



ESPE

UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS
INNOVACIÓN PARA LA EXCELENCIA

**DEPARTAMENTO DE ELÉCTRICA Y ELECTRÓNICA
CARRERA DE INGENIERÍA ELECTRÓNICA EN AUTOMATIZACIÓN
Y CONTROL**

**TRABAJO DE TITULACIÓN PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE
INGENIERO ELECTRÓNICO EN AUTOMATIZACIÓN Y CONTROL**

**AUTOR: NARANJO SILVA, JORGE LUIS
DIRECTOR: ING. JULIO LARCO**

SANGOLQUÍ 2016

TEMA

Diseño e implementación de un sistema para la contabilización automática de unidades formadoras de colonias bacterianas: coliformes, mesófilos aerobios, bacilos, estafilocos y levaduras usando técnicas de visión artificial



ANTECEDENTES

El laboratorio de Investigación de Biotecnología de la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE cuenta con tres contadores manuales de colonias bacterianas.

La precisión en el conteo de colonias bacterianas depende estrictamente de la concentración y visibilidad del operario.

En el laboratorio no se utilizan otros métodos de conteo u otras técnicas existentes en el mercado debido al alto costo que representan.



OBJETIVOS

General

- Diseñar y elaborar el software y hardware de un prototipo para la automatización del proceso de contabilización de unidades formadoras de colonias basado en técnicas de visión artificial utilizando LabView de National Instruments

Específicos

- Investigar los principios y conceptos fundamentales de la contabilización de unidades formadoras de colonias.
- Diseñar y construir el hardware que se adapte a las necesidades del proyecto.
- Desarrollar el software necesario para la automatización del proceso de contabilización de bacterias
- Analizar los beneficios de la implementación de un sistema automático para la contabilización de UFC en el laboratorio de Microbiología de la ESPE.



ESTADO DEL ARTE

Colonias bacterianas.

Principios y fundamentos de la siembra y contabilización de UFC.

Bacterias

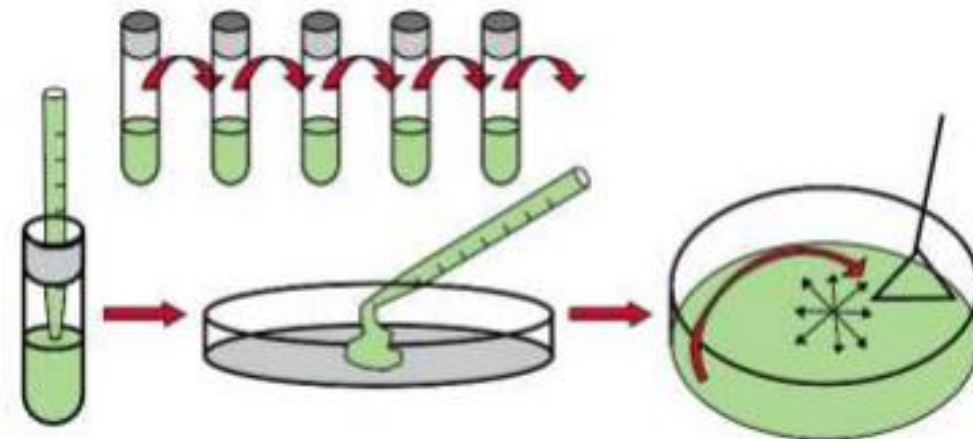
- Las bacterias son los organismos más abundantes del planeta
- Las células bacterianas tienen tamaños pequeños de menos de una micra hasta 10 micras de longitud y de 0.2 a una micra de anchura.
- Por sus características morfológicas se pueden distinguir los siguientes tipos: bacilos, cocos, helicoidales (Villem, 1996).

Este proyecto analizó específicamente cinco tipos de bacterias: coliformes, mesófilos aerobios, bacilos, estafilococos y levaduras.

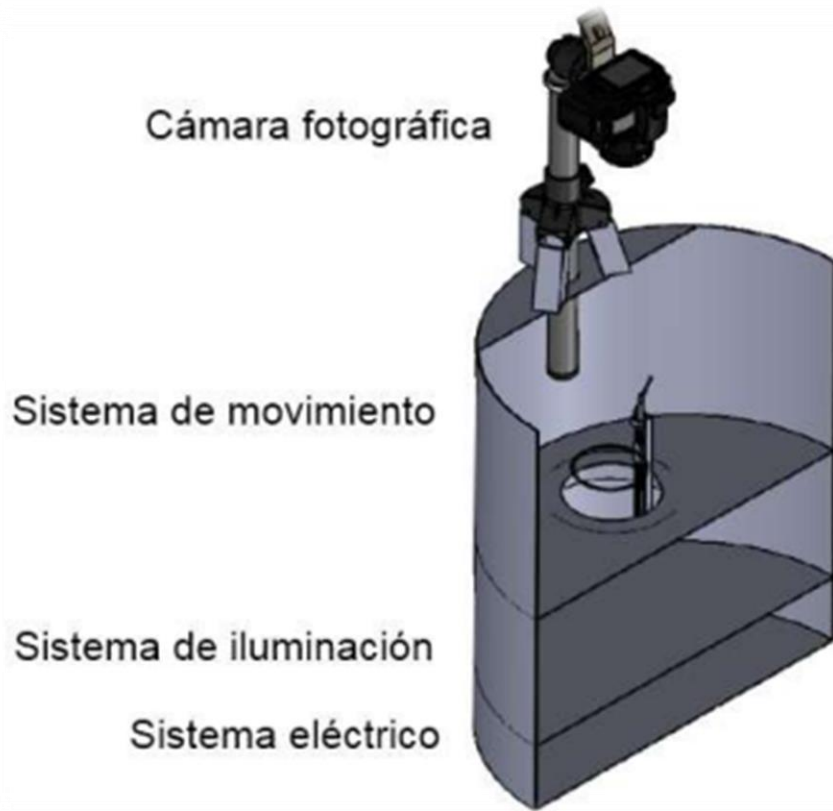


Siembra

- Se lleva una porción de una población de microorganismos de una muestra a un medio de cultivo nutritivo, donde se crean las condiciones necesarias para el desarrollo de los microorganismos.
- Medio de siembra: siembra utilizando el agar PCA conocido en inglés como *Plate Count Agar*.
- Métodos de siembra: siembra por extensión, utilizando la espátula de Driglaski.



DISEÑO DEL PROTOTIPO



Hardware

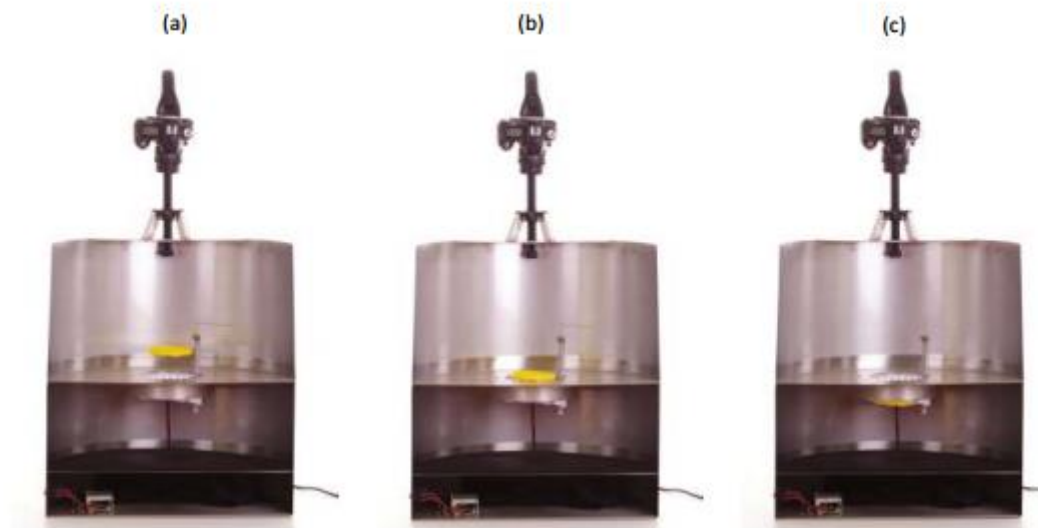


Software



ESPE
UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS
INNOVACIÓN PARA LA EXCELENCIA

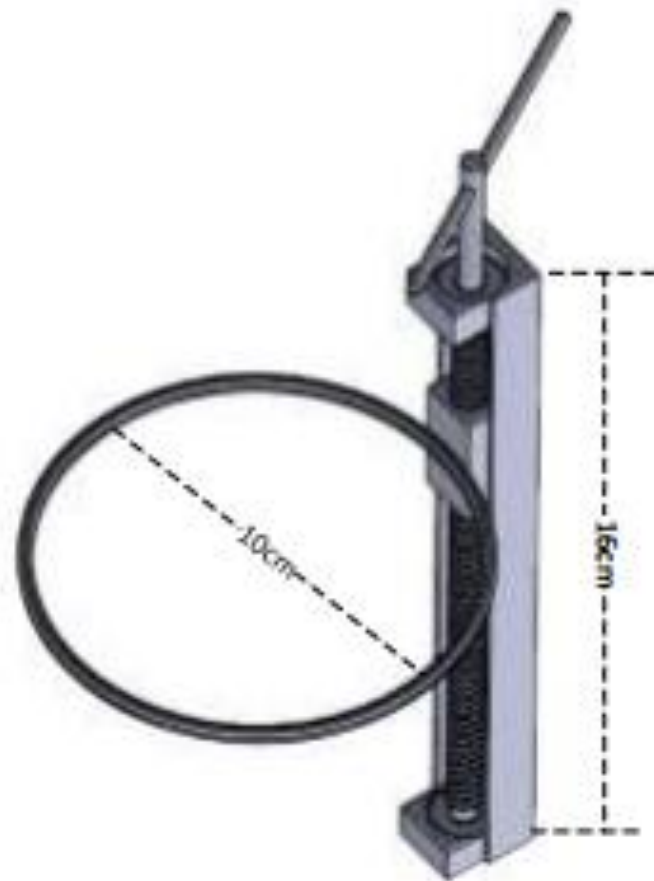
Hardware Iluminación



a) trasera difusa b) campo oscuro c) frontal

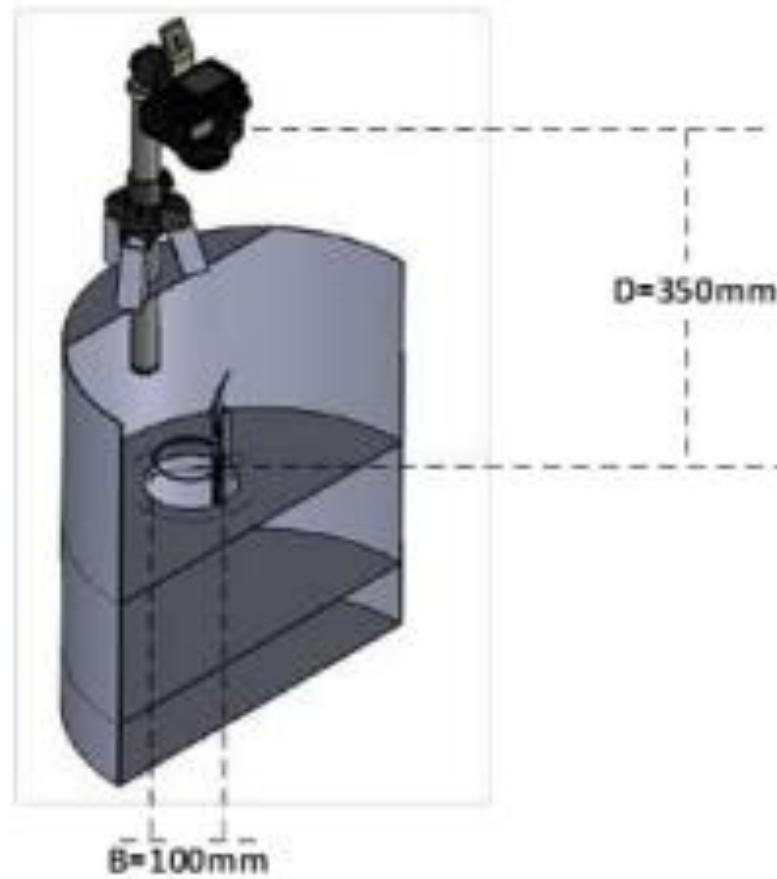
Hardware

Sistema de movimiento



Hardware

Cámara Fotográfica

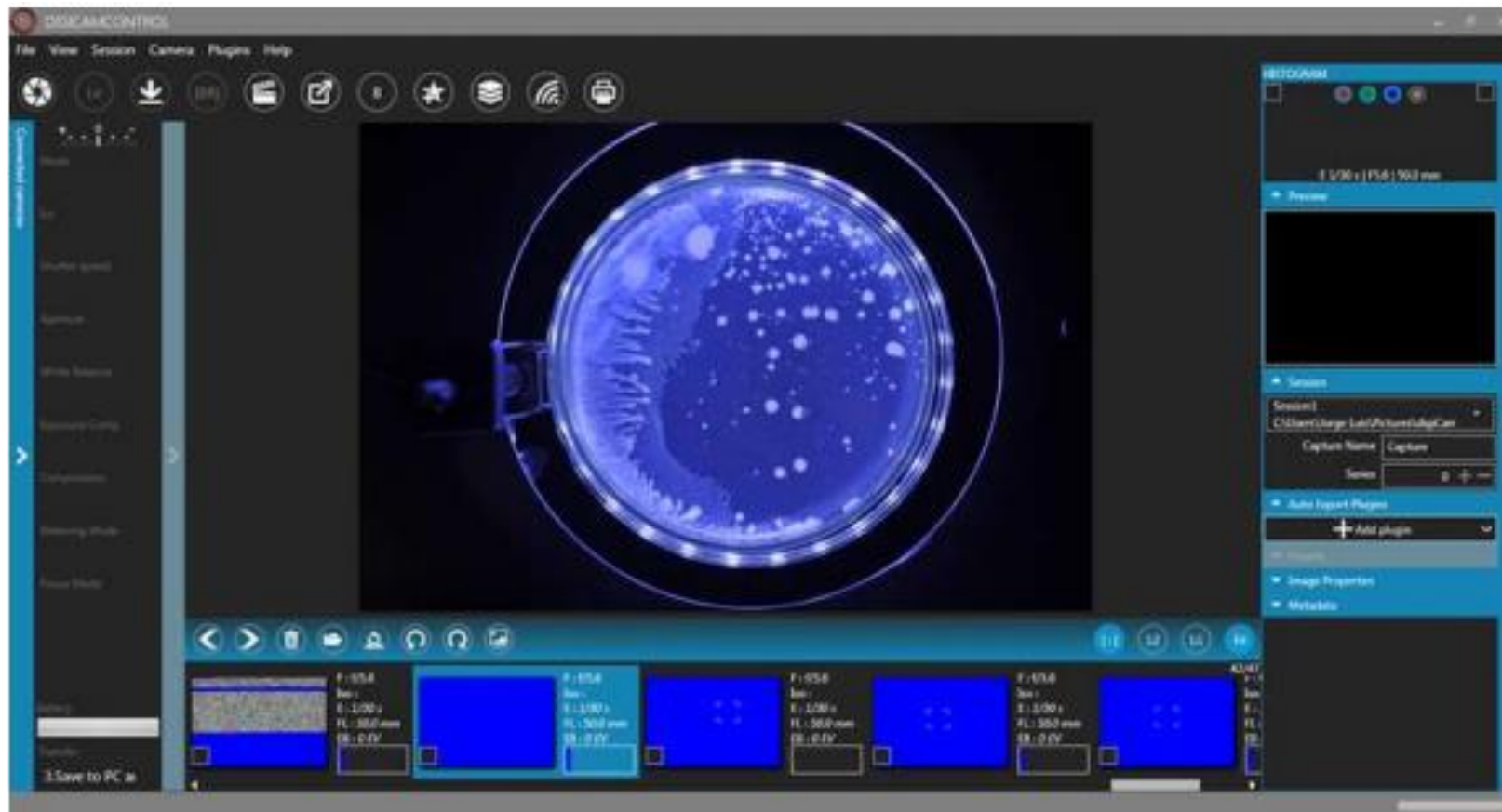


Software



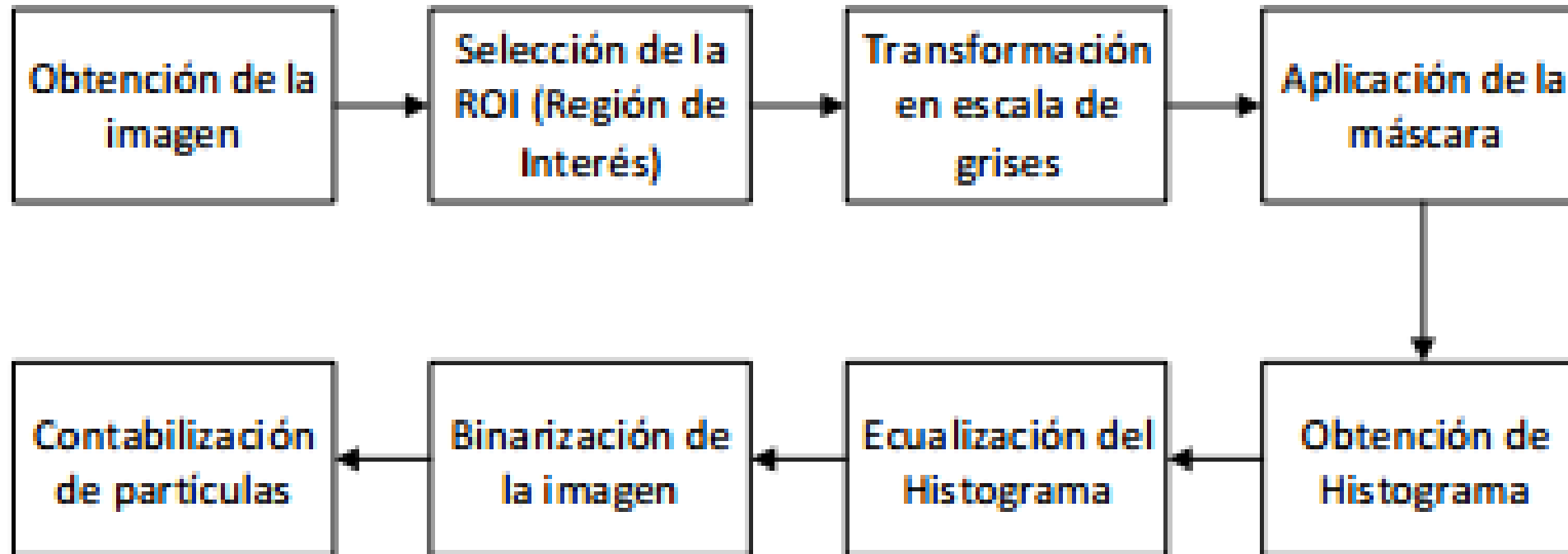
Software

Adquisición de la imagen



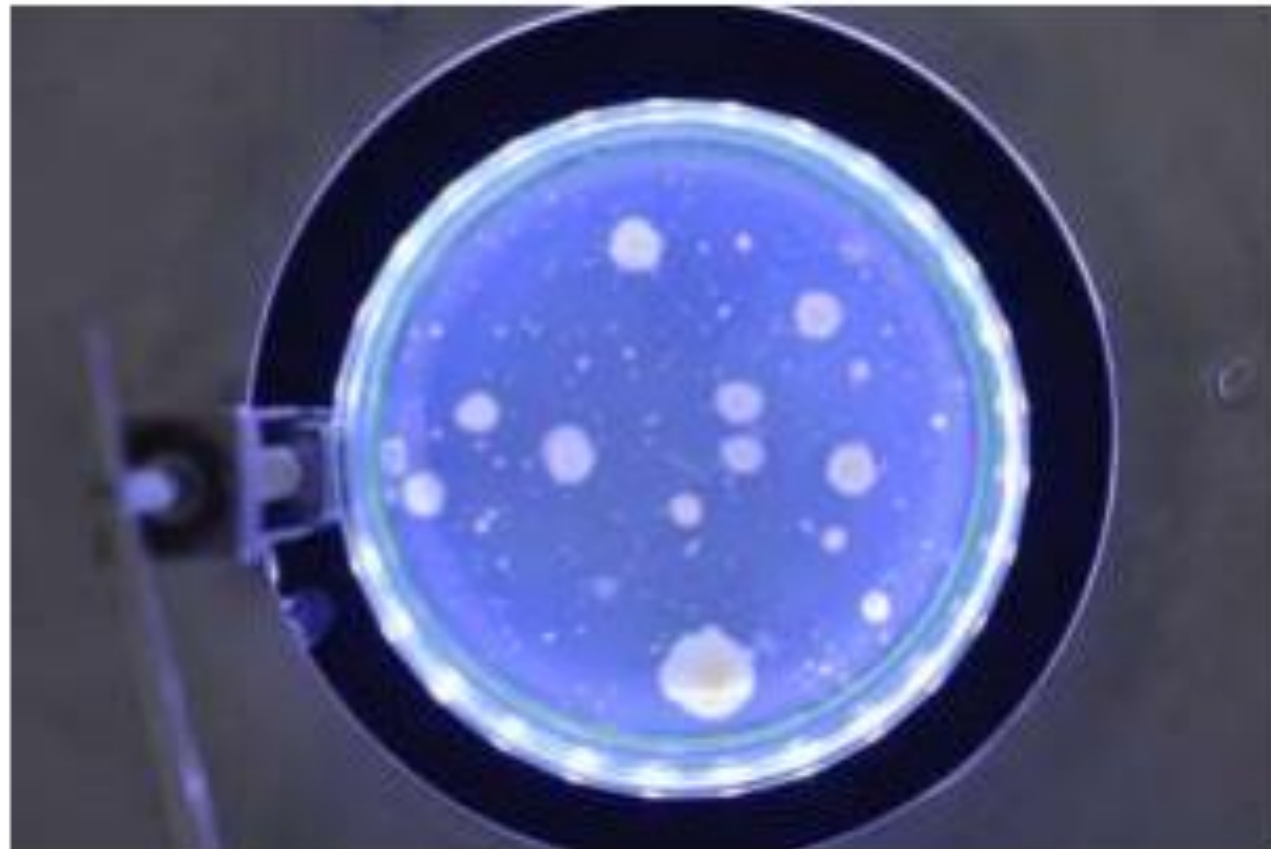
Software

Tratamiento de la imagen



Tratamiento de la imagen

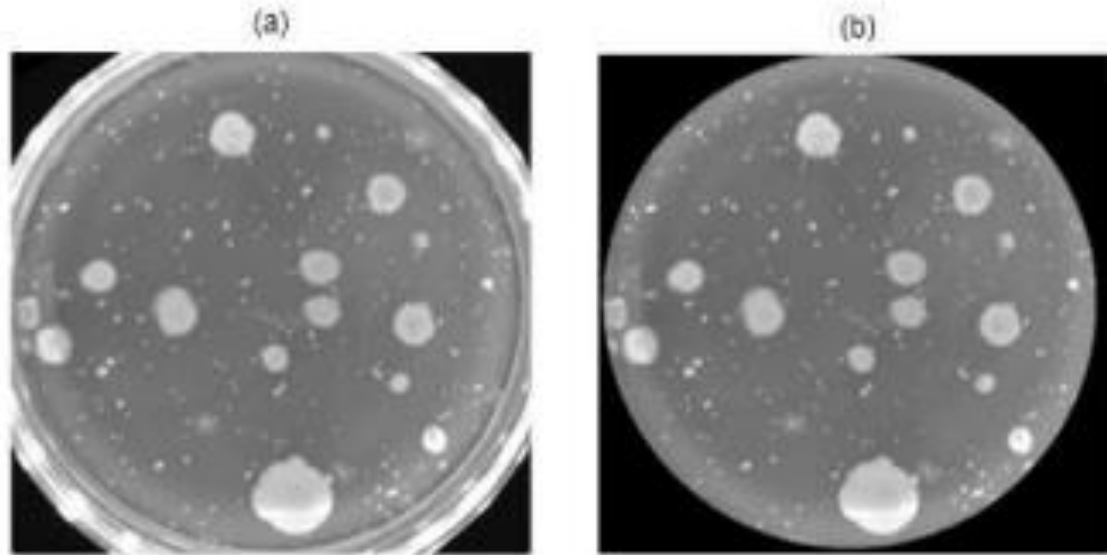
Selección de la imagen y delimitación del ROI.



ESPE
UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS
INNOVACIÓN PARA LA EXCELENCIA

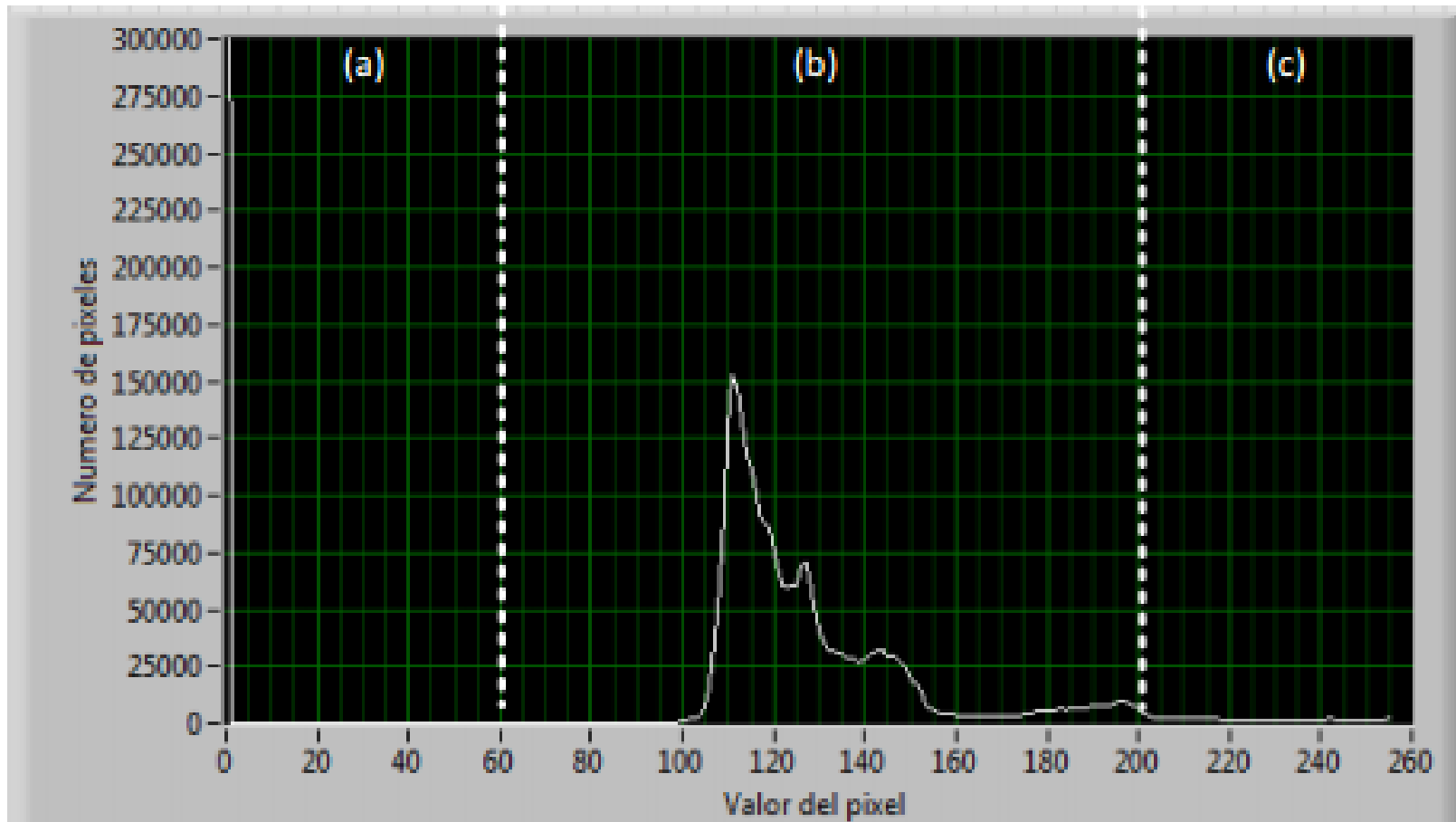
Tratamiento de la imagen

Escala de Grises.



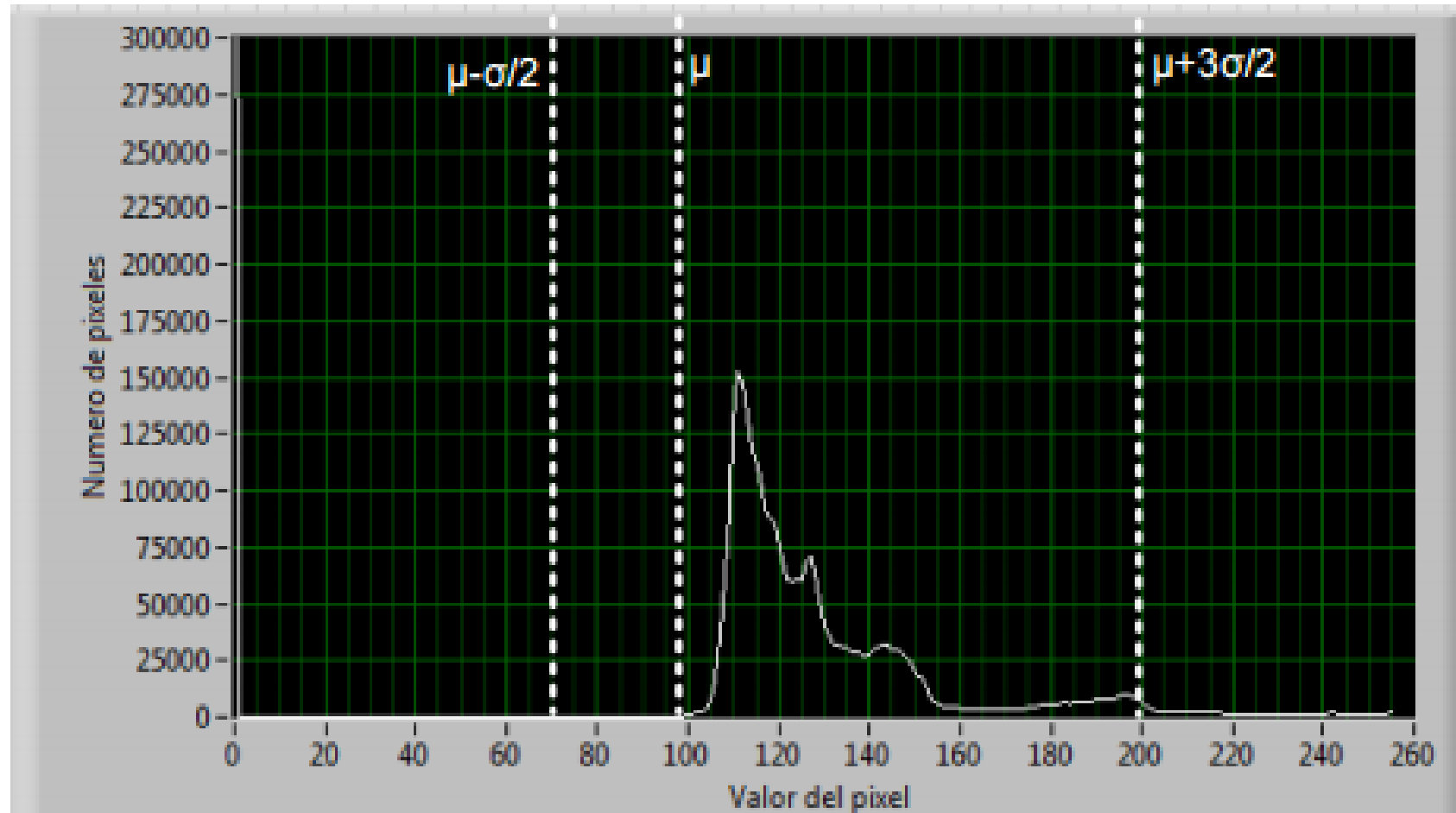
a) Imagen en escala de grises delimitada por el ROI, b) Imagen después de aplicar la máscara.

Tratamiento de la imagen Obtención del Histograma.



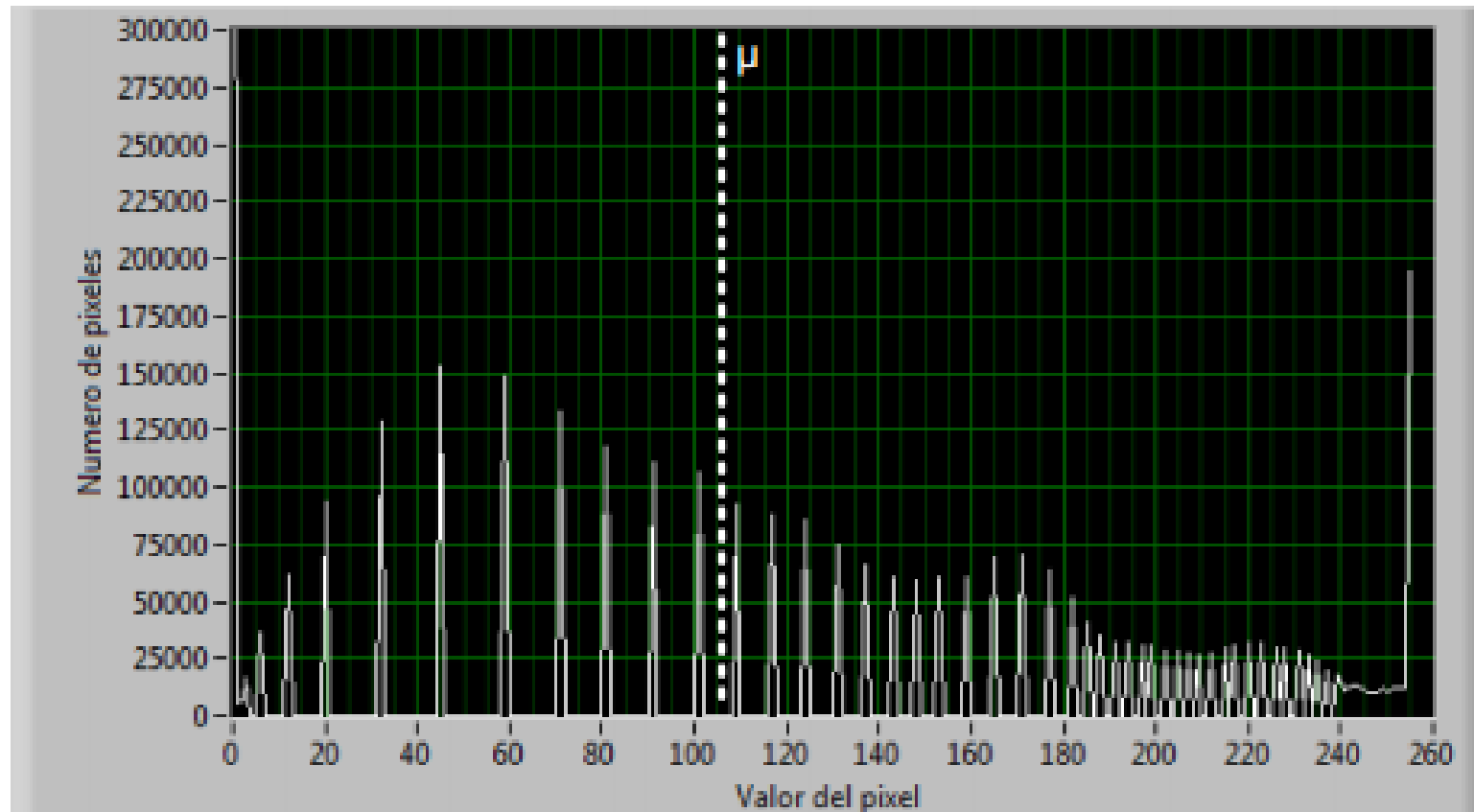
Tratamiento de la imagen

Ecuación del Histograma.



Tratamiento de la imagen

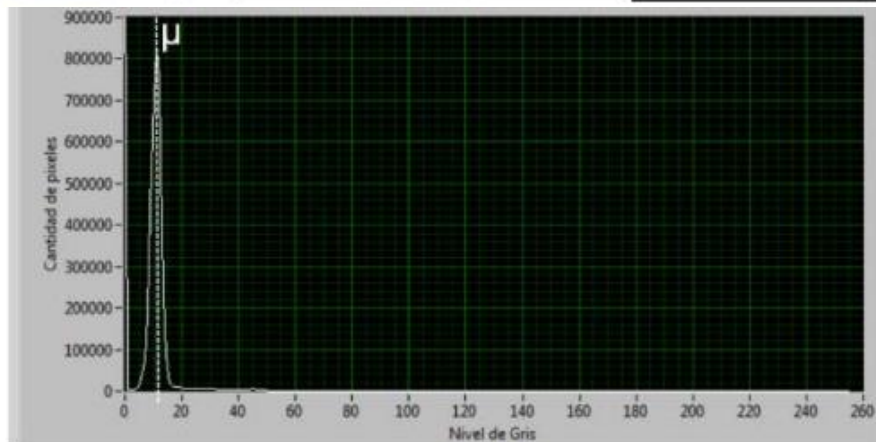
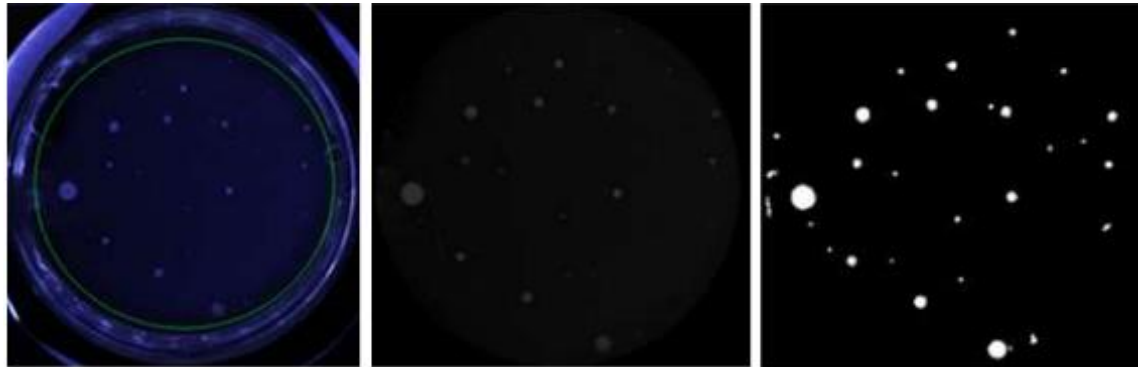
Ecuación del Histograma.



Tratamiento de la imagen

Binarización de la imagen.

IMÁGENES CON BAJA LUMINANCIA

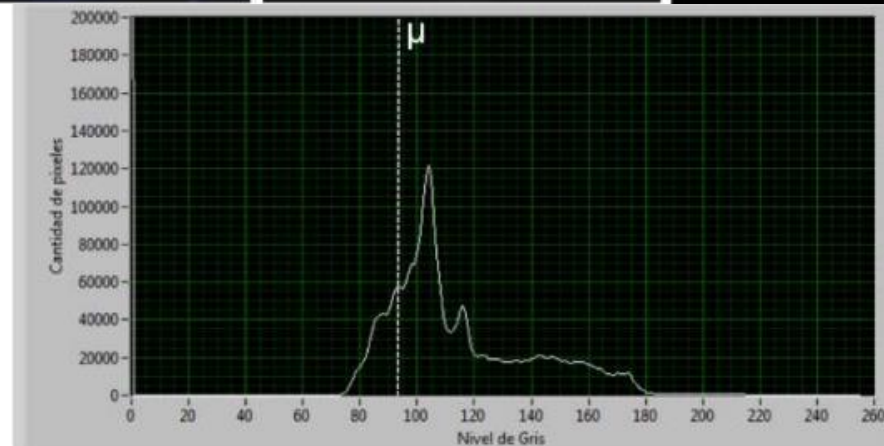
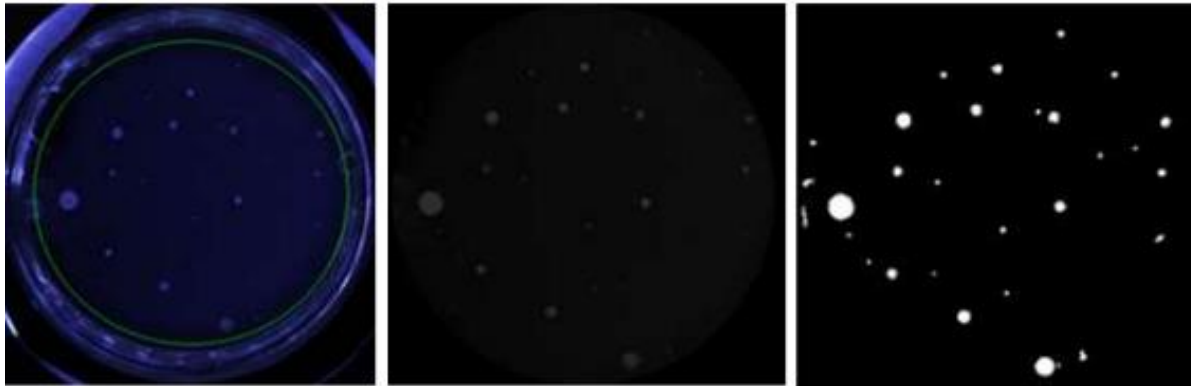


ESPE
UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS
INNOVACIÓN PARA LA EXCELENCIA

Tratamiento de la imagen

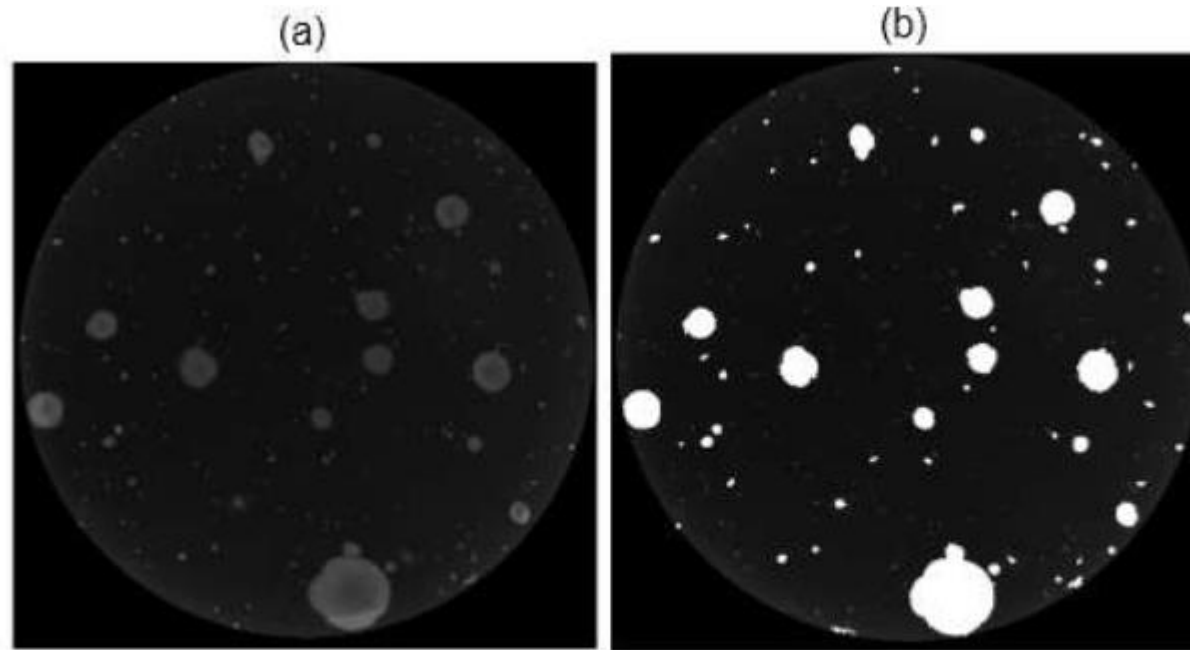
Binarización de la imagen.

IMÁGENES CON ALTA LUMINANCIA



Tratamiento de la imagen

Contabilización



Presentación de UFC contabilizadas a) Imagen original b) Imagen con UFC marcadas.

ANÁLISIS

OBTENCIÓN DE LA MUESTRA

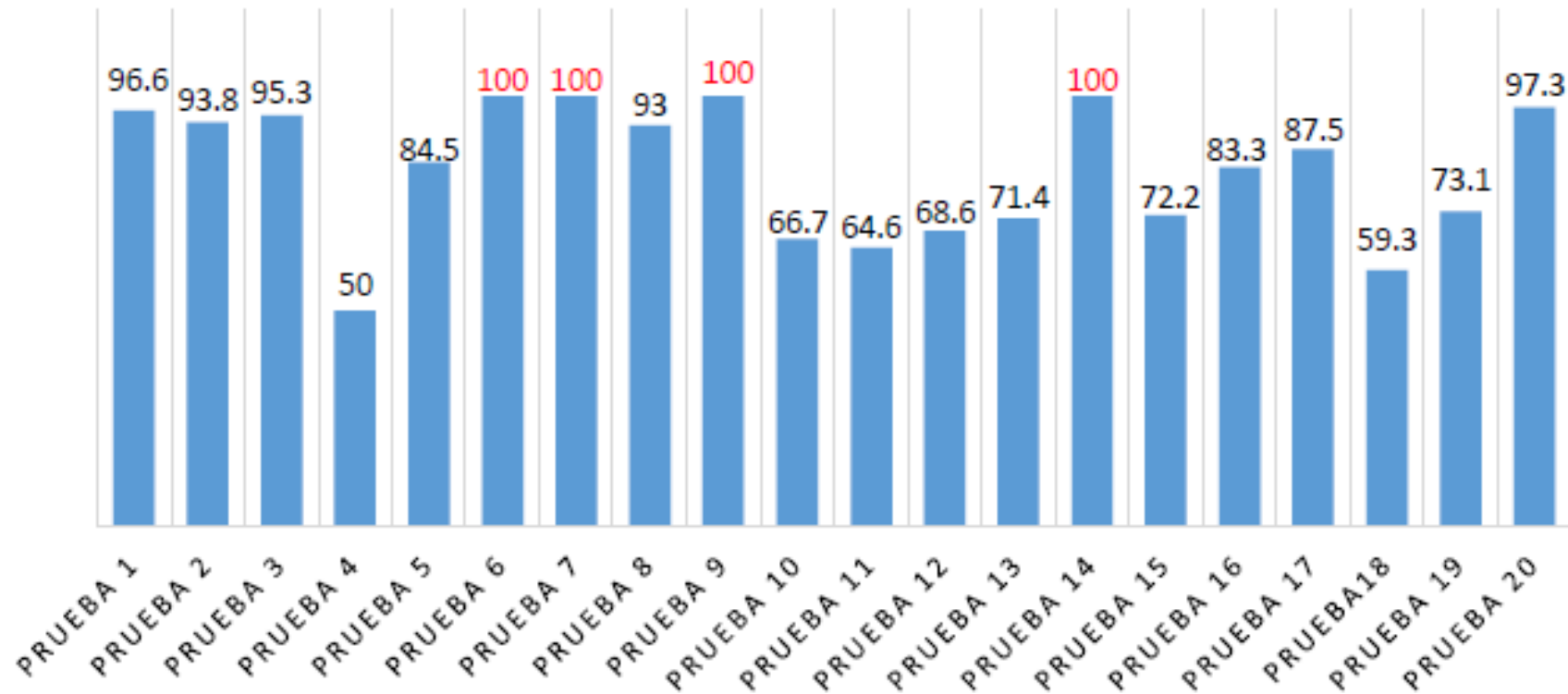
- Se sembraron cinco bacterias (coliformes, mesófilos aerobios, bacilos, estafilococos, levaduras)
- Siembra por extensión en agar PCA con un tiempo de incubación de 48 horas.
- El sembrado se lo realizó en dos ocasiones
 1. 16 UFC en cajas de Petri. (0 muestras óptimas)
 2. 60 UFC en cajas de Petri. (20 muestras óptimas)



ANÁLISIS

PORCENTAJE DE APROXIMACIÓN

■ Porcentaje



ANÁLISIS

El resultado experimental obtenido al utilizar el prototipo tuvo una aproximación promedio de 82.8% de precisión en el conteo, una moda del 100% de precisión, una mediana de 86.4% y una desviación estándar de 15.3, dando un rango de aproximación de 67.5% a 98.1%.

CONCLUSIONES

El tiempo que emplea el analista en el conteo manual de colonias bacterianas es en promedio 5 minutos, mientras que el roceso para contabilizar las UFC utilizando del software desarrollado en Labview toma en promedio 1 minuto

CONCLUSIONES

El proyecto es viable y funcional ya que satisface las necesidades del laboratorio.

El prototipo tiene un el promedio de aproximación entre el conteo manual y el automático de 82.8% lo cual muestra un alto grado de nivel de confianza.

RECOMENDACIONES

Las UFC deberán ser sembradas desde el centro hacia fuera utilizando el método de extensión con el triángulo de Driglasky para que se reproduzcan de manera homogénea sin llegar a los bordes de la caja.

Las cajas Petri donde son sembradas las UFC deberán tener su superficie limpia, sin residuos de pegamento, marcador o cualquier objeto que pueda Interferir

TRABAJOS FUTUROS

Optimización del método con diferentes valores de erosión, una cámara con mejor resolución, modificando los parámetros de captura de imágenes y una mejora en la siembra de UFC.

Automatizar la siembra en forma de espiral, permitirá que la muestra sea sembrada uniformemente desde el centro hacia sus extremos sin llegar a los bordes.

GRACIAS POR SU
ATENCIÓN