 9000
- Norma ISO 9001
- Norma 17025
- National Instruments, NI Vision Concepts Manual
- ImageJ user guide

## SITOGRAFIA

- <https://www.accredia.it/mascherine/>
- <https://www.certifico.com/normazione/234-documenti-riservati-normazione/10435-uni-en-14683-requisiti-maschere-facciali-uso-medico-marcate-ce>
- <https://labc19.univpm.org/>
- <https://www.iss.it/procedure-per-richiesta-produzione-mascherine>

## RINGRAZIAMENTI

Questo elaborato rappresenta la conclusione del mio percorso di laurea triennale, perciò mi sento in dovere di ringraziare tutte quelle persone che mi hanno fatto sentire a casa in questi tre anni e hanno fatto sì che vedessi l'ambiente universitario come una grande famiglia accogliente.

In particolare, ringrazio il Professore Nicola Paone, che mi ha condotto con estrema professionalità e disponibilità alla stesura di questo elaborato e mi ha trasmesso la passione e l'energia necessaria per condurre questa attività con immenso piacere. Ho avuto l'opportunità di toccare con mano degli aspetti della gestione dell'emergenza da Covid-19, e per uno studente avere un contatto così diretto con la realtà è una grande soddisfazione.

Ringrazio la mia famiglia che mi ha permesso di studiare con serenità, supportandomi quotidianamente.

Ringrazio i miei colleghi di corso con i quali ho condiviso tantissimi bei momenti in questi tre anni, in particolare un grazie a:

- Alessandro Montagnoli, per il suo carattere servizievole e leale, che mi ha sempre fatto sentire accolto e ben voluto;
- Michele Prencipe, per avermi dato la possibilità di condividere fin dai primi mesi del primo anno tanti momenti di studio e svago;
- Giulio Romagnoli, per avermi accolto e aiutato a socializzare quando all'inizio conoscevo solo lui;
- Annalisa Valeriani, la mia vicina di posto a lezione, per aver condiviso con me i suoi appunti per tre anni e avermi regalato tanti momenti di allegria.