

Colony Counter Software

Studiengang: BSc in Elektro- und Kommunikationstechnik | Vertiefung: Embedded Systems

Betreuer: Dr. Horst Heck

Experte: Thomas Fankhauser

Im Labor des Instituts für Infektionskrankheiten (ifik) der Universität Bern werden bei Bakterienstämmen die Beta-Hämolysenfläche ermittelt sowie Bakterienkolonien auf Petrischalen ausgezählt.

Diese Analysen werden von Hand durchgeführt, wodurch sie sehr zeitaufwändig sind. Aufgrund der monotonen Prüftätigkeit schleichen sich auch unbeabsichtigt Fehler im Analysenresultat ein. Ziel der Thesis war es diese Arbeiten zu automatisieren.

Ausgangslage

In einer Bachelorthesis aus dem Jahr 2008 wurde eine Hardware und Software entwickelt mit welcher es möglich war Bakterienkolonien automatisch auszu zählen. Diese Hardware nutzte zum Beleuchten die Dunkelfeldbeleuchtung. Parallel zur Bachelorthesis «Colony Counter Software» wurde eine neue Hardware entwickelt welche günstigere Komponenten verbaut hat. Zudem liefert die neue Hardware hochauflösendere Bilder und bedient sich nebst der Dunkelfeldbeleuchtung der Durchlichtbeleuchtung.

Ziele

Nebst Erkennung der Beta-Hämolysen war ein Ziel die Bakterienkolonien automatisch zu zählen. Ein weiteres Ziel stellte die Unterscheidung von sich in der Farbgebung differierenden Bakterienkolonien dar. Des Weiteren wurde für die Software eine ausführbare Datei erstellt, so dass die Software auf bereits bestehenden PC's verwendet werden kann.

Bildgewinnung

Für die Züchtung der Bakterien wurde Blutagar als Nährboden verwendet. Dieser weist eine rötliche Färbung auf, wodurch bei einer Durchlichtbeleuchtung Inhomogenitäten zu beobachten waren. Durch diese Inhomogenitäten erwies sich für das Auszählen der Bakterienkolonien die Dunkelfeldbeleuchtung als besser geeignet. Für die Erkennung der Hämolysenflächen wurde die Durchlichtbeleuchtung genutzt. Für die farbliche Unterscheidung der Kolonien wurden beide Beleuchtungsarten getestet.



Bildverarbeitung

Aufgrund der umfangreichen Image Processing Toolbox wurden die Bildverarbeitungsalgorithmen in MATLAB geschrieben. Für die Hämolysenerkennung wurden zwei Ansätze in Betracht gezogen. Beim ersten Ansatz wurde das Bildmaterial vorverarbeitet, ein Gaussfilter angewandt, binarisiert und nach einer Distanztransformation die Wasserscheidetransformation zu Erkennung der Hämolysengrenzen eingesetzt. Beim zweiten Ansatz wurde das Bild morphologisch geöffnet, der Hintergrund abgezogen und die Hämolysenflächen konturiert. Für das Auszählen der Kolonien wurde die Hough-Transformation genutzt, hierbei wurden zusätzlich statistische Berechnungen durchgeführt um fälschlich erkannte Kolonien nicht mitzuzählen. Bei der farblichen Unterscheidung der Bakterienkolonien wurde das Bild in HSV-Format umgewandelt und die einzelnen Kanäle zur Klassifizierung näher betrachtet.

Ergebnisse

Aufgrund der Erfahrungen zeigte sich, dass für die Hämolysenerkennung die Kernpositionen mitbenötigt wurden.

Um die Hämolysenfläche zu erkennen wurden Durchlichtbilder genutzt und einer der beiden Ansätze. Im Anschluss wurden von den Dunkelfeldbildern die Kernpositionen ermittelt. Da für die Ermittlung der Kernpositionen der Algorithmus der Kernzählung benötigt wurde, verschob sich der Fokus von der farblichen Unterscheidung der Kolonien auf die Auszählung der Kerne. Bei der Farbunterscheidung konnten keine Erfolge erzielt werden da sich die Kolonien in der Farbgebung wenig voneinander unterschieden.

Datenausgabe

Um die Benutzerfreundlichkeit bei der Software zu gewährleisten ist eine grafische Benutzeroberfläche erstellt worden. Aufgrund des modularen Aufbaus der Software können spätere Erweiterungen und Optimierungen effizient implementiert werden.



Milan Andrejic
milan.andrejic@gmx.ch