

Automatisierte Auszählung von Bakterienkolonien

Bildverarbeitung / Prof. Dr. Werner Jenni, Prof. Dr. Urs Brugger
Experte: Hansjörg Klock, De La Rue International

Im Labor des Institut für Infektionskrankheiten (ifik) der Universität Bern wird das Modellbakterium *Streptococcus pneumoniae* (Pneumokokken) untersucht. Es ist ein häufiger Erreger von Blutvergiftungen, Hirnhautentzündungen, Lungenentzündungen sowie Mittelohrentzündungen beim Menschen. Um die Resistenz gegen verschiedene Antibiotika zu testen, werden diese auf Blutagarplatten, einem idealen Nährboden, gezüchtet. Die Platten müssen anschliessend von Hand ausgezählt werden. Dieser Vorgang ist sehr aufwendig und fehleranfällig. Ziel der Thesis war es, eine Methode zum automatisierten Auszählen der Bakterienkulturen mittels Bildverarbeitung zu entwickeln.

Ausgangslage

Die Auszählung der Bakterien soll auf einem PC System geschehen, damit vorhandene Ressourcen verwendet werden können. Die dazu benötigte Hardware und Software muss im Rahmen des Projektes evaluiert und erstellt werden.

Bildgewinnung

Die Bakterienkolonien werden auf einem Gel aus Blutagar gezüchtet, welches ein guter Nährboden ist, sich jedoch nicht zum Fotografieren eignet. Deshalb musste eine geeignete Bildgewinnung gefunden werden. Bei der Analyse der Kolonien stellte sich heraus, dass sie sich leicht von der Oberfläche abheben und dadurch mit einer Dunkelfeldbeleuchtung zum Vorschein gebracht werden können. Für die Bildaufnahme kommt eine Industrie-

kamera mit einer Auflösung von 3,3 Megapixel zum Einsatz. Mit dieser Auflösung lassen sich auch sehr kleine Kolonien noch detektieren. Die Bilder werden in MATLAB eingelesen und weiterverarbeitet.

Bildverarbeitung

Nun folgt der wichtigste Schritt, die Bildverarbeitung. Die Kolonien müssen bei der so genannten Segmentierung vom Hintergrund getrennt werden. Da das Aussehen der Bakterienkolonien sehr stark variieren kann, durchlaufen die Bilder einen mehrstufigen Algorithmus, der sich dynamisch an die Kolonien anpasst. Dabei werden bekannte Verfahren eingesetzt, unter anderem Local Thresholding, Watershed Transformation sowie diverse morphologische Operationen.

Bildanalyse

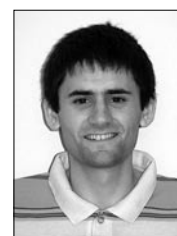
Je nach Bakterienstamm kommt es vor, dass mehrere Kolonien miteinander verschmelzen. Solche Gruppen können nicht alle bei der Segmentierung getrennt werden. Für diese Aufgabe wurde ein Bayesklassifikator trainiert, der anhand verschiedener geometrischer Merkmale die Gruppen als 2er-, 3er- oder Mehrfachkolonien klassifiziert. Dieses Verfahren wird der Mustererkennung untergeordnet.

Datenausgabe

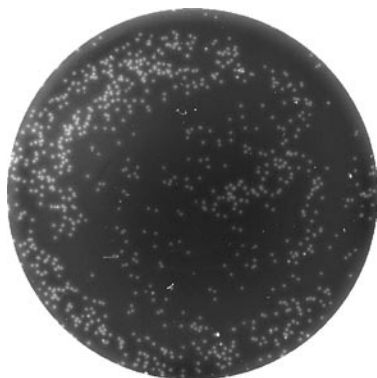
Um die Software möglichst benutzerfreundlich zu gestalten, wurde eine grafische Oberfläche erstellt, mit der eine Serie von Agarplatten gezählt und die Resultate ausgegeben werden können.



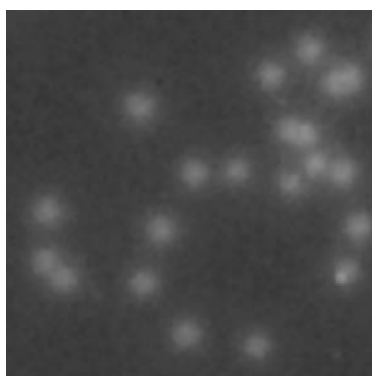
Christian Baumberger
1984
079 831 75 34
ch_baumberger [at] gmx.ch



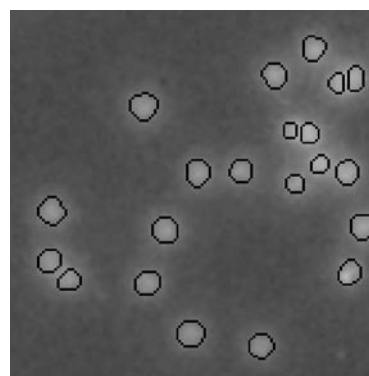
Marcel Jost
1983
079 705 79 51
marcel.jost [at] onsonic.ch



Agarplatte



Bildausschnitt mit Bakterienkolonien



Ausschnitt mit segmentierten Kolonien