



UNIVERSITAT POLITÈCNICA DE CATALUNYA  
BARCELONATECH

Escola Superior d'Agricultura de Barcelona

# **SISTEMA DE VISIÓ ARTIFICIAL APLICAT A L'AVALUACIÓ DE PROVES DE RESISTÈNCIA MICROBIANA**

Treball final de grau  
Enginyeria de Sistemes Biològics

Autora : Isabel Serrano Prados

Tutor : Marcos Quílez Figuerola

23 / Setembre / 2020

## RESUM

Als laboratoris de biociències es realitzen múltiples tasques d'anàlisi, moltes d'aquestes segueixen protocols on la determinació de resultats depèn d'una observació visual, com és l'exemple de la prova per la determinació de la resistència de microorganismes a substàncies inhibidores, també anomenada antibiograma o test Kirby-Bauer. Aquest tipus d'anàlisi pot presentar alguns inconvenients deguts a possibles errors de mesura per errors humans.

La visió artificial és una tècnica emprada per moltes indústries de diferents àrees, ja que permet l'automatització d'una gran varietat de processos i aporta un increment de la seva eficiència. En aquest treball s'explora què pot aportar un sistema de visió artificial en la valoració d'antibiogrames i es desenvolupa un sistema que permet adquirir imatges de tests de Kirby-Bauer i mesurar la grandària dels halos per a avaluar la resistència microbiana. L'eina desenvolupada facilita aquesta mesura i la documentació i registre dels resultats.

Les proves per validar els resultats obtinguts han permès valorar la utilitat de l'eina desenvolupada, identificar les seves limitacions i proposar els camps on es podria aprofundir la investigació per a la realització de millores.

**Paraules clau:** Resistència microbiana, visió artificial, test Kirby-Bauer, automatització, LabVIEW.

## RESUMEN

En los laboratorios de biociencias se realizan múltiples tareas analíticas, muchas de estas siguen protocolos donde la determinación de resultados depende de observaciones visuales, como por ejemplo la prueba para la determinación de la resistencia de microorganismos a sustancias inhibitorias, también llamada antibiograma o test Kirby-Bauer. Este tipo de análisis pueden presentar algunos inconvenientes debidos a posibles errores de medida por errores humanos.

La visión artificial es una técnica utilizada por muchas industrias de diferentes áreas, ya que permite la automatización de una gran variedad de procesos y aporta un incremento de su eficiencia. En el presente trabajo se explora que puede aportar un sistema de visión artificial en la valoración de antibiogramas y se desarrolla un sistema que permite adquirir imágenes del test Kirby-Bauer y medir los halos para evaluar la resistencia microbiana. La herramienta desarrollada facilita esta medida y la documentación y registro de los resultados.

Las pruebas para validar los resultados obtenidos han permitido valorar la utilidad de la herramienta desarrollada, identificar sus limitaciones y proponer los campos donde se podría profundizar la investigación para la realización de mejoras.

**Palabras clave:** Resistencia microbiana, visión artificial, test Kirby-Bauer, automatización, LabVIEW.

## ABSTRACT

In a bio-science laboratory there are a lot of analysis tasks whose results depend on visual observations. This is, for example, the test for determination of the resistance of microorganisms to inhibitory substances, also called Kirby-Bauer's test. Visual observation may introduce uncertainty problems due to possible human error.

Computer vision is a technique used in many industries of different areas, because it allows the automation of many of processes and a higher efficiency. In the present work we explore what a system of computer vision can provide for the evaluation of an antibiogram. We also developed a system to acquire images of a Kirby-Bauer's test and measure the halos for evaluating the microbial resistance. The use of the developed tool makes the measuring and the reporting of the values easier.

The tests to validate our results let us evaluate the utility of the developed tool, identify its limitations and propose some future works.

**Key words:** Microbial resistance, Artificial vision, Kirby-Bauer test, automatization, LabVIEW.

## AGRAÏMENTS

En primer lloc volia agrair al professor Marcos Quílez, per donar-me l'oportunitat, el suport, la formació i també per encoratjar-me a transformar una idea en un projecte com aquest.

També a la meva família, en especial a la meva mare.

A les amistats que la UPC m'ha aportat.

Finalment a Maria. I, per ser la meva força i meitat.

# SUMARI

<b>1.INTRODUCCIÓ</b> .....	10
<b>1.1 MOTIVACIÓ PER A LA REALITZACIÓ DEL PROJECTE</b> .....	10
<b>1.2 MARC TEÒRIC</b> .....	10
1.2.1 Antibiograma, definició i antecedents.....	10
1.2.2 Classificació de les tècniques d'estudi de la sensibilitat antibiòtica .....	11
1.2.3 Mètodes automatitzats .....	14
<b>1.3 SISTEMES DE VISIÓ ARTIFICIAL</b> .....	16
1.3.1 Avantatges .....	16
1.3.2 Aplicacions .....	17
<b>2.OBJECTIUS</b> .....	18
2.1 OBJECTIU GENERAL .....	18
2.2 OBJECTIUS PARCIALS .....	18
<b>3.MATERIALS I MÈTODES</b> .....	18
3.1 MATERIALS.....	18
3.2 METODOLOGIA.....	19
<b>4.DISENY I DESENVOLUPAMENT DEL PROGRAMA</b> .....	19
4.1 ELABORACIÓ DELS REQUISITS FUNCIONALS.....	19
4.2 SELECCIÓ DE L'EINA DE DESENVOLUPAMENT .....	20
4.3 METODOLOGIA DE PROGRAMACIÓ.....	21
<b>5.VALIDACIÓ DE L'EINA DE MESURA</b> .....	21
5.1 PROTOCOL DE MESURA.....	21
5.1.1 Objecte a examinar .....	22
5.2 VERIFICACIÓ DEL FUNCIONAMENT .....	22
5.2.1 Fase 1. Mesura de formes bàsiques contingudes en fitxers d'imatges .....	23
5.2.2 Fase 2. Mesura d'imatges de cultius contingudes en fitxers .....	23
5.2.3 Fase 3. Prova real amb imatges de la càmera .....	24
<b>6.RESULTATS I VALORACIÓ</b> .....	25
6.1 SISTEMA DE MESURA .....	25
6.1.1 Elements materials.....	25
6.1.2 Programa 1. Calibratge.....	26
6.1.3 Programa 2. Adquisició d'imatges i mesura de la mostra.....	28
6.2 RESULTATS DE LES PROVES DE VALIDACIÓ.....	33
<b>7.LIMITACIONS</b> .....	35

<b>7.1 DE LA MAQUINÀRIA .....</b>	<b>36</b>
<b>7.2 LIMITACIONS DEGUDES AL MÈTODE DE LA PROVA .....</b>	<b>36</b>
<b>8.CONCLUSIONS.....</b>	<b>37</b>
<b>9.FUTURES LINIES DE TREBALL.....</b>	<b>38</b>
<b>10.VALORACIÓ PERSONAL .....</b>	<b>38</b>
<b>11.REFERÈNCIES BIBLIOGRÀFIQUES.....</b>	<b>39</b>
<b>12.ANNEXOS .....</b>	<b>40</b>
<b>12.1 CODI DELS PROGRAMES.....</b>	<b>40</b>
<b>12.2 DOCUMENTS COMPLEMENTARIS .....</b>	<b>44</b>

## ÍNDIX DE FIGURES

Figura - 1. Evolució temporal del desenvolupament de les proves de sensibilitat.....	11
Figura - 2. Tècnica disc difusió i mesura manual dels halos d'inhibició..	13
Figura - 3. Antibiograma E-test.....	14
Figura - 4. Maquinària d'espectrometria de massa MALDI-TOFMS i gràfiques de resultats MALDI-TOFMS.....	15
Figura - 5. Diagrama de flux per planificar l'elaboració del programa.....	21
Figura - 6. Placa de petri amb la prova disc-difusió i els elements seleccionats.....	22
Figura - 7. Prova de detecció dels marges de figures bàsiques.....	23
Figura - 8. Prova detecció marges amb una imatge real.....	24
Figura - 9. Plaques impreses emprades en la comprovació del funcionament del programa...	25
Figura - 10. Càmera i dispositiu complet del programari per la realització de mesures.....	26
Figura - 11. Interfície d'usuari del programa 1.....	26
Figura - 12. Exemple d'imatge patró per l'obtenció de la ràtio de conversió.....	27
Figura - 13. Mesura de la imatge patró i obtenció de la ràtio de conversió en píxel/cm. ....	27
Figura - 14. Interfície d'usuari del programa 2.....	28
Figura - 15. Exemple d'utilització de la rotació en la selecció de la ROI per una millor detecció de l'halo.....	29
Figura - 16. Eines de manipulació de la imatge del programa 2. ....	29
Figura - 17. Imatge resultat de la gravació amb la mesura inclosa. ....	30
Figura - 18. Carpeta amb les imatges i mesures. ....	30
Figura - 19. Mostres que presenten de doble zona d'inhibició.....	31
Figura - 20. Halo amb la vora difusa i anell verd indicatiu d'on s'ha de fer la mesura..	32
Figura - 21. Esquema d'actuació en cas de presència de colònies a la zona inhibidora. ....	32
Figura - 22. Mostra amb colònies internes i anell verd indicatiu d'on s'ha de fer la mesura... ..	33
Figura - 23. Placa fictícia emprada en les proves de validació .....	33
Figura - 24. Placa d'estudi 1 emprada en les proves de validació.....	34
Figura - 25. Placa d'estudi 2 emprada en les proves de validació.....	34
Figura - 26. Codi del programa 1. ....	40
Figura - 27. Bucle inicial del programa 1. ....	40
Figura - 28. Bucle per la importació d'imatges.....	41
Figura - 29. Bucle de mesura del programa 1. ....	41
Figura - 30. Bucle principal del programa 2. ....	42
Figura - 31. Bucle de mesura del programa 2. ....	43
Figura - 32. Bucle per la gravació d'imatges.....	43
Figura - 33. Bucle per la gravació de dades.....	44

## ÍNDIX DE TAULES

Taula - 1. Comparació de mesures, error absolut i diferència relativa de la placa fictícia. ....	34
Taula - 2. Comparació de mesures, error absolut i diferència relativa de la placa d'estudi 1. ...	35
Taula - 3. Comparació de mesures, error absolut i diferència relativa de la placa d'estudi 2. ...	35



## SIGLES I ACRÒNIMS

NCCLS: National Committee for Clinical Laboratory Standard.

CLSI: Clinical and Laboratory Standards Institute.

CMI: Concentració Inhibitòria Mínima.

CBM: Concentració Bactericida Mínima.

PCR: Reacció en Cadena de la Polimerasa.

MALDI-TOF MS: Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Timeof-Flight Mass Spectrometry.

AIA: Automated Imaging Association.

QR: Quick Response.

# 1.INTRODUCCIÓ

## 1.1 MOTIVACIÓ PER A LA REALITZACIÓ DEL PROJECTE

La motivació inicial que va portar al plantejament d'aquest projecte com a treball de fi de grau va ser la voluntat d'aplicar la idea d'enginy, és a dir, l'habilitat de trobar els mitjans per resoldre un problema, ja que com a persones enginyeres el que ens distingeix és el que podem aportar.

Els coneixements sobre noves tecnologies adquirits durant els estudis de grau van permetre fer la proposta de tractar de resoldre problemes mitjançant l'automatització de processos i poder així també facilitar aquests.

D'aquesta idea inicial va sorgir la necessitat d'aplicar tecnologies per l'automatització en l'àmbit agroalimentari, i en específic en les tasques de laboratori, ja que en l'actualitat és una àrea que es troba en desenvolupament. En especial, s'ha escollit el camp de la visió artificial perquè es considera un àrea amb molt potencial i es troba interessant que estigui basat en la vista, ja que és el principal sentit utilitzat per a la presa de decisions i és fàcil pensar les interpretacions que volem que faci la maquinària si aquesta utilitza la visió com ho faria la persona a càrrec de les tasques d'anàlisi.

## 1.2 MARC TEÒRIC

### 1.2.1 Antibiograma, definició i antecedents

L'antibiograma és una metodologia emprada per a la mesura de la sensibilitat de microorganismes a substàncies antimicrobianes. Aquesta metodologia realitza mesures de sensibilitat *in vitro*, a partir d'aquests resultats prediu l'eficàcia d'aquestes substàncies com a antimicrobianes *in vivo* [1].

L'estudi de la sensibilitat bacteriana als antibiòtics és una de les tècniques més importants entre les diferents tasques que es realitzen als laboratoris de microbiologia. Presenta beneficis com ara:

- Desenvolupament de polítiques d'ús d'antimicrobians.
- Generació d'una base de dades comuna per poder comparar estudis i seleccionar quins antibiòtics utilitzar en cada cas.
- Determinació de tractaments una vegada conegudes les característiques de l'organisme.
- Control de l'aparició de nous mecanismes de resistència.

En la determinació de la sensibilitat són importants tant les tècniques emprades i les mesures dels resultats, com la seva interpretació.

Les primeres proves de sensibilitat es van realitzar de forma paral·lela al descobriment dels antimicrobians. Tot i això, les proves basades en difusió, tal com les coneixem en l'actualitat, no es van definir fins a la dècada de 1940 i el seu ús no es va generalitzar fins als anys seixanta [2].

Durant els anys 1980 els laboratoris van començar a relacionar els resultats obtinguts amb els mecanismes de resistència propis dels microorganismes d'estudi per a la seva identificació. Aquest procés es va anomenar Lectura Interpretada de l'Antibiograma (LIA).

Paral·lelament a l'avenç de tecnologies com la robòtica i la informàtica es van començar a desenvolupar mètodes automatitzats per a l'estudi de la sensibilitat microbiana. A la Figura - 1 es mostra un esquema de l'evolució de les proves de sensibilitat i les diferents etapes al llarg del temps.

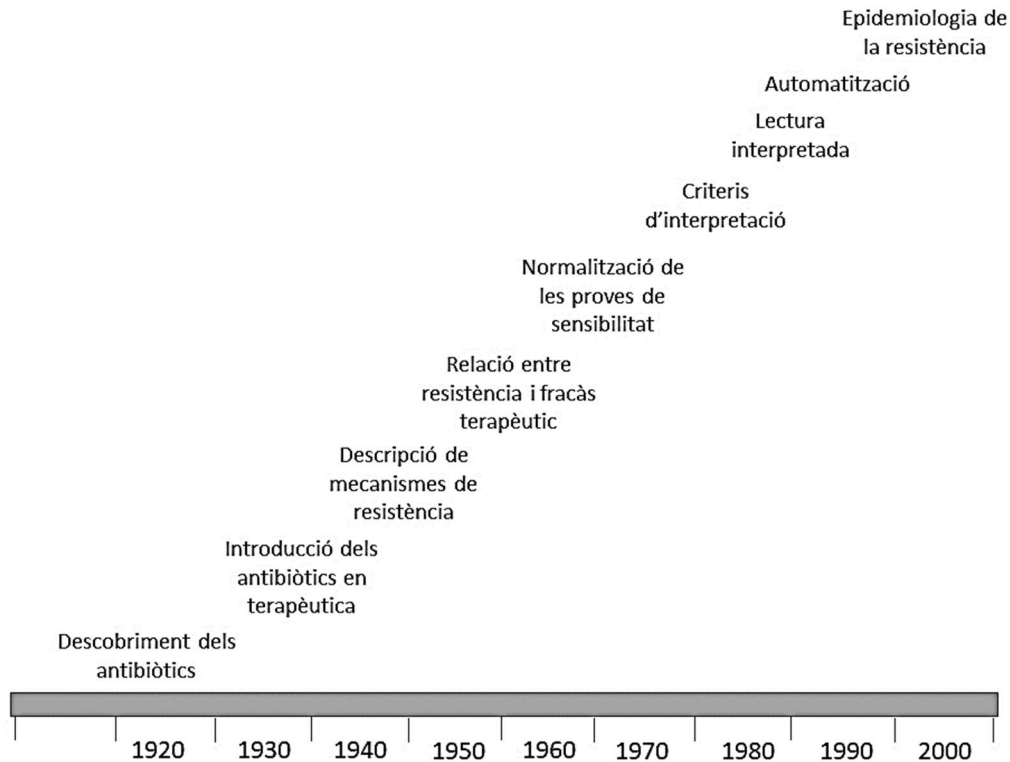


Figura - 1. Evolució temporal del desenvolupament de les proves de sensibilitat. Font Adaptat de: [2].

### 1.2.2 Classificació de les tècniques d'estudi de la sensibilitat antibiòtica

Els mètodes utilitzats per els laboratoris d'investigació i les empreses del sector es troben estandarditzats pel NCCLS per tal que els resultats siguin reproduïbles i comparables.

L'estudi de la sensibilitat es realitza mitjançant tres tipus de mètodes [3].

#### 1. Mètodes fenotípics

Subdividits en dos grans grups:

- Mètodes quantitius.

S'associen a les tècniques de dilució i són aquells procediments que permeten determinar la concentració inhibidora mínima (CMI) i la concentració bactericida mínima (CBM) que normalment es representen en  $\mu\text{g/ml}$  o en  $\text{mg/L}$ .

- Mètodes qualitius.

Són aquells procediments que s'associen a les tècniques de difusió i permeten la classificació directa d'un microorganisme com a sensible o resistent.

2. Mètodes bioquímics

Consisteixen en la determinació del mecanisme que fa resistent un bacteri a una substància antimicrobiana. Els més emprats són la detecció de beta-lactamasa i la detecció de la PBP2a.

3. Mètodes genètics

Es basen en la detecció de gens de resistència mitjançant tècniques de PCR.

La interpretació dels resultats de l'antibiograma es realitza en funció dels valors establerts per diferents comitès internacionals.

- *Clinical and Laboratory Standards Institute* dels Estats Units.
- *European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing* d'Europa.
- Mesa Española de Normalización de la Sensibilidad y Resistencia a los Antimicrobianos.

Les institucions indicades anteriorment emeten informes on es determinen i estableixen els valors dels punts de tall basats en propietats morfològiques, farmacocinètiques i d'eficàcia clínica per definir la sensibilitat o resistència de les diferents espècies bacterianes a cada substància antimicrobiana.

La majoria dels paràmetres per a la realització d'aquestes proves es troben estandarditzats per tal de conèixer si la metodologia seguida per la pràctica d'aquestes tècniques ha estat la correcta. Els paràmetres són els següents:

-Tipus de bacteris a estudiar: microorganismes no exigents, de creixement ràpid i capaços de créixer en aerobiosi.

-Medis de cultiu: agar o brou de Mueller Hinton, també anomenat MH. S'han de controlar paràmetres com el pH, la humitat, l'efecte de la timina o timidina i la quantitat de cations.

-Temps d'incubació: depenen de l'organisme emprat.

-Temperatura d'incubació: pot alterar la velocitat de creixement bacterià i la viabilitat.

-L'estat dels antibiòtics: concentració i caducitat.

A continuació es mostren detalladament algunes de les tècniques d'estudi de la sensibilitat de microorganismes.

- **Tècniques de Difusió**

Utilitzen discos impregnats de la solució estandarditzada d'antibiòtic i es disposen en la superfície d'un medi sòlid inoculat amb la població microbiana a estudiar. Finalment, després d'un període d'incubació, el diàmetre de l'halo format indica la relació amb el grau de sensibilitat de l'organisme.

Les tècniques de difusió es divideixen en:

- **Difusió en disc**

Es tracta d'un mètode qualitatiu, caracteritzat per la seva facilitat, indicat per a microorganismes no exigents i de creixement ràpid. L'antibiograma per disc difusió està basat en el treball realitzat

per Bauer, Kirby i col·laboradors i és un dels mètodes que l'NCCLS recomana per la determinació de la sensibilitat bacteriana a antibiòtics.

El fonament d'aquest mètode consisteix en dipositar discs de paper de filtre amb una concentració determinada d'antibiòtic a la superfície d'una placa prèviament inoculada amb un cultiu pur del microorganisme. Quan el disc entra en contacte amb el cultiu, l'antibiòtic es difon i es produeix un gradient de concentració. Finalment passades entre 18 i 24 hores d'incubació, els discos poden aparèixer envoltats, o no, d'una zona on no hi ha crescut el cultiu, anomenada halo d'inhibició de creixement bacterià.

La lectura de resultats es realitza mitjançant la mesura del diàmetre dels halos d'inhibició obtinguts. Un exemple de la realització de la tècnica i de la mesura es presenta a la Figura - 2, els resultats es comparen amb les taules proporcionades per la NCCLS, on segons el diàmetre de l'halo d'inhibició es defineixen les categories de resistència, sensibilitat i sensibilitat intermèdia.

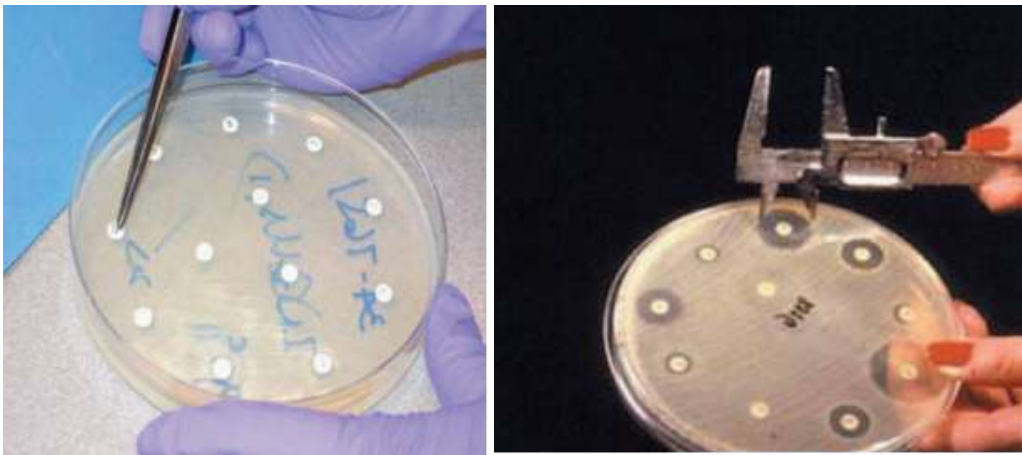


Figura - 2. Tècnica disc difusió i mesura manual dels halos d'inhibició. Font: [4].

Aquest mètode presenta els avantatges de ser un mètode senzill, estandaritzat, fàcil de controlar i de necessitar poca inversió. Fins i tot, es poden realitzar algunes modificacions al medi de cultiu respecte als requeriments nutricionals per poder realitzar la prova amb microorganismes exigents o molt exigents.

#### - Gradient antibiòtic (E-test)

Es tracta d'un mètode quantitatiu considerat una extensió de la tècnica de difusió en disc, en aquest mètode la sensibilitat es pot determinar mitjançant la lectura directa de la CMI.

El fonament d'aquest mètode consisteix en dipositar una tira de plàstic no porós de mesures determinades que incorpora un gradient predefinit de substància antimicrobiana sobre el cultiu, preparat seguint el mateix protocol que el mètode de disc difusió. Una vegada finalitzades les hores d'incubació requerides, que oscil·len entre 16 i 20 hores, es pot observar una zona d'inhibició del creixement bacterià el·lipsoidal i simètrica.

La lectura de resultats es realitza amb l'observació del valor on l'el·lipse talli la tira d'antibiòtics emprada. Aquest serà el valor de la CIM, un exemple de lectura d'aquest tipus de test es mostra a la Figura - 3.



Figura - 3. Antibiograma E-test. Font: [3].

Es considera un mètode alternatiu per l'estudi quantitatiu de la sensibilitat microbiana, tot i que s'han de tenir en compte precaucions com utilitzar només una tira d'antibiòtic per placa, o col·locar la tira per la cara corresponent i no moure-la una vegada posicionada a la placa perquè comença a difondre molt ràpidament. És una tècnica senzilla i que té una bona correlació amb la tècnica estàndard de dilució en agar per l'estudi de la CIM.

- **Tècniques de Dilució**

Consisteixen en la determinació de la CIM mitjançant dilucions que poden ser en medi líquid, anomenades dilucions en brou, o medi sòlid, anomenades dilucions en agar.

Aquest mètode es basa en exposar les poblacions de microorganismes a estudiar a determinades concentracions de substàncies antimicrobianes i observar el creixement dels microorganismes per posteriorment definir la CIM.

Es realitzen assaigs successius on a cadascun la població s'exposa a una concentració que és la meitat de la concentració emprada anteriorment, d'aquesta manera es pot conèixer en quina dilució la substància esdevé inhibidora per a l'organisme. La prova es realitza en tubs on es barregen l'inòcul, el medi de cultiu i l'antibiòtic, els tubs es deixen incubar durant 16 a 20 hores.

La lectura de resultats correspon a la mínima concentració d'antibiòtic on no s'observa desenvolupament del cultiu, que s'identifica com la terbolesa de la mostra. Aquesta concentració correspondrà a la CIM, que s'expressa en micrograms per mil·lilitre. El resultat obtingut es compara amb les taules de la NCCLS que especifiquen els valors i es defineix si les poblacions són sensibles, intermèdies o resistents.

La dilució en medi líquid normalment es realitza en microdilució, en panells amb una gran quantitat de pous on introduir el medi amb la substància. Aquests sistemes són els que s'han adoptat de manera majoritària pels sistemes automatitzats comercials per la determinació de la sensibilitat.

### 1.2.3 Mètodes automatitzats

El principal objectiu de l'automatització d'aquestes tècniques era el desenvolupament de sistemes amb un alt nivell d'automatització i la rapidesa en la generació de resultats

d'antibiograma, com seria per exemple l'obtenció de resultats el mateix dia d'incubació dels panells.

En l'actualitat gràcies a les noves tecnologies i a l'adquisició de coneixements en microprocessadors i robòtica, juntament amb les modificacions de les metodologies emprades per la realització de les tècniques, s'ha fet un gran avanç i aquest ha permès dissenyar sistemes automatitzats que ofereixen resultats de sensibilitat en menys de 4 hores.

Els sistemes automatitzats per la realització d'aquestes proves, en l'actualitat són els següents:

- VITEK (bioMérieux Espanya).
- VITEK 2 System (bioMérieux-Vitek, Hazelwood, EE.UU.).
- WalkAway System (Dade Behring Inc., EE.UU.).
- Phoenix Automated Microbiology System (BD Biosciences EE.UU.).

D'altra banda, també s'utilitza l'espectrometria de massa com a test ràpid de detecció de resistència. Consisteix en un mètode fenotípic universal que permet una detecció ràpida i fàcil. Es basa en una desorció/ionització làser assistida per matriu on també s'aplica un detector d'ions, *matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS)* [5].

A la Figura - 4 es pot observar el conjunt de la maquinària i la presentació de resultats del mètode esmentat. Ofereix com a resultat una ràpida diferenciació de la mostra en resistent o susceptible independentment de l'espècie, la substància antimicrobiana emprada o el mecanisme de resistència.

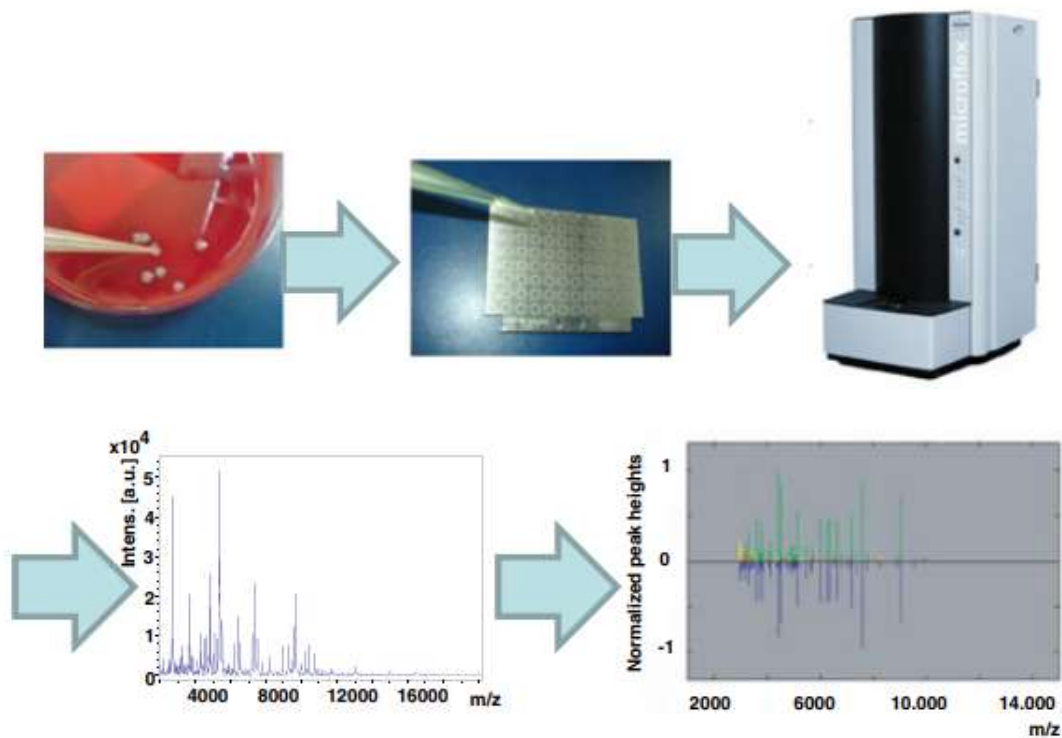


Figura - 4. Maquinària d'espectrometria de massa MALDI-TOFMS i gràfiques de resultats MALDI-TOFMS. Font: [5].

Una de les àrees que es troba en actual expansió és la utilització de sistemes de vídeo o escàner que realitzen anàlisis digitals de plaques o panells de microdilució. Consisteixen en programes

informàtics addicionals on les imatges es tradueixen a valors de diàmetres d'halos d'inhibició o valors de CIM.

Alguns d'aquests sistemes digitals de lectura automatitzada són:

- WIDER (Soria Melguizo SA, Madrid).
- BIOMIC VIDEO (Giles Scientifics, Inc, Nova York, EE.UU.) (Berke I, JCM).
- AccuZone system (AccuMed International, Inc., West Lake, EE.UU.).
- Aura Image (Oxoid, Regne Unit).
- Mastascan Elit (Mast, Regne Unit).
- SIRSCAN (SIRSCAN, Montpellier, França).
- OSIRIS (Bio-Rad, Marnes la Coquette, França).

Actualment les tècniques automatitzades permeten obtenir resultats de susceptibilitat de forma ràpida i eficient, presentant un elevat percentatge de fiabilitat, però també tenen algunes limitacions.

En primer lloc, la maquinària i els dispositius necessaris requereixen un elevat cost inicial que potser no és accessible a tots els laboratoris. Sovint, les lectures d'halos realitzades amb aquests sistemes, difereixen de manera significativa dels obtinguts mitjançant una persona observadora tot i que aquestes diferències no sempre signifiquen canvis en la classificació del microorganisme. D'altra banda, aquests sistemes també tenen amb freqüència dificultats per l'anàlisi de microorganismes amb creixement tènue, o per diferenciar zones de creixement marginal situades a la perifèria dels halos d'inhibició [6].

### 1.3 SISTEMES DE VISIÓ ARTIFICIAL

Generalment es parla de la visió artificial com a *Machine Vision* i es defineix com la ciència i tecnologia que permet a les "màquines" veure, extreure informació de les imatges digitals, resoldre tasques o interpretar una escena [7].

Segons la *Automated Imaging Association (AIA)* la visió artificial engloba totes aquelles aplicacions, siguin industrials o no, on una combinació de hardware i software s'encarrega de guiar als dispositius en l'execució de les seves funcions relacionades amb la captació i el processament d'imatges [8].

Els sistemes de visió artificial contenen sensors digitals protegits en l'interior de càmeres industrials amb òptiques especialitzades per l'adquisició d'imatges, de manera que el hardware i el software informàtic poden processar, analitzar i mesurar diverses característiques a l'hora de prendre decisions.

#### 1.3.1 Avantatges

És un fet conegut que la visió humana és millor per a la interpretació qualitativa d'una escena, mentre que la visió artificial destaca en la mesura quantitativa d'una escena, per la seva velocitat, precisió i reproductibilitat [8].



La visió artificial aporta beneficis operatius i de seguretat addicionals, en reduir la participació humana en el procés. A més evita la contaminació humana de zones estèrils i protegeix al personal davant d'entorns perillosos.

### 1.3.2 Aplicacions

El camp d'aplicacions de la visió artificial s'ha estès per moltes àrees i en l'actualitat continua en constant creixement. Les diferents tècniques i mètodes a utilitzar varien depenent de la naturalesa del problema a tractar, es poden utilitzar tècniques de color, detecció de formes, mesures automatitzades així com la determinació de textures entre d'altres [9][10].

Algunes d'aquestes aplicacions es detallen a continuació:

- Inspecció i control de qualitat: Els processos industrials apliquen tècniques de visió artificial per a verificar que els productes compleixin els criteris de qualitat prèviament establerts, evitant així els defectes de producció. Aquesta tecnologia permet actuar descartant el producte en el cas que sigui deficient, generant així un control més eficient de la producció.
- Agricultura: Es poden implementar tècniques de visió artificial per minimitzar l'aplicació de químics i fer un seguiment dels cultius per incrementar la producció, per exemple amb la detecció de males herbes i plagues, o amb la determinació del grau de maduració de la fruita.
- Meteorologia: En aquest camp s'utilitza aquesta tecnologia per al monitoratge i la predicció de fenòmens meteorològics i de les condicions ambientals del planeta. Funciona mitjançant l'anàlisi d'imatges adquirides per via satèl·lit.
- Microscòpia: La visió artificial s'utilitza principalment per a l'observació cel·lular i de microorganismes per la identificació, l'anàlisi i el recompte.
- Teledetecció: Mitjançant la utilització conjunta de tècniques de visió artificial i d'imatges aèries o de satèl·lits es poden detectar canvis en una zona de terreny en diferents lapsos de temps, com per exemple detecció de zones erosionades, desforestades, afectades per incendis, inundacions, i la presència d'edificacions o infraestructures com carreteres i ponts.
- Medicina: És possible treballar amb les imatges provinents de diferents proves com ecografies, radiografies, ressonàncies, etc. per a l'anàlisi i la realització de diagnòstics de determinades patologies.
- Recompte de persones en edificis intel·ligents: Aquesta tecnologia permet una millora de les condicions mediambientals i de seguretat a recintes amb un elevat nombre d'ocupants, es basa en un algoritme pel recompte de persones que s'executa mitjançant càmeres i visió artificial. A més un conjunt de sensors que regula les condicions ambientals per tal de generar un estalvi energètic.
- Control intel·ligent del tràfic de vehicles i estacionament: Tecnologia emprada per implementar un sistema d'informació que localitzi els aparcaments disponibles en temps real i els difongui entre els conductors.
- Modelatge i visualització en 3D: Es pot extreure l'estructura geomètrica d'imatges per reconstruir i crear automàticament models 3D i sistemes de visualització interactiva.

- Reconeixement i classificació: Mitjançant aquesta tecnologia es poden reconèixer objectes immersos en les imatges i la seva posterior classificació, com per exemple el reconeixement de rostres i la classificació per edats o la identificació de plaques de vehicles o la detecció de cossos estranys en cadenes d'envasat d'aliments.

## 2.OBJECTIUS

### 2.1 OBJECTIU GENERAL

Aquest projecte té com a objectiu el disseny i l'elaboració d'un sistema de visió artificial que permeti mesurar el diàmetre dels halos presents al test de Kirby-Bauer [11] per a l'estudi de la sensibilitat de microorganismes.

### 2.2 OBJECTIUS PARCIALS

Per assolir l'objectiu general esmentat, es defineixen els següents objectius parcials:

- Desenvolupar un sistema d'adquisició de les imatges a analitzar basat en una càmera web convencional.
- Dissenyar una interfície d'usuari intuïtiva i fàcil d'utilitzar, que no requereixi de coneixements de programació per part de l'usuari.
- Provar el sistema dissenyat mesurant distàncies en imatges dels resultats de tests de Kirby-Bauer.
- Incloure eines que permetin la documentació dels resultats de mesura en suport digital amb la finalitat de reduir errors en les anotacions del personal del laboratori.

## 3.MATERIALS I MÈTODES

En aquest apartat es descriuen els materials emprats en la realització del treball i també la metodologia seguida per al seu desenvolupament.

### 3.1 MATERIALS

La realització d'aquest treball implica el desenvolupament d'un sistema de visió artificial que consta d'un algoritme de captura i tractament d'imatge, un ordinador per executar l'algoritme i una càmera per adquirir les imatges. Els materials necessaris són de dos tipus. Per una banda els elements hardware (maquinari) del sistema i per una altra les eines software (programari) utilitzades per desenvolupar el nostre programa de visió artificial:

- **Hardware**  
Ordinador portàtil.  
Càmera web amb connexió USB, marca Logitech, model C120.  
Trípode fotogràfic per ubicar la càmera en una posició fixa i estable.
- **Software**  
Entorn gràfic de programació LabVIEW, versió 2019.

Mòdul de visió artificial NI Vision Acquisition de Labview amb els divers NI-IMAQ i NI-IMAQdx.

Drivers necessaris per a la instal·lació de la càmera web.

### **3.2 METODOLOGIA**

Per la realització d'aquest projecte la metodologia seguida ha estat la pròpia d'un procés de disseny, que de forma general consta de les següents fases:

1. Anàlisi del problema a resoldre i elaboració de les especificacions de disseny.
2. Cerca d'informació i elecció de tècniques, mètodes i materials.
3. Disseny i implementació d'un prototipus.
4. Verificació del funcionament i comprovació que s'han satisfet les especificacions de disseny.
5. Iterar els passos 3 i 4 fins que el prototipus obtingut resulta satisfactori.

En aquest treball, les fases 3 i 4 són les que semblaven més llargues i complexes. Per aquest motiu, un cop acabada la fase 1, les fases 3 i 4 es van dividir en subtasques més petites. Pel que fa al disseny i implementació, es va decidir desenvolupar dues eines: Una per realitzar les mesures i una altra, d'ús menys freqüent, pel calibratge del sistema de mesura.

Així mateix, el programa de mesura es va desenvolupar en diverses etapes de complexitat creixent. En primer lloc es va plantejar el tractament de dibuixos de figures geomètriques. A continuació es tractarien fotografies de tests reals, on les formes a mesurar ja no serien figures "idealitzades". Per últim s'utilitzaria una càmera per adquirir les imatges a analitzar. Aquest cas afegeix la dificultat d'adquirir nosaltres mateixos les imatges i condicionar-les per a poder realitzar l'anàlisi. És a dir, cadascuna d'aquestes etapes és una ampliació del prototipus obtingut a l'etapa anterior fins arribar al disseny del prototipus final.

Aquesta subdivisió del procés de disseny i implementació facilita la fase 4, de verificació, ja que de forma natural porta a la comprovació del correcte funcionament de cada etapa del disseny abans d'afrontar la següent.

Els detalls corresponents a les diferents fases es presenten al llarg d'aquesta memòria.

## **4. DISSENY I DESENVOLUPAMENT DEL PROGRAMA**

### **4.1 ELABORACIÓ DELS REQUISITS FUNCIONALS**

Per desenvolupar una aplicació informàtica que resulti útil i amigable, és fonamental definir la seva funcionalitat i quina serà la interacció amb l'usuari per manipular-la i rebre la informació. En aquest cas, s'han considerat les necessitats del personal de laboratori que treballa en l'avaluació d'halos d'inhibició, ja que és a qui està dirigida aquesta eina. S'ha posat especial atenció a la interfície d'usuari, de forma que el flux de treball sigui el més còmode possible i es puguin accedir fàcilment a totes les funcionalitats que ofereixi l'eina desenvolupada.

Els estudis de grau i l'experiència pròpia en diferents pràctiques realitzades en laboratori han permès el coneixement, de manera generalitzada, de les necessitats del personal d'un laboratori de l'àmbit de les biociències.

El requisit principal del disseny és, que aquest programa sigui una eina de mesura i documentació que complementi el que s'anomena "quadern de laboratori". El quadern de laboratori és un registre on es recullen les mesures dels experiments, generalment de manera manual, amb les observacions i informació rellevants per tal de poder fer una anàlisi posterior de les dades que permeti obtenir resultats i conclusions dels estudis. Com a eina de mesura, hauria de poder substituir el regle per mesurar el diàmetre dels halos i enregistrar de forma automatitzada els resultats obtinguts i els comentaris necessaris.

Concretament, el programa hauria de poder permetre les següents accions:

- Adquirir fotografies de les mostres a través d'una càmera web i guardar-les a l'ordinador.
- Seleccionar manualment la regió de mesura on hi ha l'halo que es vol mesurar.
- Determinar automàticament el diàmetre de l'halo.
- Mostrar a la pantalla el resultat de la mesura (diàmetre de l'halo).
- Generar un fitxer de text on s'hi guardi:
  - La data de la mesura (automàticament, sense que l'usuari hagi d'escriure-la).
  - El resultat de la mesura del diàmetre de l'halo.
  - Observacions sobre les mostres estudiades o qualsevol comentari que l'usuari vulgui fer constar.
- Permetre guardar una imatge de la mostra on s'hi superposin les dades de la mesura.
- Facilitar l'associació o la relació entre les fotografies guardades i el fitxer de text amb les mesures i comentaris enregistrats.

#### 4.2 SELECCIÓ DE L'EINA DE DESENVOLUPAMENT

Les dues opcions principals per la realització d'aquest projecte van ser els programaris Matlab i LabVIEW, ja que ambdós han estat objecte de pràctiques durant els estudis de grau. Consultant els seus manuals i a partir d'algunes proves preliminars s'ha comprovat que ambdós entorns de programació són eines útils per resoldre el problema plantejat en aquest projecte.

Matlab permet construir un programa per adquirir una imatge en temps real, processar-la, prendre una mesura i generar un fitxer on quedin guardades totes les dades. Cal remarcar que són necessaris tant coneixement de programació general, com coneixement específic de les funcions de processament d'imatges per tal d'escriure el programa d'adquisició i mesura d'imatges. Això provoca que la seva utilització sigui més complexa.

Per contraposició, la programació en LabVIEW es realitza de manera gràfica, connectant blocs com si es dibuixés un diagrama de processos. No és necessari escriure un codi de text, fet que facilita la programació sense que l'usuari hagi de tenir un alt nivell de coneixements sobre llenguatges de programació. A més, LabVIEW també permet realitzar amb facilitat la interfície d'usuari, cosa que el fa més comprensible i accessible de cara a la seva aplicació en laboratoris de biociències, on el personal no sempre té coneixements sobre llenguatges de programació.

Per les raons exposades, el programari seleccionat per desenvolupar aquest treball final de grau va ser LabVIEW, del fabricant National Instruments.

### 4.3 METODOLOGIA DE PROGRAMACIÓ

La programació en LabVIEW es basa en un entorn gràfic on es defineix el flux d'informació o de dades entre diferents blocs funcionals. Per aconseguir una programació eficient és primordial dividir el funcionament del programa en tasques bàsiques o etapes. Un cop definies aquestes etapes s'ha procedit a elaborar el codi de cadascun dels blocs.

La planificació de les tasques bàsiques del programa, que es una activitat previa al desenvolupament del codi, s'exposa a la Figura - 5.

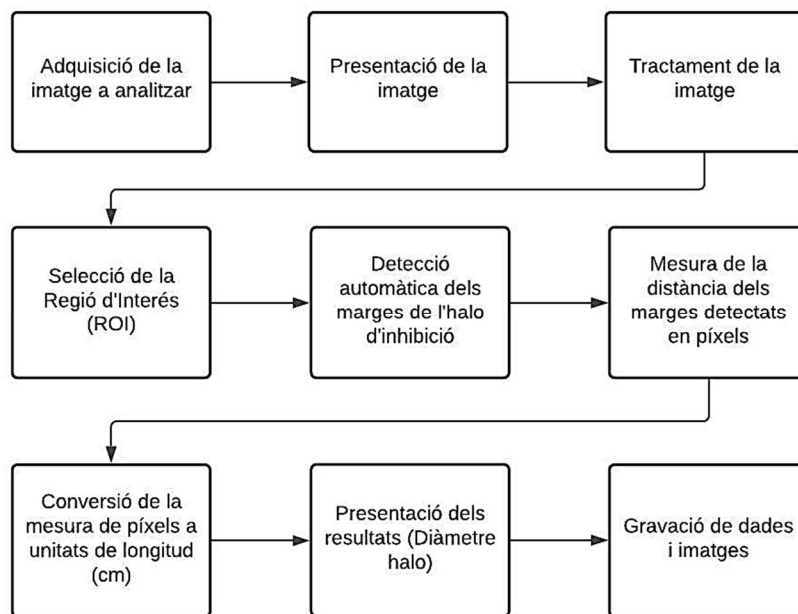


Figura - 5. Diagrama de flux per planificar l'elaboració del programa.

## 5. VALIDACIÓ DE L'EINA DE MESURA

### 5.1 PROTOCOL DE MESURA

En aquest apartat es mostren els diferents procediments a realitzar amb el programari desenvolupat per tal de dur a terme, de manera correcta, la mesura dels halos d'inhibició al test de resistència microbiana. A més també es detallen les característiques d'interès de l'objecte a analitzar.

L'eina generada en aquest estudi per la realització de les mesures del test, està dividida en dos programes. El primer d'aquests programes permet a l'usuari realitzar un calibratge, mitjançant una imatge patró, per obtenir una ràtio de conversió que es troba expressada en píxel/centímetre i que permetrà l'obtenció de resultats en unitats mètriques com són centímetres o mil·límetres. El procediment de calibratge és necessari únicament en el moment

inicial en què s'instal·la la càmera en la posició de mesura. Si al realitzar les mesures la distància i posició entre la càmera i la zona de mesura no varia, no és necessari tornar a calibrar el sistema.

El segon programa realitza la selecció i mesura dels halos de la mostra, i utilitza la ràtio de conversió determinada anteriorment per convertir el diàmetre mesurat en píxels a unitats de longitud (centímetres o mil·límetres). També realitzarà la gravació de les imatges capturades i les mesures realitzades en documents per al posterior anàlisi o per a estudis més específics.

Els detalls del funcionament dels programes s'expliquen més endavant.

### 5.1.1 Objecte a examinar

A continuació, la Figura - 6 mostra els diferents elements que conté l'objecte a examinar, que en aquest cas consisteix en una placa de petri amb un cultiu microbià.

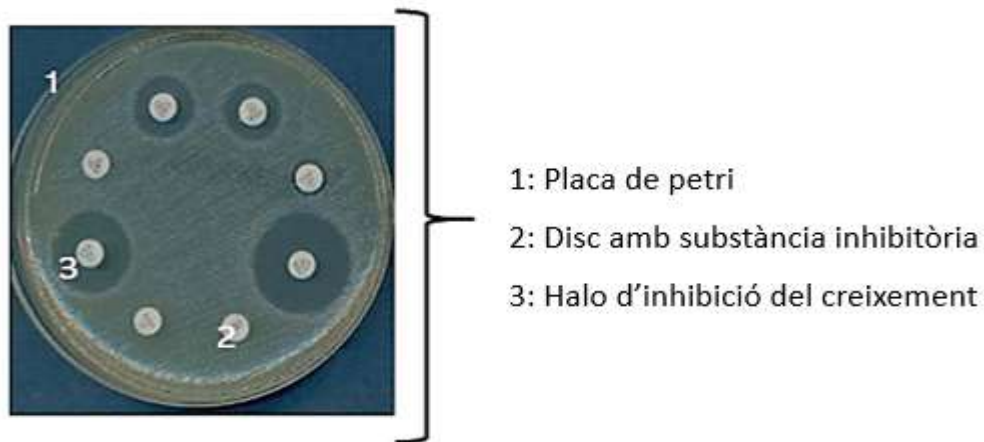


Figura - 6. Placa de petri amb la prova disc-difusió i els elements seleccionats. Font: Adaptat de : [3].

Tenim per una banda la placa de petri, que és el recipient que conté la mostra i on es realitza la prova amb els microorganismes, després es troben els discos contenidors de la substància inhibidora que s'estigui estudiant, finalment al voltant d'alguns d'aquests discos, es troben presents els halos d'inhibició resultants de la prova.

És necessari destacar que, la disposició dels elements d'aquest objecte pot variar segons el material emprat i les característiques de la prova, però de manera general els elements d'aquesta seran sempre els especificats anteriorment.

## 5.2 VERIFICACIÓ DEL FUNCIONAMENT

Un cop es disposa del programa, cal verificar el seu correcte funcionament, si satisfà els requisits de disseny i comprovar si compleix la seva funció principal: proporcionar una mesura correcta del diàmetre dels halos.

La verificació del funcionament no només ha de determinar si el funcionament és correcte. També ha de permetre, en cas de fallida, determinar la causa del mal funcionament i localitzar la part que no funciona correctament. Per garantir això, la verificació del funcionament s'ha realitzat en tres fases de dificultat creixent. En la primera fase es van mesurar dibuixos de figures geomètriques obtingudes de fitxers. Es van considerar imatges simples consistents en cercles

negres o grisos sobre fons blanc. En la segona fase es van utilitzar fotografies de tests de Kirby-Bauer reals, obtinguts d'articles. Per a la tercera fase es va preveure analitzar imatges de tests reals captades amb la càmera web. A causa de la situació excepcional de confinament per COVID-19, i la impossibilitat d'accedir al laboratori es va haver de buscar una verificació alternativa.

A continuació es presenten els detalls de les tres fases de verificació.

### 5.2.1 Fase 1. Mesura de formes bàsiques contingudes en fitxers d'imatges

En la primera de les fases es va realitzar una prova del programari amb figures bàsiques en blanc i negre, detectant cercles i circumferències negres o grisos sobre fons blanc. Mitjançant aquesta prova es va determinar que els codis del programa encarregats de la detecció de marges de la circumferència eren correctes i es podria així obtenir una mesura del diàmetre de la figura seleccionada. La Figura - 7 mostra la validesa de la detecció dels diàmetres de les formes bàsiques.

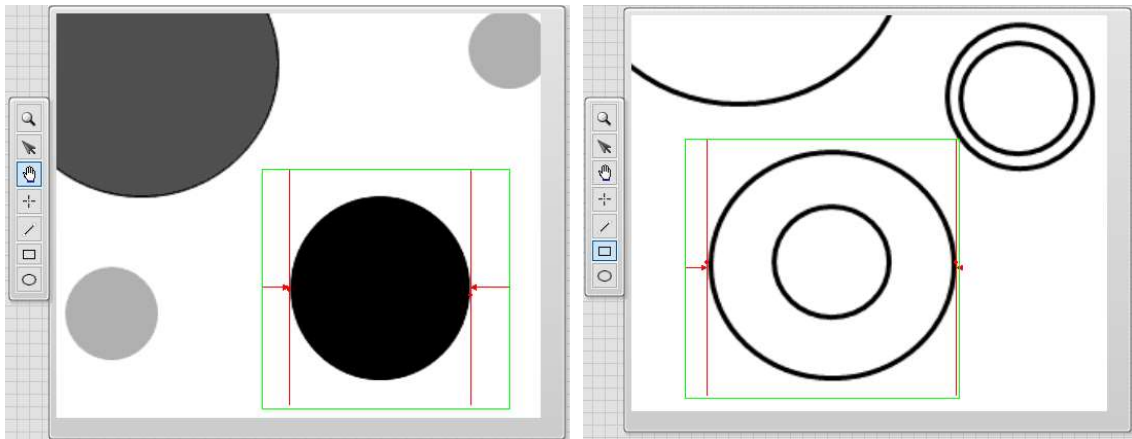


Figura - 7. Prova de detecció dels marges de figures bàsiques.

### 5.2.2 Fase 2. Mesura d'imatges de cultius contingudes en fitxers

Seguidament a la validació de la detecció de marges de formes bàsiques, es va comprovar que el programa també feia les deteccions esmentades anteriorment amb imatges no bàsiques, és a dir imatges de proves reals. És per això que també es va realitzar la prova de detecció de marges amb una imatge d'un test real, i es va comprovar que la detecció era vàlida i que el diàmetre es mesurava correctament malgrat la dificultat de tenir contorns menys regulars, menys definits i menys contrast que en la fase 1. Aquest procediment es mostra a la Figura - 8.

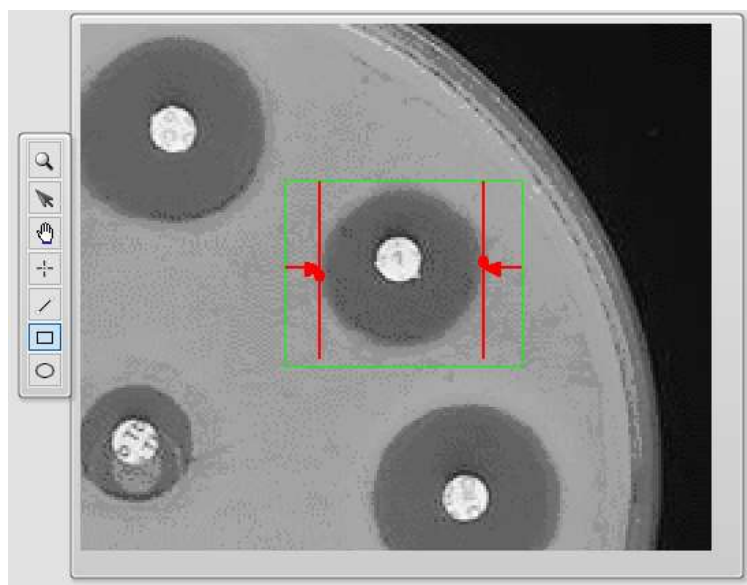


Figura - 8. Prova detecció marges amb una imatge real.

### 5.2.3 Fase 3. Prova real amb imatges de la càmera

En la darrera fase de verificació, estava prevista la realització del test Kirby-Bauer al laboratori per tal d'adquirir imatges de material propi. També s'havia plantejat l'adquisició d'imatges d'experiments de les pràctiques dels alumnes de microbiologia de l'ESAB per comparar els resultats obtinguts amb el programari dissenyat en aquest projecte i els obtinguts de forma manual. D'aquesta forma es disposaria d'una col·lecció de mesures provinent un nombre elevat de realitzacions.

L'aplicació del programa creat al laboratori, en una situació real, és de gran importància, ja que és la millor comprovació de si l'eina generada és apta per l'ús que es buscava.

La situació de confinament durant la realització d'aquest estudi, per la crisi de la COVID-19, va impedir l'accés al laboratori i la realització d'aquesta tercera fase de verificació tal com s'havia previst. Es va haver de buscar una prova que pogués realitzar-se a casa, sense material de laboratori.

La fase 2 va permetre validar que el nostre programa podia processar imatges d'antibiograma. Ara calia comprovar que podia processar imatges d'antibiogrames captades per la nostra càmera. Es va optar per imprimir fotografies d'antibiogrames i col·locar-les davant de la càmera per realitzar les mesures en comptes de plaques de petri amb mostra real. Les imatges impreses emprades per la comprovació del funcionament del programa es poden observar a la Figura - 9, dues d'aquestes són fotografies de proves reals extretes d'articles i l'altra consisteix en una placa anomenada fictícia, dissenyada pròpiament amb figures simples per tal de simular un antibiograma.



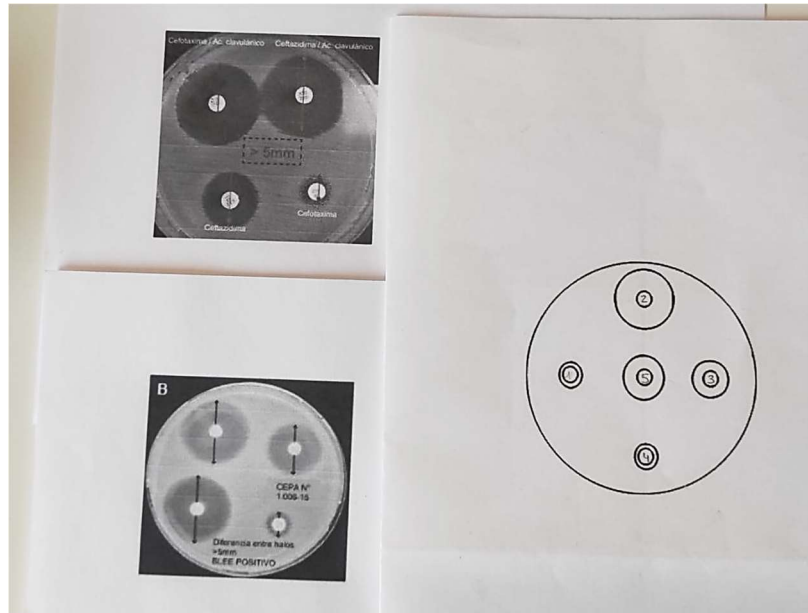


Figura - 9. Plaques impreses emprades en la comprovació del funcionament del programa.

## 6.RESULTATS I VALORACIÓ

El següent apartat exposa els resultats obtinguts de la realització del projecte, que són fonamentalment els següents:

- El sistema de mesura desenvolupat, que consta dels elements materials per a la captació de les imatges, el programa per a l'adquisició de les imatges i un programa per al calibratge prèvia la mesura.
- Un procediment per a la interpretació i mesura de mostres inusuals. Les característiques del programa de mesura desenvolupat permeten mesurar mostres inusuals en què els halos no estan ben definits. Donat que es un procediment específic per a l'eina que s'ha desenvolupat, l'hem inclòs entre els resultats del treball.
- Els resultats de les proves de validació.

### 6.1 SISTEMA DE MESURA

#### 6.1.1 Elements materials

Els elements materials que componen el sistema per a adquirir imatges son una càmera web com a element de captació, un trípod per a estabilitzar la posició de la càmera i poder així realitzar un correcte calibratge i una presa de mesures vàlida i un ordinador personal.

Aquesta disposició, que es pot veure representada a la Figura - 10, està pensada per tal de poder adaptar l'alçada i posició del dispositiu en funció del lloc de treball.

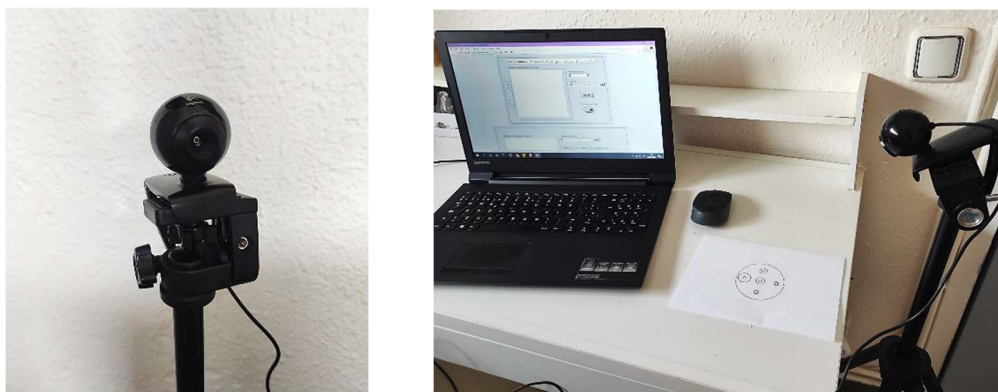


Figura - 10. Càmera i dispositiu complet del programari per la realització de mesures.

### 6.1.2 Programa 1. Calibratge

El software del programari, com s'ha esmentat en apartats anteriors, està dividit en dos. El primer d'aquests consisteix en el sistema de calibratge que permet l'obtenció de la ràtio de mesura.

La mesura de distàncies sobre imatges digitalitzades s'expressa en píxels. Per convertir els píxels en unitats de longitud "física" cal conèixer la ràtio píxel / (unitat de longitud). Aquest primer programa té com a objectiu l'obtenció d'un factor de conversió per convertir el resultat de la mesura en píxels a una mesura de distància expressada en cm. El factor de calibratge s'utilitzarà posteriorment en el programa 2, destinat a la mesura dels diàmetres dels halos.

Seguidament a la Figura - 11 es mostra la interfície d'usuari del programa 1. En aquest es troba primerament una finestra que mostra la imatge que està captant la càmera, a la dreta d'aquesta s'observa la finestra de manipulació de la imatge que permet seleccionar la zona a mesurar, també conté un requadre on s'indica el valor de la mesura realitzada en píxels i una zona que permet el càlcul de la ràtio mitjançant la introducció de la mesura en píxels i la mesura patró.

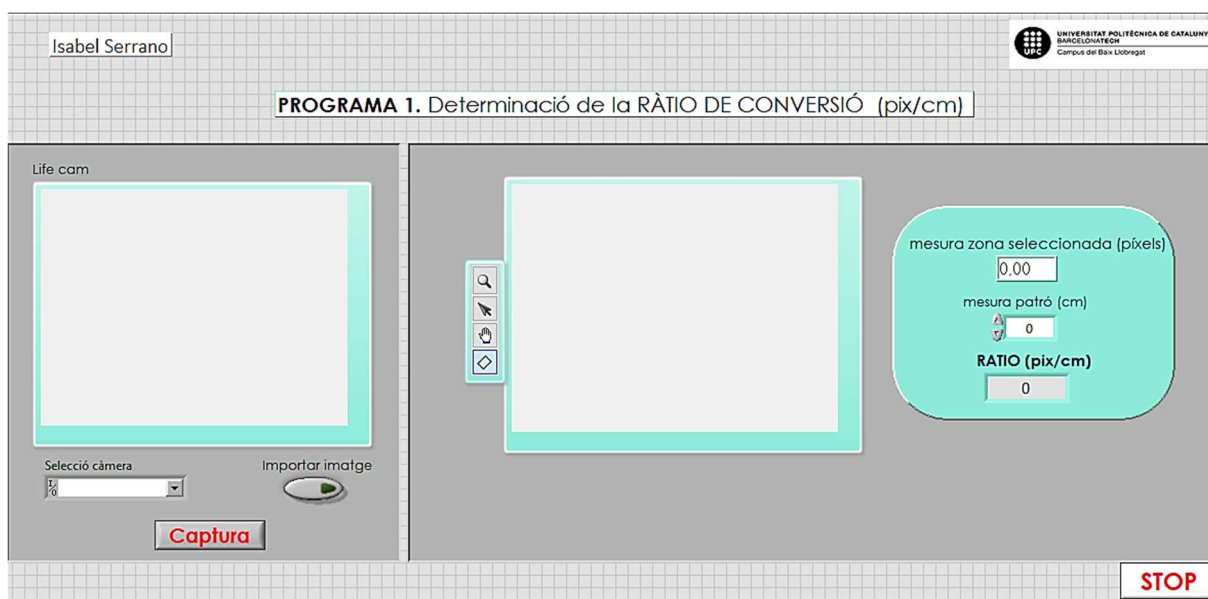


Figura - 11. Interfície d'usuari del programa 1.

El funcionament d'aquest programa es basa en captar mitjançant la càmera una imatge patró amb una mesura coneguda, existeix també la possibilitat d'importar la imatge des d'un arxiu. La Figura - 12 mostra un exemple d'aquesta tipologia d'imatge.

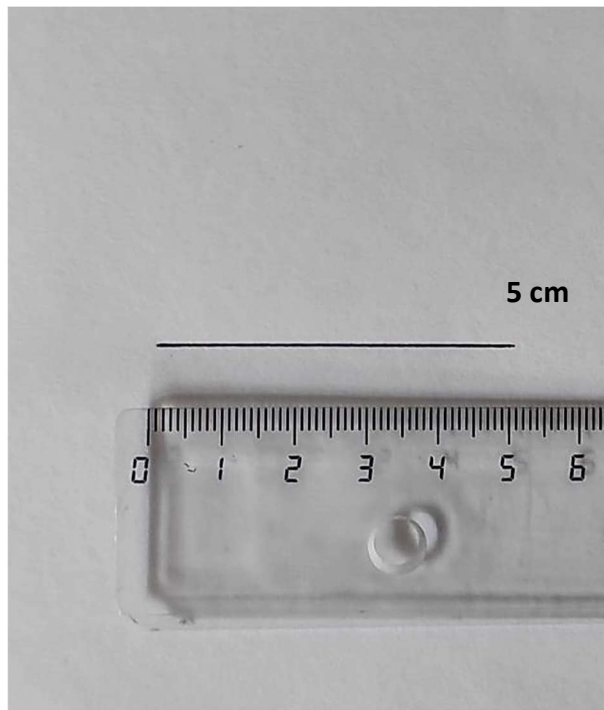


Figura - 12. Exemple d'imatge patró per l'obtenció de la ràtio de conversió.

Una vegada captada la imatge es realitza una captura i es procedeix a determinar la mesura d'aquesta a la zona dreta del programari. L'usuari selecciona l'halo a mesurar i el programa ens torna aquesta mesura en píxels.

Finalment s'introdueix la mesura de la imatge patró i automàticament, tal com es mostra a la Figura - 13, es calcula la ràtio de conversió en píxel/centímetre que serà necessària en el programa 2.

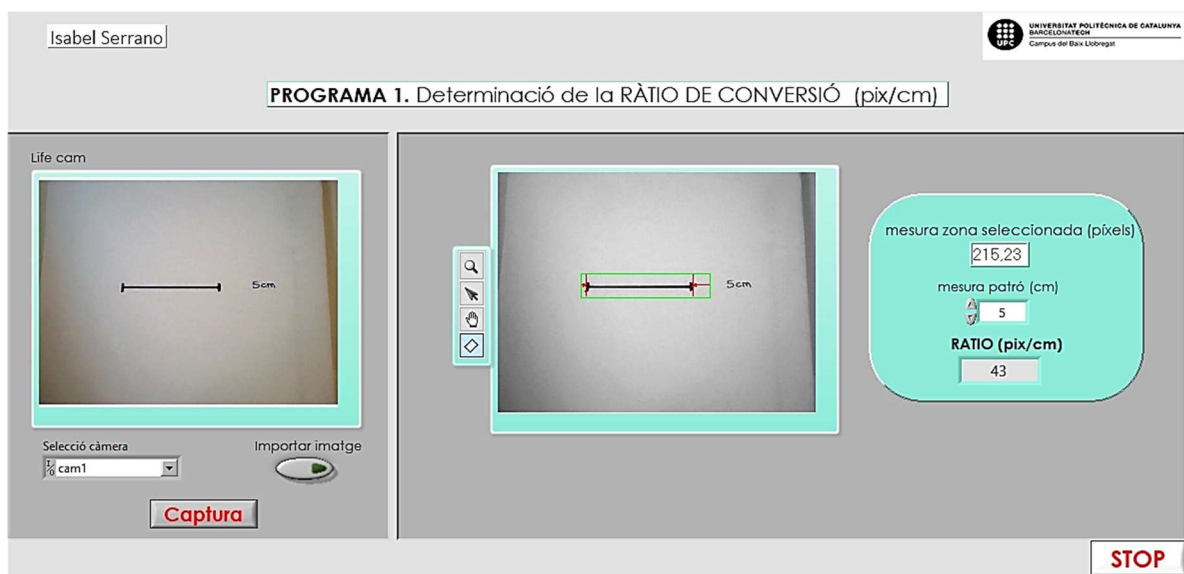


Figura - 13. Mesura de la imatge patró i obtenció de la ràtio de conversió en píxel/cm.

### 6.1.3 Programa 2. Adquisició d'imatges i mesura de la mostra

El segon programa és el que permet conèixer les mesures dels halos de la mostra, per tal d'analitzar experiments de resistència microbiana. La interfície d'usuari es troba estructurada en dues parts, mostrades amb detall en la Figura - 14.



Figura - 14. Interfície d'usuari del programa 2.

La primera part d'aquest programa consisteix en la visió de la càmera, amb la qual es realitzen les captures de les imatges que es volen analitzar i mesurar, també consta d'un botó per importar imatges des d'un arxiu.

Una vegada realitzada la captura de la imatge, aquesta és mostrada a la segona part del programa, situada a la banda dreta. Aquesta segona part del programa conté, d'una banda la finestra de manipulació de la imatge, on l'usuari selecciona l'halo a mesurar, i d'altra banda conté el requadre de resultats, les eines de manipulació de la mesura i els ajusts per al guardat d'imatges i la gravació de dades. Posteriorment a la realització de la captura, a la finestra de manipulació de la imatge es selecciona l'halo que es vol mesurar i al requadre de resultats s'indica la ràtio de conversió, calculada prèviament amb el programa 1. El programa realitza la mesura i la mostra tant a la imatge com a requadre de resultats, en aquest podem determinar en quines unitats volem la mesura.

El programa inclou controls que permeten manipular la imatge i l'àrea de selecció amb l'objectiu d'optimitzar l'exactitud de la mesura. Aquestes eines són, primerament la finestra de manipulació de la imatge, que permet el seu moviment, ampliació i rotació de la regió d'interès seleccionada, aquesta eina, mostrada a la Figura - 15, resulta molt útil en els casos on l'halo no és perfectament circular i cal ajustar el lloc on convé fer la mesura.

També inclou uns altres controls, a l'apartat de *Clamp Settings*, que permeten manipular el contrast, les vores detectades i les línies de cerca. A més també es pot determinar la posició del text amb el resultat que s'observa a la imatge, mitjançant els botons desplaçament en X i Y. Les eines comentades es mostren a la Figura - 16.



Figura - 15. Exemple d'utilització de la rotació en la selecció de la ROI per una millor detecció de l'halo.

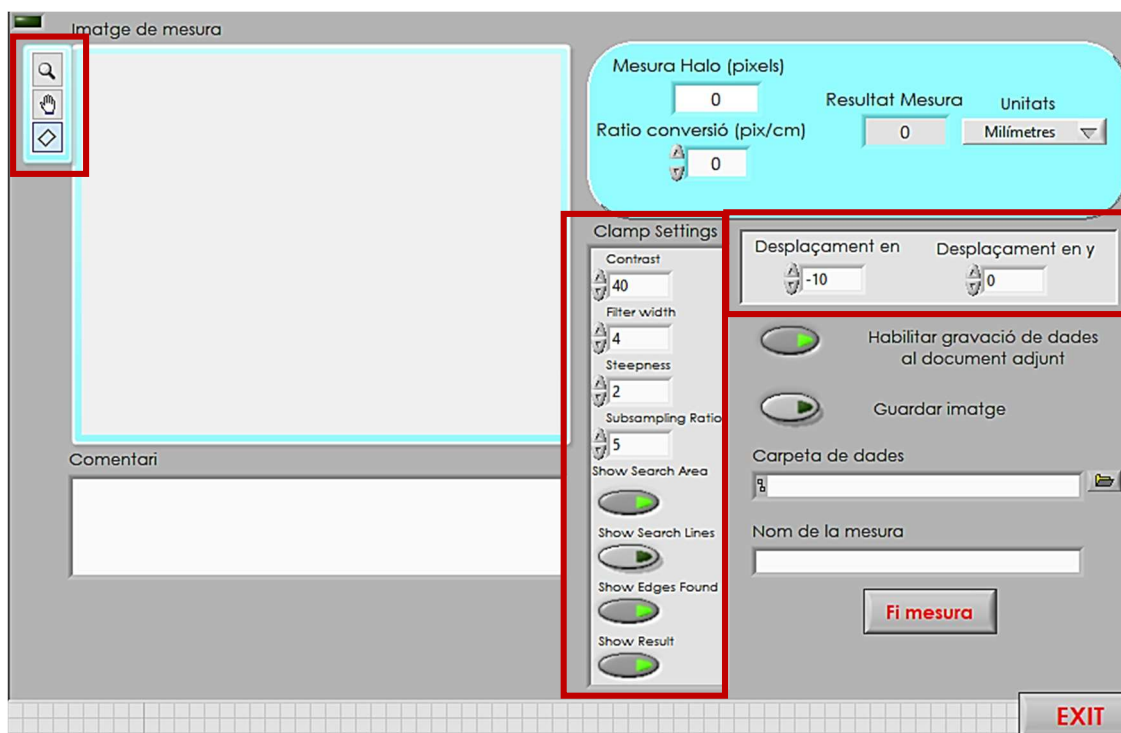


Figura - 16. Eines de manipulació de la imatge del programa 2.

A banda de les eines comentades anteriorment, també es troben els botons de selecció de la gravació de dades i imatges, en el cas de voler guardar les imatges capturades o les mesures realitzades, només cal activar el botó i determinar la carpeta on es guardaran els arxius i el nom d'aquests.

Les imatges es guardaran amb la mesura inclosa tal com es mostra a la Figura - 17 i en format *.jpg*. En el cas de les mesures, els resultats, es guardaran en format *.txt* i l'arxiu constarà de la data, l'hora de la presa de la mesura i els comentaris de l'usuari sobre possibles observacions de



la mostra. S'ha escollit aquest format per la gravació de fitxers perquè d'aquesta manera els documents resulten fàcilment importables a altres programaris.

A la Figura - 18 es pot observar com queden gravades les mesures i les imatges preses d'una mostra a una carpeta.

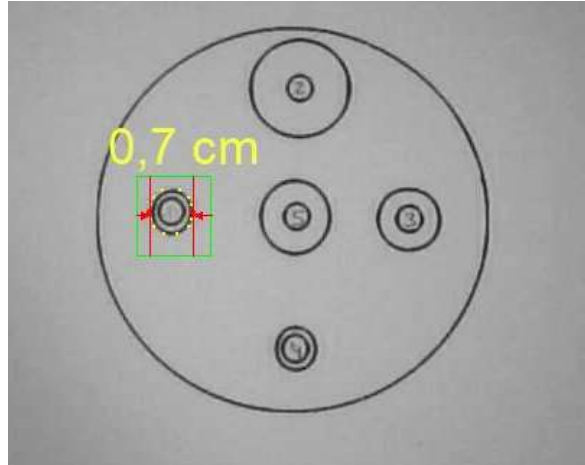


Figura - 17. Imatge resultat de la gravació amb la mesura inclosa.

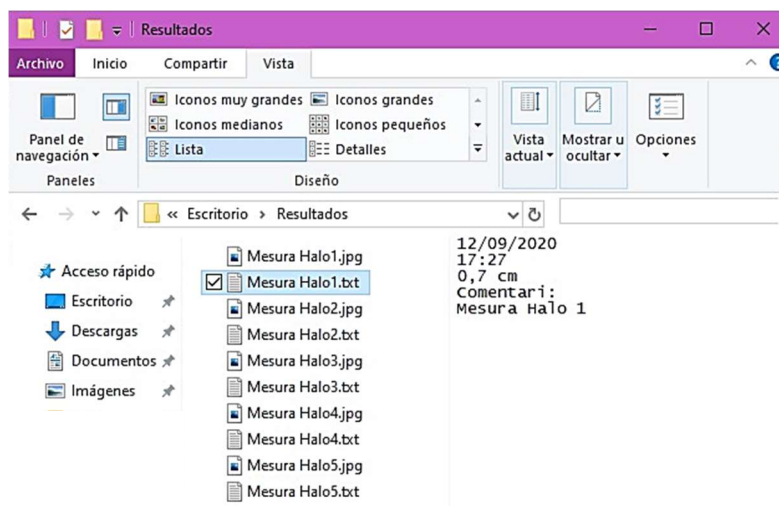


Figura - 18. Carpeta amb les imatges i mesures.

En el moment en què es té la mesura feta i les dades gravades s'activa el botó de fi de mesura i automàticament el programa queda en disposició de fer una nova captura. Quan s'acaben les mesures activem el botó *exit* i el programa finalitza.

Per facilitar la lectura de la memòria, el codi dels programes de mesura i de cal·libratge, així com la seva descripció detallada s'han ubicat a l'Annex 12.1.

### 6.1.3.1 Eines per a la mesura de mostres inusuals

La naturalesa de les proves d'antibiograma provoca que, algunes mostres puguin presentar resultats inusuals que dificultin la mesura del diàmetre dels halos. En aquest apartat s'explica com cal utilitzar les eines de l'eina de mesura desenvolupada per tal que les mesures d'aquestes mostres inusuals siguin vàlides per a un posterior estudi i interpretació [4].

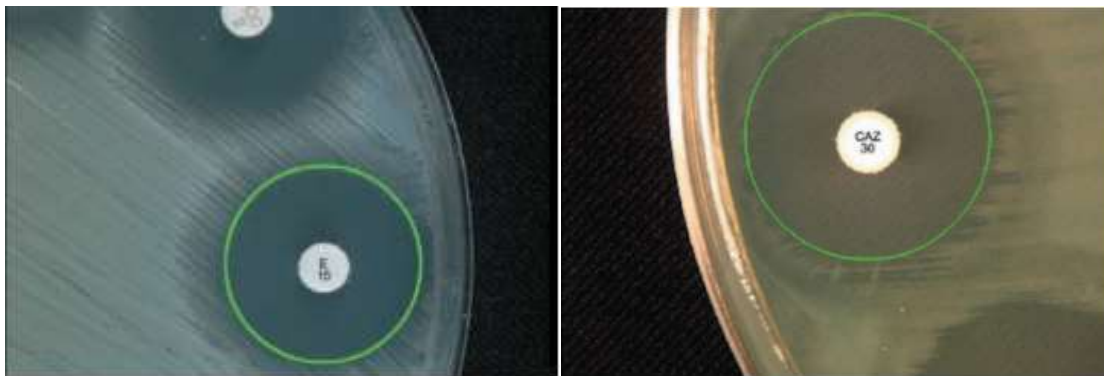
Les eines de mesura del programa, permeten la manipulació de la regió d'interès i de la imatge per tal de poder definir bé l'halo que es vol mesurar. Així i tot en funció del tipus de mostra i de la qualitat de la imatge és possible que les eines que conté el programari no siguin suficients per a la realització de mesures, es per això que no en tots els casos de mostres inusuals esmentats en aquest apartat es possible realitzar la mesura amb aquest programari.

A continuació es detallen les accions a realitzar per a un seguit de situacions típiques:

### ***Doble zona d'inhibició***

La doble zona d'inhibició, pot ser identificada per l'existència d'una zona de disminució de la intensitat del creixement del microorganisme, present abans de la zona de no creixement. Aquest fenomen pot expressar-se en casos on s'hagin donat mutacions resistents del microorganisme estudiat, amb una capacitat diferent de resistència enfront l'efecte inhibitori de l'antibiòtic, en comparació amb la resta de la població.

En aquests casos per tal de realitzar la mesura i que aquesta sigui vàlida, s'ha de delimitar el diàmetre de l'halo a la zona de no creixement, tal com s'indica mitjançant un anell verd a la Figura - 19. Amb el programari es possible realitzar aquesta acció reduint la regió d'interès seleccionada i fent canvis en el contrast de la fotografia.



*Figura - 19. Mostres que presenten de doble zona d'inhibició. Font: [4].*

### ***Vores difuses***

Les vores difuses són aquelles on no queda ben delimitada la zona de creixement de la població estudiada de la zona d'inhibició.

És possible la presència d'aquest tipus de mostra, ja que alguns agents inhibidors poden no realitzar la seva acció sobre el creixement dels bacteris fins que aquestes han passat per diverses generacions de creixement. És per això que realitzar una mesura vàlida pot resultar costós.

En aquest cas s'ha d'actuar fent la mida al punt en el qual es pugui veure una demarcació obvia entre creixement i absència de creixement, com s'especifica a la Figura - 20, per tal d'ajudar a una millor visualització d'aquest límit es pot realitzar una ampliació de la imatge. Pel que fa al programa emprat en aquest estudi la possibilitat de realitzar aquest tipus de mesura dependrà del grau de difusió de l'halo i de la qualitat de la imatge.

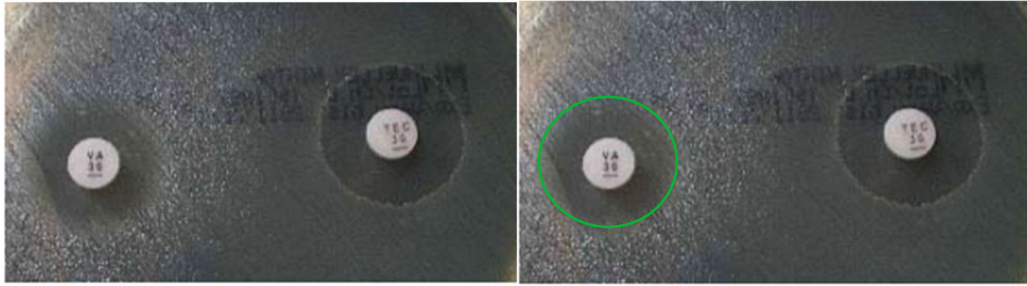


Figura - 20. Halo amb la vora difusa i anell verd indicatiu d'on s'ha de fer la mesura. Font: [14].

### Colònies dins de la zona d'inhibició

La presència de colònies dins de la zona de no creixement pot ser causada per dos factors, el primer d'aquest consisteix en l'existència d'un cultiu mixt, és a dir, presència de més d'un tipus de microorganisme, en segon lloc, pot ser també causada per l'existència d'una subpoblació resistent de la colònia que estem analitzant.

Per tal de conèixer el motiu de la presència d'aquest tipus de resultat inusual, s'ha de realitzar una repetició de la prova amb l'objectiu de descartar que la causa sigui el cultiu mixt. Aquesta repetició s'ha de realitzar amb una sola colònia o amb un subcultiu d'una sola colònia de la placa del cultiu primari.

Una vegada realitzada aquesta repetició de la prova, s'ha d'analitzar si dins la zona d'inhibició hi ha o no creixement i, finalment, realitzar la mesura en funció d'aquesta presència tal com es mostra a la Figura - 21.

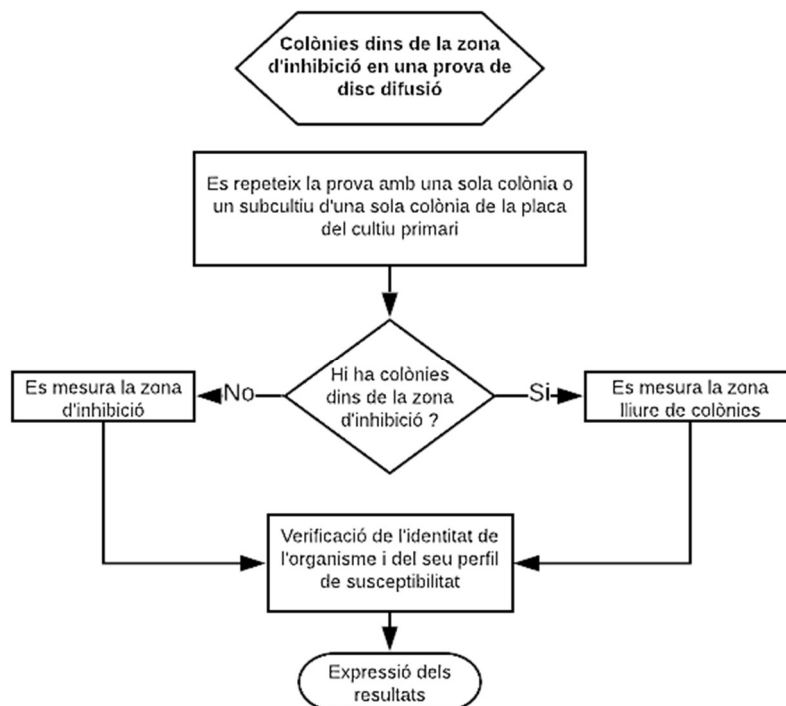


Figura - 21. Esquema d'actuació en cas de presència de colònies a la zona inhibidora.

En el cas que en la repetició ja no es detectin colònies dins la zona d'inhibició, es realitzarà la mesura de la zona de no creixement, per contraposició en el cas que s'obtingui un resultat



similar a l'inicial, s'ha de realitzar la mesura de la zona lliure de colònies, com s'indica a la Figura - 22. Aquesta tipologia de mostra resultarà molt complicada de realitzar amb el programa ja que no té una forma circular definida, es un dels casos on seria necessari un processament d'imatges dels quals el programa encara no és capaç de realitzar.



Figura - 22. Mostra amb colònies internes i anell verd indicatiu d'on s'ha de fer la mesura. Font: [4].

## 6.2 RESULTATS DE LES PROVES DE VALIDACIÓ

Les proves de validació han estat realitzades a partir de dos tipus de mostres, en primer lloc les mostres obtingudes a partir de plaques dissenyades pròpiament, es a dir, dibuixades amb programari d'edició i impreses a escala real per intentar que tinguessin l'aparença més similar possible a una placa amb mostra real. En segon lloc també s'han obtingut mesures a partir d'imatges extretes d'articles d'estudi de la sensibilitat microbiana.

Aquests dos tipus de mostres han estat mesurades mitjançant dos mètodes, de manera manual amb l'ajuda d'un regle, en el cas de les imatges extretes d'articles s'ha considerat mesura manual la determinada a l'estudi. Altrament el segon mètode de mesura ha estat el que hem anomenat automàtic, que ha estat realitzat mitjançant el programa creat en aquest estudi.

Seguidament la Figura - 23, la Figura - 24 i la Figura - 25 mostren les plaques d'estudi emprades en les proves de validació.

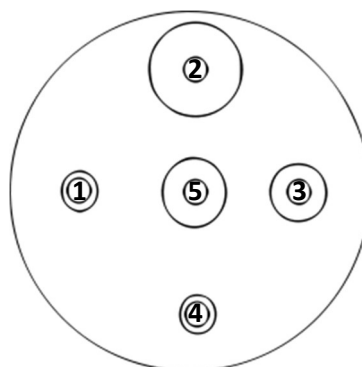


Figura - 23. Placa fictícia emprada en les proves de validació

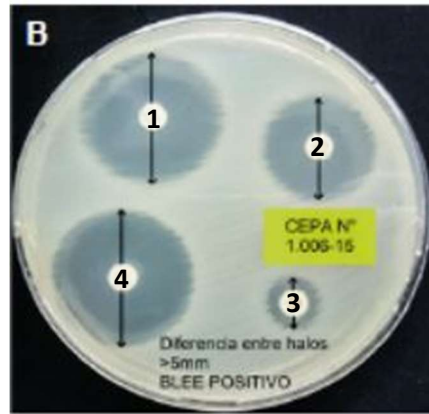


Figura - 24. Placa d'estudi 1 emprada en les proves de validació. Font: Adaptat de [12].

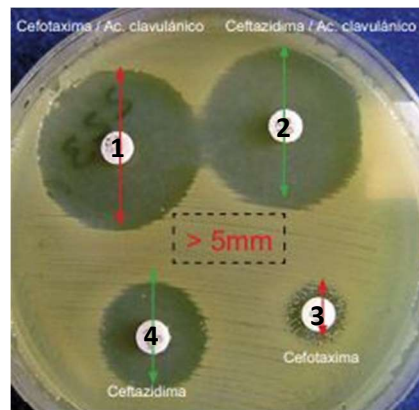


Figura - 25. Placa d'estudi 2 emprada en les proves de validació. Font: Adaptat de [13].

A continuació, a la Taula - 1, la Taula - 2 i la Taula - 3, es presenten les mesures obtingudes de cada mostra amb ambdós mètodes de mesura.

Taula - 1. Comparació de mesures, error absolut i diferència relativa de la placa fictícia.

Placa fictícia dissenyada manualment				
halo de la placa	Mesura manual (mm)	Mesura amb el programari (mm)	Error absolut (cm)	Diferència relativa (%)
1	7	7	0	0
2	17	17	0	0
3	10	11	1	10
4	6	7	1	17
5	12	12	0	0

Taula - 2. Comparació de mesures, error absolut i diferència relativa de la placa d'estudi 1.

Placa d'estudi 1				
halo de la placa	Mesura manual (mm)	Mesura amb el programari (mm)	Error absolut (cm)	Diferència relativa (%)
1	27	25	-2	7
2	20	21	1	5
3	10	10	0	0
4	28	27	-1	4

Taula - 3. Comparació de mesures, error absolut i diferència relativa de la placa d'estudi 2.

Placa d'estudi 2				
halo de la placa	Mesura manual (mm)	Mesura amb el programari (mm)	Error absolut (cm)	Diferència relativa (%)
1	29	28	-1	3
2	30	30	0	0
3	8	11	3	38
4	19	20	1	5

Les taules presentades anteriorment permeten observar que les mesures manuals i automàtiques tenen valors similars. També es presenten l'error absolut i la diferència relativa en percentatge de cada placa, de manera general la diferència relativa no presenta valors superiors al 15%, en aquests casos podem considerar que tenim una bona qualitat de la mesura.

La placa que presenta els resultats més similars és la placa anomenada fictícia, que és la dissenyada per la realització de mesures, aquest fet pot ser degut al fet que el disseny es va dur a terme amb formes bàsiques perfectament definides. Per contraposició la placa on les mesures difereixen més és la placa d'estudi 1, això suggereix que la qualitat de la imatge no era la necessària, ja que es pot observar que els halos no estan tan ben definits i això podria haver fet variar la mesura. Possiblement caldria fer un processament de la imatge per tal d'aconseguir més definició i en conseqüència unes mesures més similars a les manuals.

## 7.LIMITACIONS

En el següent apartat es pretén fer una explicació sobre les diferents limitacions que s'han detectat utilitzant l'eina desenvolupada, tant pel que fa al mètode del test com al nostre programa. També s'especifiquen algunes de les accions que es poden realitzar per tal de solucionar aquestes limitacions.

Les limitacions han estat classificades en dos grups, primerament aquelles pròpies del programa, que es defineixen com aquelles situacions on l'eina desenvolupada en aquest estudi no és capaç de realitzar la mesura, a causa de la seva estructura de codi o per complicacions de la imatge, de vegades aquestes és possible solucionar-les fent un tractament de la imatge.

En segon lloc també s'han determinat aquelles que són pròpies de la prova i per tant succeeixen independentment de l'habilitat de la persona que l'està realitzant. Aquest tipus de limitació s'origina per la naturalesa del microorganisme o de la substància d'estudi i genera que la determinació de la resistència no sigui possible només amb un anàlisi visual.

### **7.1 DE LA MAQUINÀRIA**

Les limitacions de la maquinària, les definirem com aquelles situacions on, encara que el test realitzat doni un resultat vàlid, el programa desenvolupat en aquest estudi no és capaç de mesurar, principalment són degudes a les característiques de la imatge d'estudi.

Com que el programa es basa en la imatge per la realització de mesures, tot allò que distorsioni la imatge i impedeixi la detecció dels diàmetres dels halos, serà conegut com a limitació. Un cas d'exemple seria si durant la realització de la prova al laboratori, una vegada passada la fase d'incubació, la part superior de la placa de petri s'entelés, això generaria dificultats en la determinació dels diàmetres i caldria una edició de la imatge, ja que el programa per si sol no conté les eines per solucionar aquesta limitació. L'anàlisi de la imatge també seria difícil si es donés la proliferació de microorganismes a la part superior de la placa, ja que en aquest cas la visió del resultat tampoc no seria clara.

En alguns dels casos esmentats existeix la possibilitat d'aplicar tècniques de processament d'imatges per intentar millorar la visibilitat del resultat de la prova a la imatge i poder realitzar la mesura.

### **7.2 LIMITACIONS DEGUDES AL MÈTODE DE LA PROVA**

Definirem limitacions de la prova com aquelles que s'originen per les característiques del microorganisme o de la substància d'estudi, i impedeixen la realització de l'anàlisi mitjançant la tecnologia de visió artificial emprada en aquest estudi.

Existeixen factors, com les característiques de l'agent antibimicrobià emprat o els mecanismes de resistència dels microorganismes d'estudi, que poden ser causants de l'obtenció de resultats que no siguin el que es coneix com a resultat estàndard ni tampoc els resultats específics esmentats anteriorment en aquest treball a l'apartat de Mostres Inusuals. En aquests casos, com la limitació és independent del programa, no és possible l'avaluació de l'antibiograma amb l'eina desenvolupada, sinó que es requereix un estudi més específic dels microorganismes, les seves característiques fisiològiques i mètodes de resistència, i també de la substància inhibidora d'estudi.

## 8.CONCLUSIONS

A partir dels resultats obtinguts, i en relació a l'objectiu general definit, es pot afirmar que:

- S'ha assolit l'objectiu principal del treball, ja que s'ha construït un sistema capaç de detectar i mesurar els halos característics de la prova de resistència microbiana.

En relació als objectius parcials plantejats, es pot concloure que:

- Les possibilitats d'adquisició d'imatges de l'eina desenvolupada superen les previstes inicialment, ja que, no només es poden capturar imatges amb una càmera web, sinó que pot analitzar-se qualsevol fitxer de fotografia que hagi estat enregistrat prèviament. Aquesta característica permet analitzar mostres disponibles al laboratori, però també imatges d'arxiu o imatges rebudes d'altres laboratoris sense necessitat de tenir físicament la mostra.
- Tot i que les restriccions per la COVID-19 no han permès que aquesta eina hagi estat provada pel personal dels laboratoris de l'escola, la valoració pròpia, així com les opinions de companys i companyes propers, permeten afirmar que la interfície d'usuari dissenyada facilita la presa de mesures del diàmetre dels halos. A més a més, no és necessari que l'usuari conegui cap tècnica de programació o comandes per a obtenir la mesura. Simplement ha de seleccionar l'àrea d'interès amb el ratolí.
- La validació de les mesures obtingudes no s'ha pogut realitzar al laboratori, com s'havia previst inicialment. Com a alternativa, s'han mesurat diferents fotografies d'experiments reals i d'altres imatges de referència i els resultats han estat satisfactoris i comparables als obtinguts per mètodes convencionals mesurant amb un regle.
- S'ha aportat una millora a la documentació manual de les mesures afegint al programa l'opció de gravar tant els resultats com les imatges adquirides de les mostres a una carpeta que permet unificar resultats i facilita posteriors estudis de les dades obtingudes. L'usuari no ha de realitzar cap anotació, de forma que es redueixen els errors de transcripció.
- La detecció automàtica de la zona de mesura presenta dificultats en el cas de mostres no habituals. En aquests casos, el sistema de mesura desenvolupat permet ajustar i modificar manualment la zona de mesura. Aquesta possibilitat d'ajust manual ha resultat de molta utilitat per a mesurar aquest tipus de mostres.
- Tant l'estudi, com les proves de validació han permès detectar algunes limitacions de l'eina que han estat convenientment descrites.

En definitiva, podem concloure que mitjançant aquest estudi s'ha generat un programa que utilitza la visió artificial per automatitzar el procés de la mesura dels halos en el test de resistència microbiana. Mitjançant l'aplicació d'aquesta tecnologia s'han explorat les oportunitats que la tecnologia de la visió artificial ofereix, s'ha fet un pas endavant en l'automatització de processos de l'àmbit agroalimentari i s'ha obtingut una eina vàlida i útil.

## 9.FUTURES LINIES DE TREBALL

La realització d'un projecte genera la capacitat de resoldre algunes de les incògnites plantejades en el tema tractat, com és en aquest cas la visió artificial per l'automatització. Però, de forma simultània, es generen noves preguntes o idees.

En aquest apartat es presentaran aspectes on existeix la possibilitat d'aprofundir, així com les futures línies d'investigació en el camp de l'automatització de procediments de laboratori, que poden ser objecte d'interès de cara a una evolució i millora de l'aplicació de visió artificial creada.

Una de les parts més importants de les futures vies de treball és la relacionada amb les millores del programari creat i de les seves funcions. Es podria incorporar la possibilitat de realització de mesures sense la necessitat de fer una captura d'imatge, és a dir, la mesura de mostres en temps real.

També seria interessant afegir identificació a les plaques, mitjançant un codi de barres o un codi Quick Response (QR) per tal que el programa pogués directament assignar la mesura a la mostra estudiada en el full de càlcul on es realitza la gravació de dades. Això aportaria facilitat de cara a l'enregistrament de dades de les mostres.

Relacionat amb la problemàtica de la mesura d'alguns tipus de mostres, com són aquelles on l'halo no es troba ben definit, o els casos on la condensació de la placa dificulta la visualització dels resultats, es podria intentar afegir funcions de manipulació i correcció de la imatge, amb l'objectiu que aquelles mostres que a priori no són vàlides per la mesura, siguin editades i es tornin vàlides per l'anàlisi.

Finalment tindria un gran interès ampliar el camp d'aplicació de la visió artificial en l'àmbit dels laboratoris de biociències. Realitzar un estudi d'en quins àmbits i per a quines proves seria útil l'aplicació de tecnologies com la visió artificial per tal d'automatitzar processos i augmentar el rendiment d'aquestes proves. Caldria un anàlisi i una recerca molt exhaustiva, ja que cada laboratori té els seus procediments i les seves proves, i cada prova té el seu protocol i característiques, però aquest estudi permetria generar eines de gran utilitat i fer arribar aquesta tecnologia, la seva eficiència i els seus avantatges als usuaris de laboratoris.

## 10.VALORACIÓ PERSONAL

La realització d'aquest projecte, en l'àmbit professional m'ha aportat una gran base de fonaments sobre visió artificial, he pogut conèixer com aquesta eina permet facilitar moltes tasques i com és possible la seva aplicació en molts més àmbits dels que creia possibles, alguns d'ells d'ús habitual i freqüent.

D'una banda, ha estat tot un repte convertir una idea, que inicialment només era un esborrany, en un projecte, amb un estudi i un anàlisi amb el qual obtenir uns resultats i poder conèixer els seus punts forts i les seves limitacions.

D'altra banda, m'ha generat un gran interès, i el fet de desenvolupar una eina on s'utilitzi visió artificial per facilitar tasques d'anàlisi que es realitzen a un laboratori de biociències m'ha ajudat a aplicar molts coneixements adquirits durant l'estudi del grau.

En resum, aquest estudi per mi ha sigut una gran oportunitat, on l'esforç ha estat la clau per l'obtenció del resultat actual i amb el qual he pogut trobar el sentit a aquella idea que ens van explicar a l'inici del grau sobre què vol dir ser enginyera o enginyer.

## 11.REFERÈNCIES BIBLIOGRÀFIQUES

- [1] Taroco, R; Seija, V; Vignoli, R. (2008) 'Métodos de estudio de la sensibilidad antibiótica', *Temas de Bacterología y Virología Médica*, 36(Cim) :663–671.
- [2] Moreno, R. C. (2002) 'FORMACIÓN MÉDICA CONTINUADA Lectura interpretada del antibiograma: ¿ejercicio intelectual o necesidad clínica?', *Enferm Infecc Microbiol Clin*, 20(4): 176–86.
- [3] Cercenado, E; Saavedra-Lozano, J. (2008) 'El antibiograma. Interpretación del antibiograma: conceptos generales (I)', *Ecografía en diagnóstico prenatal*, 7(1) :. 169–172. doi: 10.1016/b978-84-458-1845-9.50012-8.
- [4] J.Cavaliere, S. (2005) *Manual de pruebas de susceptibilidad antimicrobiana*.
- [5] Wieser, A; Schneider, L; Jung, J; Schubert, S.(2012) 'MALDI-TOF MS in microbiological diagnostics-identification of microorganisms and beyond (mini review)', *Applied Microbiology and Biotechnology*, 93(3): 965–974. doi: 10.1007/s00253-011-3783-4.
- [6] Martínez-Martínez, L. (2003) 'El futuro de las pruebas de sensibilidad a los antimicrobianos', *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 21(SUPPL.2) : 64–71. doi: 10.1157/13059088.
- [7] García, E. M. (2002) 'Visión Artificial', *Inteligencia Artificial*: 115.
- [8] Cognex Corporation (2014) *Introducción a la Visión Artificial*. doi: 10.13140/2.1.1072.6722.
- [9] Alvear-Puertas, V; Rosero-Montalvo, P; Peluffo-Ordóñez, D; Pijal-Rojas, J. (2017) 'Internet de las Cosas y Visión Artificial, Funcionamiento y Aplicaciones: Revisión de Literatura (Internet of Things and Artificial Vision, Performance and Applications: Literature Review)', *Enfoque UTE*, 8(1) : 244–256.
- [10] García S, I; Caranqui S, V. (2015) 'La visión artificial y los campos de aplicación', *Tierra Infinita*, 1: 94–103. doi: 2631-2921.
- [11] Sacsquispe Contreras, R. E; Velásquez Pomar, J. (2002) *Manual de procedimientos anual para la prueba de sensibilidad antimicrobiana por el método de disco difusión. Organismo Público Descentralizado de Sector Salud*.
- [12] Quino Sifuentes, W; Hurtado, C. V; Escalante-Maldonado, O; Flores-León, D; Mestanza, O; Vences-Rosales, F; Zamudio, M. L; Gavilán, R. G.(2019) 'Multidrug resistance of Salmonella infantis in Peru: A study through next generation sequencing', *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública*, 36(1) : 37–45. doi: 10.17843/rpmpesp.2019.361.3934.
- [13] Lezameta, L; Gonzáles-Escalante, E; Tamariz, J. H. (2010) 'Comparación de cuatro métodos fenotípicos para la detección de beta-lactamasas de espectro extendido', *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública*, 27(3) : 345–351. doi: 10.1590/s1726-46342010000300006.
- [14] Morosini, M. I; Ardanuy, C; Cercenado, E; Torres, C.(2012) *Detección fenotípica de mecanismos de resistencia en microorganismos grampositivos*, *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*. doi: 10.1016/j.eimc.2011.09.009.

## 12. ANNEXOS

### 12.1 CODI DELS PROGRAMES

En el següent annex es detallen els codis de funcionament dels programes emprats desenvolupats en el projecte.

En primer lloc es detallarà el codi del programa 1, amb el qual es realitza el calibratge i s'obté la ràtio de conversió per la posterior mesura. A la Figura - 26 es pot observar l'esquema general del codi d'aquest programa.

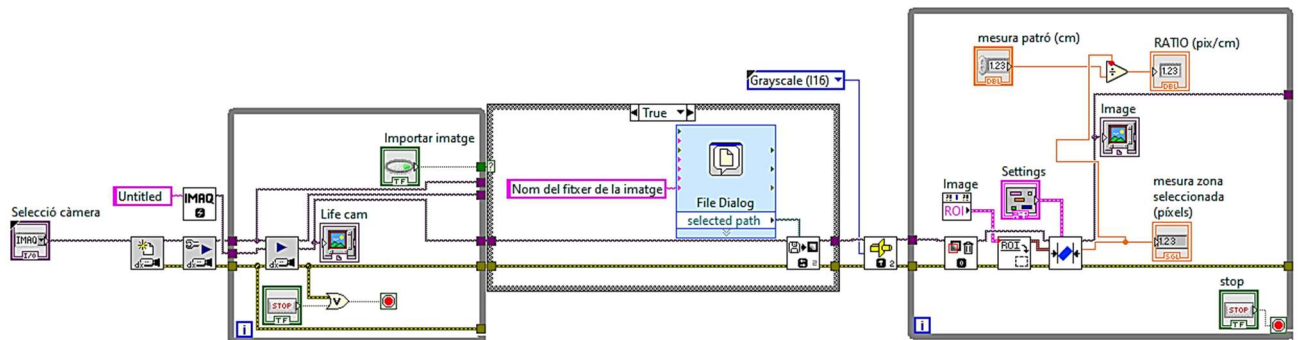


Figura - 26. Codi del programa 1.

La part inicial del programa, mostrada en detall a la Figura - 27, conté bàsicament els blocs de selecció i inicialització de la càmera. Després trobem el bucle encarregat de la realització de captures, en aquest tenim una finestra que ens mostra la imatge que està captant la càmera a temps real, anomenada *life cam*, el botó *stop* amb el qual es realitza la captura de la imatge que s'envia al posterior bucle de mesura i finalment el botó per seleccionar l'opció d'importar imatges.

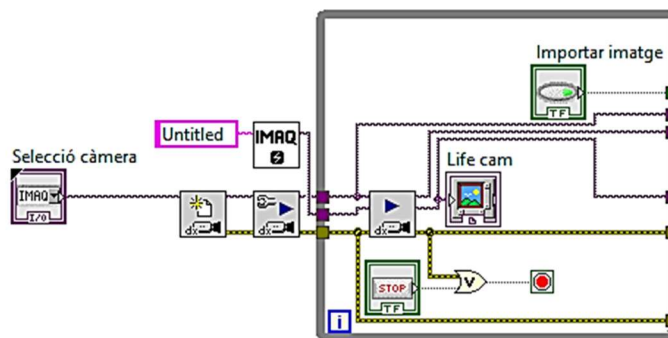


Figura - 27. Bucle inicial del programa 1.

En el cas de seleccionar l'opció d'importar imatges el programa procedeix a la realització del bucle a la Figura - 28. Quan s'activa l'opció, el bucle es troba en posició *true* i s'obre una finestra al programa que pregunta a l'usuari la carpeta d'origen de l'arxiu que vol importar. Per contraposició si no es selecciona l'opció, el bucle es troba en l'opció *false* i no realitza cap acció.



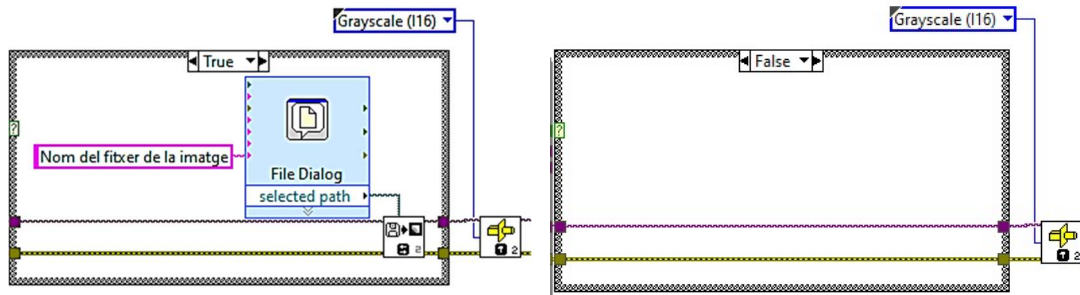


Figura - 28. Bucle per la importació d'imatges.

Posteriorment la imatge amb la qual estem treballant, sigui capturada o l'arxiu importat es transforma a *Grayscale 116*, ja que el paquet de mesura que s'utilitza requereix aquest format per poder realitzar les deteccions.

Una vegada completada aquesta primera part comença el bucle de mesura del programa, a la Figura - 29 es poden veure en detall tots els paquets emprats.

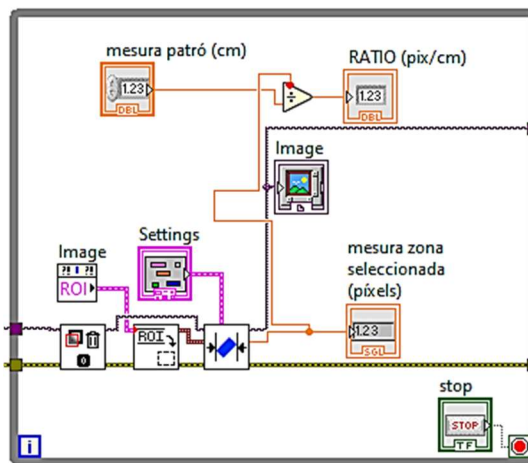


Figura - 29. Bucle de mesura del programa 1.

En aquest bucle primerament es selecciona la Region Of Interest "ROI" de la imatge, aquesta s'envia al paquet *IMAQ Clamp Horizontal Max VI*. Tant en el programa de calibratge com en el programa de mesura s'utilitza el mateix paquet per la realització de mesures, aquest localitza els eixos de la zona seleccionada i determina la distància horitzontal entre ells en píxels.

Finalment, amb l'objectiu d'obtenir la ràtio de conversió per poder dur a terme les mesures posteriors, el programa divideix la mesura obtinguda entre la mesura patró introduïda per l'usuari i s'obté la ràtio en píxels/centímetre necessària per al programa 2.

En el codi del segon programa, mostrat a la Figura - 30, es pot observar una part inicial similar al programa de calibratge. En el primer dels bucles trobem també la part encarregada de mostrar el que està captant la càmera i realitzar les captures, a diferència del programa 1 en aquest cas consta d'uns llums led anomenats *ledCaptura* i *LedMesura*. Quan l'usuari es trobi dins d'aquest bucle el *LedCaptura* es trobarà encès i el *LedMesura* es trobarà apagat. Per contraposició quan l'usuari hagi realitzat la captura i es trobi en el bucle de mesura el *LedCaptura* es trobarà apagat

i el *LedMesura* encès. Permetent així una millor comprensió de quin procediment s'està realitzant en cada moment de la mesura.

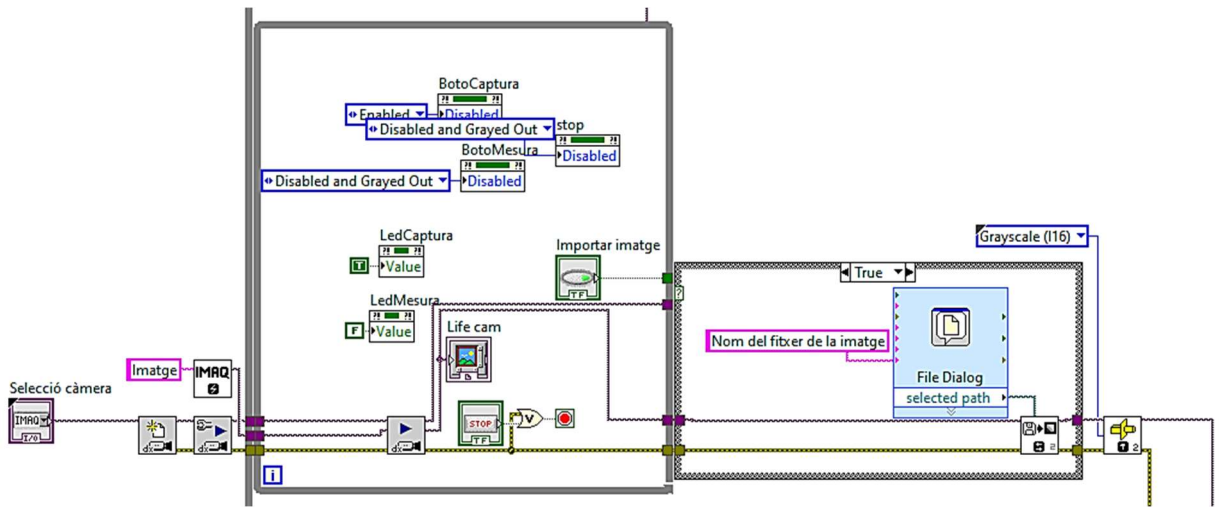


Figura - 30. Bucle principal del programa 2.

Seguidament del bucle de captura trobem també en aquest programa el bucle encarregat de definir l'origen de la imatge en el cas de seleccionar l'opció d'importar imatges, que segueix el mateix funcionament que el detallat al programa de calibratge. En acabar aquesta primera part la imatge amb la qual es vol realitzar la mesura es converteix a *Grayscale 116* per tal de tenir el format vàlid que el paquet de mesura requereix.

El bucle de mesura del programa 2 es troba detallat a la Figura - 31, en ell podem observar com primerament es selecciona la ROI i aquesta passa pel paquet de mesura *IMAQ Clamp Horizontal Max VI*, de la mateixa manera que al programa 1.

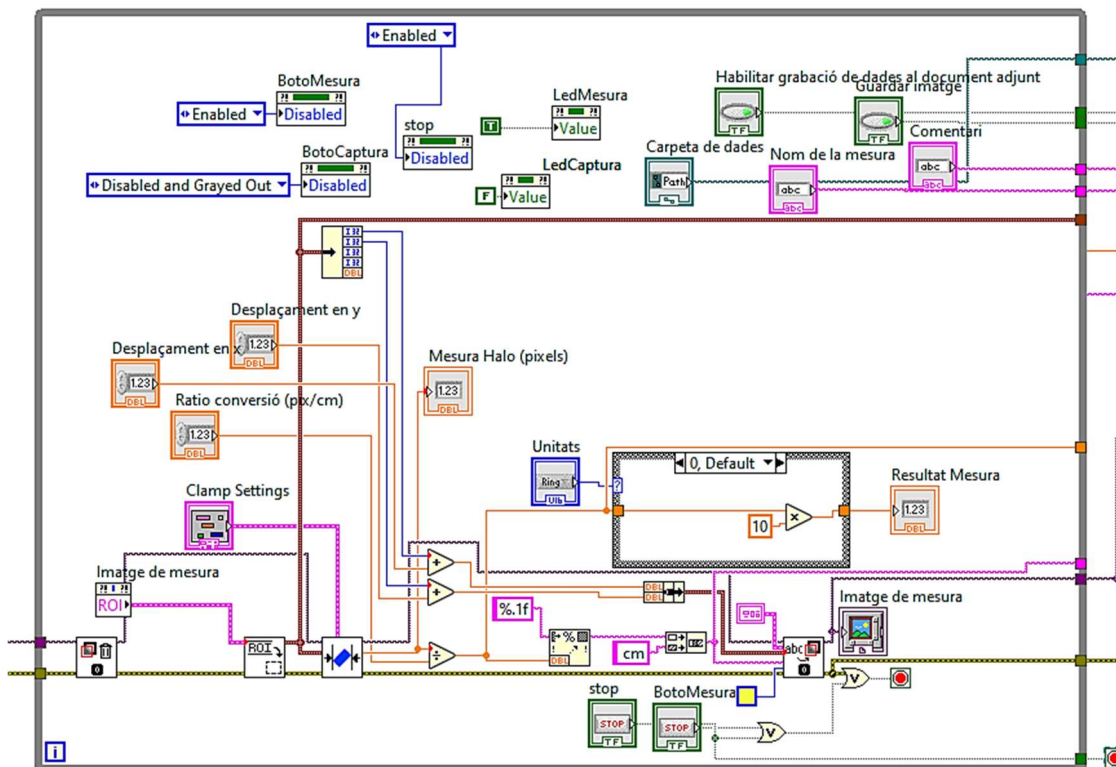


Figura - 31. Bucle de mesura del programa 2.

La mesura realitzada per aquest paquet es divideix entre la ràtio de conversió obtinguda amb el programa de calibratge i la mesura resultant passa per un bucle que permet especificar en quines unitats volem expressar el resultat final, que per defecte s'especificarà en centímetres, mostrat mitjançant el control *Resultat Mesura*.

També es construeix un *Stream* per tal que el resultat de la mesura expressat en unitats de longitud es converteixi en text i que aparegui tant en la imatge que s'està manipulant com posteriorment en la imatge que es gravi a l'ordinador. A aquest *Stream* s'inclouen controls que permeten desplaçar tant en l'eix X com en l'eix Y el text que apareix a la imatge al gust de l'usuari.

A la part superior del bucle es troben per una banda els *leds* indicadors comentats anteriorment, que faciliten que l'usuari sàpiga en quina fase del programa es troba, si en la captació d'imatges o en la mesura. D'altra banda també trobem els controls encarregats de la gravació de dades, que són, el botó d'habilitar la gravació de dades, el botó de guardar la imatge i els controls per afegir el nom de la mesura i comentaris i també per seleccionar la carpeta destí de les dades que es graven.

En el cas de seleccionar l'opció de guardar la imatge, el programa executa el bucle mostrat a la Figura - 32, en aquest es processa la imatge procedent del bucle anterior. Mitjançant el paquet *Merge Overlay* es superposa la imatge amb l'*overlay*, es a dir l'*stream* que conté la mesura en forma de text i es genera una nova imatge que ja no es pot separar del text que inclou i que es troba en format RGB32, aquesta serà la que es guardi en .jpeg a l'ordinador de l'usuari. Si aquesta opció no es selecciona el bucle es situa en posició *false* i el programa no realitza cap acció.

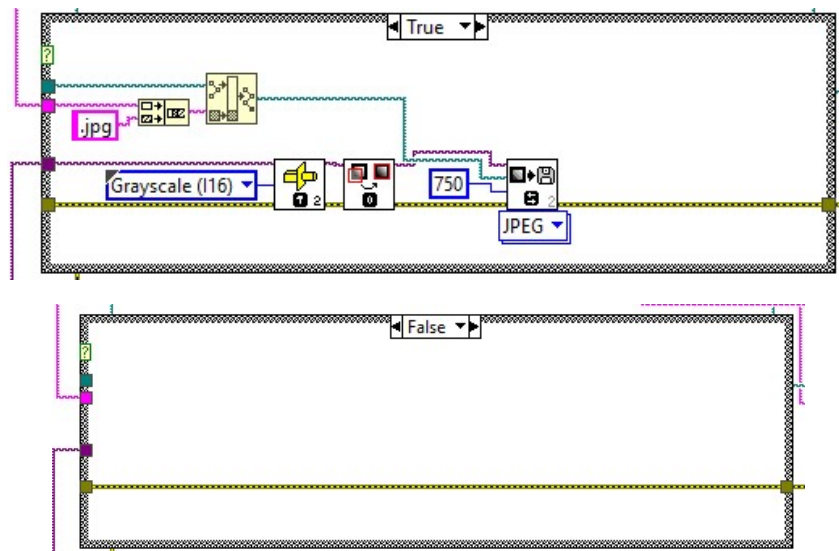


Figura - 32. Bucle per la gravació d'imatges.

Així doncs en el cas d'habilitar la gravació de les dades obtingudes en el procés de mesura el programa executa un altre bucle, mostrat també a la Figura - 33.

En aquest el procediment primer es realitza l'acció d'obrir un arxiu o en el cas que no existeixi crear un de nou i escriure les dades obtingudes en ell. Per a això es crea una matriu de dades mitjançant el paquet *Build Array Function* on a cada fila s'afegeix la informació desitjada, en el nostre cas s'escriu la data, l'hora, el diàmetre mesurat i el comentari afegit. Per l'obtenció de la

data s'utilitza el bloc Get Date Time. De la mateixa manera que al bucle de gravació d'imatges, en el cas de no seleccionar l'opció de guardar les dades el bucle es troba en estat *false* i el programa no executa cap acció.

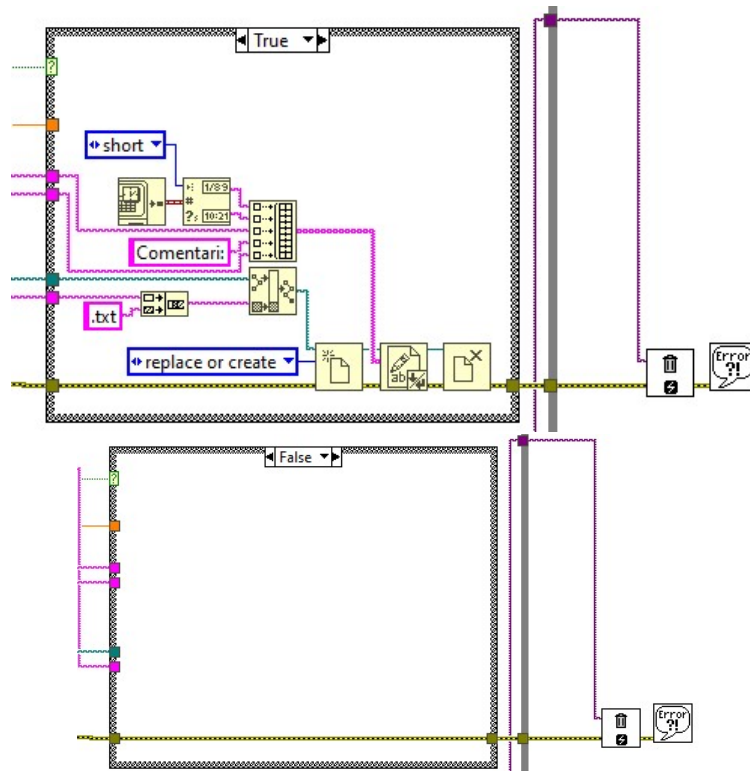


Figura - 33. Bucle per la gravació de dades.

## 12.2 DOCUMENTS COMPLEMENTARIS

Barreras García, G; Zayas Tamayo, A. M. (2019) 'DETECCIÓN DE AISLAMIENTOS CLÍNICOS DE STAPHYLOCOCCUS AUREUS RESISTENTE A METICILINA DETECTION', 50(2): 118–125.

EUCAST (2012) 'EUCAST: método de difusión con discos para el estudio de la sensibilidad a los antimicrobianos', *European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*.

Fagundo-sierra, R; Cerros-santos, M. A; Pérez-jáuregui, J. (2007) 'Evaluación del instrumento automatizado Phoenix en la identificación y antibiograma de bacterias de origen clínico', *Bioquímica*, 32(2): 39–48.

Giacopello, C; Foti, M; Passantino, A. (2012) 'Serotypes and antibiotic susceptibility patterns of Salmonella spp. Isolates from spur-thighed tortoise, Testudo graeca illegally introduced in Italy', *Human and Veterinary Medicine*, 4(2): 76–81.

Hernández, J. M; Llanes, C. P; Fabra, R. R. L. (2018) 'Basic principles of reading and understanding antibiograms for attending physicians', *Revista Habanera de Ciencias Médicas*, 17(4) : 603–619.

Hervé, B. (2015) 'Nuevas Tecnologías En Diagnóstico Microbiológico: Automatización Y Algunas Aplicaciones En Identificación Microbiana Y Estudio De Susceptibilidad', *Revista Médica Clínica Las Condes*. Clínica Las Condes, 26(6): 753–763. doi: 10.1016/j.rmclc.2015.11.004.

Idelevich, E. A; Sparbier, K; Kostrzewa, M; Becker, K. (2018) 'Rapid detection of antibiotic resistance by MALDI-TOF mass spectrometry using a novel direct-on-target microdroplet growth

assay', *Clinical Microbiology and Infection*. Elsevier Ltd, 24(7) : 738–743. doi: 10.1016/j.cmi.2017.10.016.

Malbrán, C.(2012) 'Metodo de determinación de sensibilidad antimicrobiana por dilución.', 32(2).

Perilla, M. J; Ajello, G; Bopp, C; Elliott, J; Facklam, R; Knapp, J. S; Popovic, T; Wells, J; Dowell, S. F. (2004) 'Manual de Laboratorio para la identificación y pruebas susceptibilidad a los antimicrobianos de patógenos bacterianos de importancia para la Salud Pública en el mundo en desarrollo. Haemophilus influenzae, Neisseria meningitidis, Streptococcus pneumoniae', *Centro para el control y la Prevención de Enfermedades: Centro Nacional para las Enfermedades Infecciosas.*, pp. 49–67.

SAMPAC (2008) "*Interpretación E Informe Del Antibiograma. Evaluación De Los Sistemas Automatizados En Los Laboratorios De Microbiología*".

Valverde Delgado, W. A. (2014) 'Diseño de un sistema de procesamiento de imágenes mediante programación de instrumentación virtual LabView': 1–125.

Zamudio-Chávez, O; Méndez-Tovar, S; Apodaca-Tomas, K; Cruz-Hernandez, M. (2017) 'Estudio de sensibilidad de fosfomicina en enterobacterias y microorganismos multidrogosresistentes de muestras de pacientes del Hospital General «Dr. Gaudencio González Garza» del CMN «La Raza»', 64(3) : 114–119.

Zayas Tamayo, A. M; González, L; Barreras García, G. (2019) 'Detección por el Sistema DIRAMIC cepas de Escherichia coli y Klebsiella spp productoras de Betalactamasa de espectro extendido Detection by the DIRAMIC system of strains of Escherichia coli and', 50(3) : 225–230.