

ÁLLATORVOSTUDOMÁNYI EGYETEM



Járványtani és Mikrobiológiai Tanszék

Élőcsíraszám-meghatározás mély neurális hálózatokkal

Counting of Colony Forming Units using deep neural networks

Készítette:

Fodróczy Bettina

V. évfolyam, állatorvos szak

Témavezetők:

Dr. Makrai László, PhD

ÁTE, Járványtani és Mikrobiológiai Tanszék, egyetemi docens

Dr. Solymosi Norbert, PhD

ÁTE, Bioinformatikai Központ, egyetemi docens

Budapest

2021

TARTALOMJEGYZÉK

Rövidítések jegyzéke	3
1. Bevezetés	4
2. Irodalmi áttekintés.....	6
2.1 Általános tudnivalók	6
2.2 Hardveres és szoftveres megoldások	6
2.3 Rövid áttekintés a neurális hálózatokról	9
2.3.1 A neurális hálózatok felépítése.....	9
2.3.2 A hálózat rétegei.....	9
2.3.3 Tanulási folyamat	10
2.3.4 Konvolúciós neurális hálózatok (CNN).....	12
2.4 A mesterséges intelligencia és CNN használata mikrobiológiai feladatokban	13
3. Célkitűzések.....	17
4. Anyag és módszer	18
4.1 A mikroorganizmusok tenyésztési folyamata	18
4.2 A képek annotálása	21
4.3 A konvolúciós neurális hálózat tanítása, szoftverfejlesztés	21
5. Eredmények	23
6. Megbeszélés.....	32
7. Összefoglalás	34
8. Summary.....	35
9. Irodalomjegyzék	36
10. Köszönetnyilvánítás	40

RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE

EEA: Környezetvédelmi Ügynökség (Environmental Protection Agency)

CNN: konvolúciós neurális hálózat (Convolutional Neural Networks)

CFU: telepképző egység (colony forming unit)

ml: milliliter

μl: mikroliter

TGE: TGE-leves (tripton-glükóz-élesztőkivonatot tartalmazó leves)

1. BEVEZETÉS

Mikroorganizmusok mennyiségi kimutatása tömeg- vagy térfogat egységre vonatkoztatva általános feladat a mikrobiológia területén, például élelmiszerhigiénében, infektológiában, vagy biológiai kutatásokban.

Módszertanilag ezt tenyésztési eljárásokkal lehet kimutatni, ami többnyire a szilárd táptalajokon képződő, szabad szemmel is látható telepek számának meghatározását jelenti [1]. Ez az élőcsíraszám-meghatározás, amely mindennapos feladat például az élelmiszerhigiéniai laborokban, ahol mikrobiológiai szennyezettségét az élelmiszereknek gyakran így mérik [2]. A legtöbb mikroorganizmus mesterséges viszonyok között táptalajon nem tenyészthető, mert a növekedésükhöz szükséges igényük nem ismert. Mikrobiológiai kutatások folynak ezen igények felderítésére, különböző hozzáadott anyagot tartalmazó táptalajt, valamint differenciáló táptalajt fejlesztenek, amely során az élőcsíraszámából következtetnek a táptalaj minőségére [3]. Továbbá a vakcinafejlesztés egyik fontos lépése az életképes baktériumtelepek számának és a fertőzőképes baktériumtelepek arányának mérése, mivel a vakcinában a fertőzőképes baktériumok bizonyos aránya szükséges ahhoz, hogy hatékony legyen. Ennek mérése során is élőcsíraszám-meghatározást végeznek [4]. Látható, hogy számos tudományterületen alkalmazott, nagy jelentőségű módszer, amely azonban rendkívül idő- és munkaigényes folyamat. A munkában rejlő monotonitás továbbá hibára hajlamosítja a feladatot végzőt. Az újabb módszerek fejlesztésének, vagy a hagyományos eljárás automatizálásának igénye régóta fennáll. Az új eljárásokkal szemben támasztott alapvető követelmény, hogy azok minél gyorsabban, több mintából, kevesebb munkával, olcsóbban és informatívabban adjanak eredményt [1].

A mikroorganizmusok megjelenése szilárd táptalajon egyszerű, viszonylag jól meghatározható, a telepek képről történő számlálásával kapcsolatban régóta folynak kutatások. Napjainkban a mesterséges intelligencia használata - azon belül is a neurális hálózat - számos tudományterületen meghatározó előrelépést jelent. A neurális hálózatok a humán idegrendszer működése által ihletett mesterséges hálózatok, amelyek szabályok vagy algoritmusok összessége [5]. Manapság a kutatók a mély tanulós neurális hálózatok használatával számos tudományterületen minden korábbinál jobb, pontosabb eredményt érnek el [6]. A képelemzés területén a konvolúciós neurális hálózatok (CNN) alkalmazhatók a legjobb eredményekkel [7].

A technológia fejlődésével nemcsak számítógépeink, hanem mobiltelefonjaink teljesítménye is nagy ütemben növekszik. Ráadásul egyre szélesebb körben, viszonylag

olcsón elérhetőek. Kutatásunkban a fejlődő technológia által nyújtott lehetőségeket kihasználva, olyan mély neurális hálózatokat alkalmazó algoritmust fejlesztettünk, amely képes lehet egy adott baktériumtenyészetéről okostelefon által készített kép alapján meghatározni annak élőcsíraszámát.

2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS

2.1 Általános tudnivalók

Az élőcsíraszám-meghatározás mindennapos feladatnak minősül a mikrobiológia területén. Széles körben alkalmazott, nagy jelentőségű módszer, fontos eleme a gyógyszerkutatásoknak [8–10] a mikrobiológiai kutatásoknak, vizsgálatoknak [11, 12], élelmiszerhigiéniai ellenőrzéseknek [13], de az infektológia, azon belül a vakcinafejlesztés nélkülözhetetlen pontja is [4]. Nélkülözhetetlen egyes fertőzések klinikai diagnosztikájában [14]. Az élőcsíraszám-meghatározás a mai napig manuálisan történik, melyet laboratóriumi dolgozók, kutatók, és biológusok végeznek. A telepszámlálási folyamatok azonban unalmasak, lassúak és hibákra hajlamosak [15]. Ráadásul a ráfordított nagy munkaerő és munkaidő költségessé teszi a folyamatot, ez visszaveti a kutatásokat, klinikai vizsgálatokat, és az állománydiagnosztikát, ugyanis a reprezentatív eredményhez megfelelő mennyiségű minta szükséges. Ennek a folyamatnak az automatizálása már régóta igény.

A jelenleg elérhető szakirodalomban számos hiányosság van a témát illetően, így dolgozatomban hiánypótló kutatás nemzetközi szinten is. Egyelőre nincs tudomásunk olyan mély neurális hálózatot használó algoritmusról, amely automatikusan képes lenne egy táptalajon kitenyésztett mikroorganizmusról készült kép alapján meghatározni annak élőcsíraszám-számát.

Mivel a megjelenése a telepeknek egyszerű, és jól meghatározható, képről történő számlálásukkal kapcsolatban régóta folynak kutatások [16]. A digitalizáció fejlődésével, az egyre jobb minőségű és mindenki számára elérhető kamerákkal, a számítástechnika robbanásszerű előrelépésével meglepő, hogy ezidáig nem született széles körben elterjedt megoldás [17].

Az ilyen számolási eljárások automatizálása azonban nem egyszerű feladat, mivel a háttér (táptalajt) szét kell választani az előtértől (telepektől), zajszűrést kell végezni, számolni kell az agar folytonossági hiányaival, benne a telepekhez hasonló kinézetű buborékokkal, fényvisszaverődéssel, a táptalaj tükröződésével, valamint a fényviszonyok változásával, az érintkező telepek szegmentálásával, és a telepek morfológiai változékonyságával [18].

Dolgozatomban kitérek számos olyan módszerre, amelyek idáig születtek.

2.2 Hardveres és szoftveres megoldások

Léteznek olyan módszerek, amelyek a hardveres megoldásokat alkalmazzák, nem indirekt képi alapon számolnak, hanem közvetlenül a Petri-csészék alapján. A számításhoz leképezik

a Petri-csészét egy szkennelvel. Egy fénycsövön keresztül bocsájtanak rá fényt, és ezt figyelik meg (pl. [19, 20]). Ezek a megoldások azonban nem automatizáltak, mivel a paramétereket manuálisan kell beállítani minden Petri-csészéhez. Jelentős hátrányuk továbbá, hogy speciális felszereléseket igényelnek.

A második csoportot, szoftveres megoldások jelentik, amelyeket a táptalajlemezekről készült digitális képekre alkalmaznak, például [21–23]. Ezek közül számos cikket jelentettek meg, nyílt forráskódú módszerekről. Vannak továbbá olyanok, amik önálló programként valósulnak meg, ezek képesek képfájlok analízisére [24–27], vagy pedig kiegészítenek egy már létező képfeldolgozó programot [28–30]. Az ilyen megközelítéseknek jellemzően nehézséget okoznak az agarban található műhibák, reakciók, buborékok, a telepek alakjának és színének változékonysága, és különösen az érintkező telepek elkülönítése.

A közelmúltban megjelent egy ingyenes és nyílt hozzáférésű telepszámláló szoftver, az OpenCFU [18]. Ez egy számítógépre fejlesztett program, mely alkalmas baktériumtelepek, vagy egyéb kör alakú objektumok automatizált számlálására. Rendelkezik egy kezelő felülettel, ahol manuálisan kell beállítani a feldolgozás paramétereit, valamint miután elvégezte a számlálást, a feltöltött képen kiemeli (bekarikázza) a számolásba belevett képleteket is. Az OpenCFU használatának előnye, hogy nagyon gyors, és sokféle képen működik, egyszerű paraméterbeállításokkal. Kifejezetten jó, hogy kevés hamis pozitív eredménnyel dolgozik. Habár, a szigorú kritérium miatt, miszerint körkörös alakzatokat vesz figyelembe, hajlamos alábecsülni a telepek számát és méretét. A felhasználónak óvatosnak kell lennie a telepek mérettartományának beállításában, amelyet manuálisan kell megadni a csúszka segítségével. Ha nagyon kicsi alsó sugárértéket választ, az OpenCFU sok hamis pozitív eredményt produkál, amellet, hogy érzékeli a zajt a Petri-csészén belül és kívül. A felhasználónak először különböző értékeket kell kipróbálnia a sugárra, hogy jó szegmentálási eredményt kapjon. Ezen értékek kiválasztása triviális lehet a szakértő felhasználó számára, de még akkor is sok próbálkozást igényel, ha különböző felbontású adatkészleteket kell értékelni. Az OpenCFU másik fő hátránya, hogy egyszerre egy képen futtatja le automatikusan a beállított paraméterekkel a számlálást. A felhasználónak manuálisan kell kattintania a ">" fülre, a következő kép feldolgozásához. Ez akadályozza a használatát nagyobb adatkészleteknél, még akkor is, ha a szegmentálás/számlálás általános paramétereit megfelelően be lehet állítani [4].

Látható, hogy a kiindulási pontunk, a folyamat automatizálása továbbra sem valósult meg.

Az OpenCFU problémáit megcélözva 2018-ban publikáltak egy cikket, az AutoCellSteg automatikus CFU/sejt analizáló szoftverről. Az első számú probléma úgy kerül orvosolásra kerül az AutoCellSeg alkalmazásban, hogy a felhasználónak csak egy kis és egy nagy kolóniára kell kattintania, ezzel a határértékek gyorsan és automatikusan beállításra kerülnek. Ezek az interakciók arra utalnak, hogy az AutoCellSeg nem teljesen automatizált [15], viszont lehetővé teszi azt, hogy egy nagy adathalmazon ugyanazon értékekkel automatikusan fusson [4].

Hazai kutatás is indult 2020-ban, Czeiszing Péter különböző baktérium és gomba levestenyészetek élőcsíraszámának meghatározására szolgáló digitális képalkotó eljárást fejlesztett és tesztelt [31]. Ennek módszertana alapvetően megegyezik az OpenCFU módszertanával. Számos esetben előfordult, hogy az algoritmus a képen szereplő telepeket helyesen felismerte és megszámlolta, így az általa produkált eredmény azonos / közel azonos lett a leszámolt adattal. Azonban számos hibaforrást is említ, amelyet nem tudott az általa kidolgozott algoritmus megoldani. Ilyen hibaforrás például a Petri-csésze oldalán tükröződő fénysáv, amelyet tévesen telepként értelmezett az algoritmus, vagy a túl apró telepek, melyeket nem ismert fel. Néhány esetben a szorosan egymás mellett helyezkedő telepeket egyként értelmezte a program, így azokat egybe számolva kevesebbet mutatott ki a leszámoltnál [31].

A CellProfiler egy másik népszerű nyílt forráskódú szoftver [32]. A közelmúltban [33] a CellProfiler-ben egyedi grafikus csővezetékét építettek a CFU-k észlelésére, számlálására és számszerűsítésére. Egy másik általánosan használt platform az ImageJ [34], amely Java alapú, és rendelkezik saját grafikus felhasználói felülettel. Cai és mtsai. optimalizált paramétereket, makróinstrukciót (több parancs kiadását egyetlen lépésben) biztosított, amely az ImageJ -vel együttműködve elemzi a telepformáló egységeket [28]. Priya Choudhry az ImageJ-ben kifejlesztett egy másik makróinstrukciót, amely az élfelismerő algoritmuson alapul [33]. A fő probléma az egyedi gyártású grafikus csővezetékek és makrók használatakor az, hogy előfordulhat, hogy nem teljesítenek jól a különböző képeken, és a felhasználónak mindig módosítania kell nemcsak a paraméterek értékét, hanem az érintett lépések számát és sorrendjét is. Mindazonáltal lehetővé teszi a végfelhasználó számára, hogy interaktívan válassza ki az objektum jellemzőit, és javítsa a kapott eredményt a grafikus felületen keresztül.

És végül, nagyon népszerűvé váltak a modern gépi tanulós megközelítések, a képről történő telepszámlálással kapcsolatban [4].

2.3 Rövid áttekintés a neurális hálózatokról

Napjainkban a mesterséges intelligencia használata - azon belül is a neurális hálózat - számos tudományterületen meghatározó előrelépést jelent. Az elmúlt évtizedben tapasztalható dinamikus fejlődés miatt ezen modellcsalád segítségével egyre több olyan probléma oldható meg, amely hagyományos algoritmikus módszerekkel nehezen volt kezelhető.

Az idővel összegyűlő hatalmas méretű adathalmaz, az egyre nagyobb teljesítményű számítógépek, valamint nyílt forráskódú programkönyvtárak hozzájárultak a gyors fejlődéshez [35]. A neurális hálózatok a humán idegrendszer működése által ihletett mesterséges hálózatok, amelyek szabályok vagy algoritmusok összessége [5].

2.3.1 A neurális hálózatok felépítése

Felépítésének köszönhetően képessé teszi a számítógépet arra, hogy a humán intelligenciához hasonló módszerekkel érjen el eredményt. A neurális hálózatok alapegységei – a biológiai idegrendszerhez hasonlóan – a neuronok, vagy más néven csomópontok. Ezek egy-bemenetű, több-kimenetű egységek [36]. A csomópont egy olyan hely, ahol matematikai művelet történik meg, hasonlóan az emberi agyban található neuronok esetében. A csomópont az előző kapcsolat alapján történő adat bevitelét egyesíti egy olyan együtthatóval, vagy súllyal, amely a csomópont szempontjából erősíti vagy csillapítja az adott bemenetet [37]. Három fő csoportba sorolhatók a neuronok: bemeneti, rejtett, és kimeneti neuronok. A bemeneti neuronok receptorként funkcionálnak, csupán a hálózatok bemenetei. Típusukban alapvetően eltérnek a többi neurontól. Egybemenetűek, egykimenetűek, nincs jelfeldolgozó feladatuk, kimenetük más neuronok meghajtására szolgál. A kimeneti neuronok a külvilág felé továbbítják az információt, míg a közöttük található rejtett neuronok bemeneteikkel, mind kimenetükkel kizárólag más neuronokhoz kapcsolódnak [38].

2.3.2 A hálózat rétegei

Az egyes csomópontok halmaza építi fel a hálózat rétegeit. A hálózatban egy szinten lévő neuronok alakítják ki a rétegeket, a rétegek összessége pedig a neurális hálózatot. Legalább három réteg áll rendelkezésünkre, bemeneti, rejtett és kimeneti réteg. A hálózat bemeneti rétege után az eredeti bemenetek megfelelően súlyozva érkeznek az első réteghez, ott bizonyos neuronokat aktiválva tovább lépnek a következő rétegekbe. Ez folytatódik egészen addig, amíg el nem érkezünk a kimenethez (lehet egy vagy több is) [37].

Az egyes neuronok közötti összeköttetés alapján a rendszert két fő csoportba sorolhatjuk: előre csatolt és visszacsatolt hálózat. Abban az esetben, ha a hálózat előre csatolt, akkor

szigorúan előremutató, a rétegek közötti kapcsolat nem vezet visszafelé, aciklikus. Visszacsatoltnak nevezünk egy neurális hálót, ha a topológiáját reprezentáló irányított gráf tartalmaz hurkot, vagyis egy réteg neuronjának a bemenete nem csak egy korábbi réteg neuronjának a kimenete lehet, hanem ugyanaz a neuron korábbi kimenete, vagy másik neuronnal azonos rétegen belüli kimenet vagy egy későbbi réteg neuronjának a kimeneti értéke [36]. A mesterséges neurális hálózatokat nem lineáris statisztikai adatmodellezéshez használhatjuk, ahol komplex kapcsolat és összefüggés létezik a bemenet és a kimenet között [37].

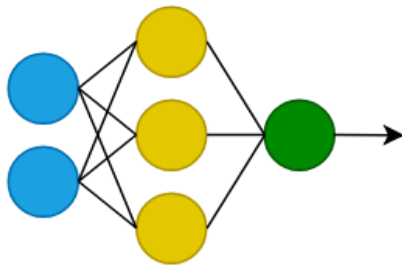
2.3.3 Tanulási folyamat

A neurális hálózatok egyik legfőbb jellemzője az adaptációs, tanulási képesség. Az adaptáció és a tanulás olyan fogalmak, amelyek alapján az élő szervezetek képességeit jellemzik; azt a képességüket, hogy viselkedésüket a környezetből nyert ismeretek, tapasztalatok felhasználásával módosítani, javítani tudják. A gépi tanulás során egy gép – a tanuló rendszer – a környezetéből nyert ismeretek alapján javítja a teljesítőképességét. A tanuló gépek konstrukciója valójában olyan algoritmusok kifejlesztését jelenti, melyek segítségével ez a teljesítőképesség-javítás automatikusan történik meg. Neurális hálózatoknál a minták alapján történő tanulás a jellemző, amikor az általában nagymennyiségű adatból akarunk megfelelő ismereteket kinyerni, és ezzel egy rendszer viselkedését módosítani [38].

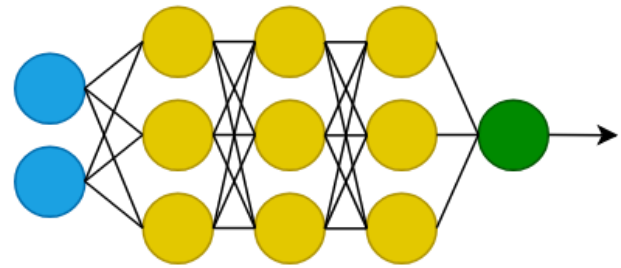
A gépi tanulás és azon belül a neurális hálózat képes a tanulási fázisban önmaga fejlesztésére, ezáltal pontosabb becslési hatékonyság megvalósítására. Amikor az információ keresztül halad a neurális hálózaton, a rendszer érzékeli az elvárt és tényleges kimeneti adatok között az eltérést, így változtatja a paramétereit. Minél több adat halad keresztül a hálózaton, annál pontosabb becslést biztosít a rendszer. Ezt nevezik a tanulás folyamatának. A mély tanulás olyan speciális megközelítés, amelyet a valós ideghálózatok leképezésére találtak ki. A neurális hálózat mélynek nevezhető, ha a bemeneti adatokat több

nem lineáris transzformáció segítségével alakítják kimenetűvé [37](1. ábra).

Egyszerű neurális hálózat



Mély tanuló neurális hálózat

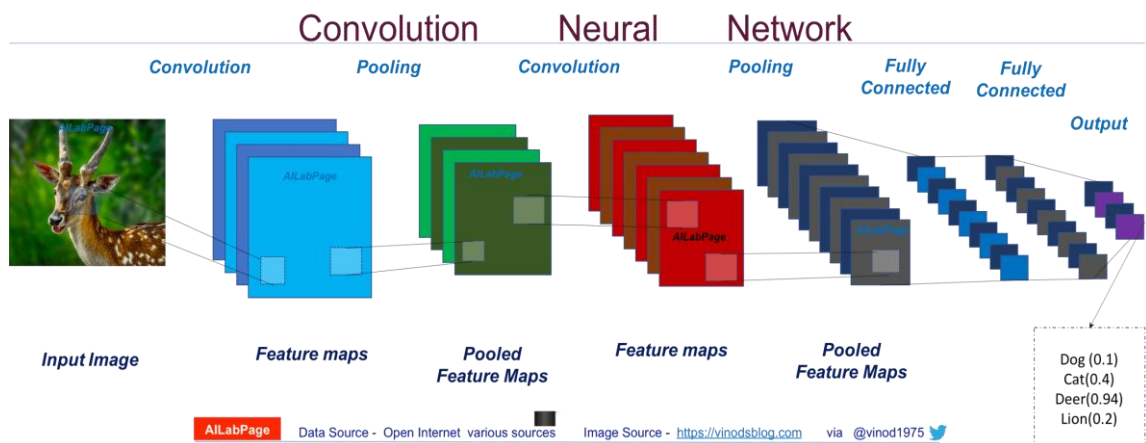


1. ábra: Egyszerű és mély tanuló neurális hálózatok topológiai összehasonlítása
<https://mesterin.hu/wp-content/uploads/2019/03/neur%C3%A1lis-h%C3%A1l%C3%B3zatok-m%C3%A9ly-tanul%C3%A1s-%C3%B6sszehasonl%C3%ADt%C3%A1s-mesterin.png>

Neurális hálózatokban döntően az ellenőrzött, vagy felügyelt tanulás, és a nemellenőrzött vagy felügyelet nélküli tanulás valamelyikével találkozhatunk. A fő különbség a kettő között, hogy a felügyelt tanulás esetén rendelkezésre állnak be- és kimeneti adatpárok, a tanulás során a neurális hálózat pedig arra törekszik, hogy minél jobban megközelítse az elvárt kimeneteket. A nem felügyelt tanítás során nincsenek kimeneti elvárt értékek, hanem általában a neurális hálózatnak kell valamilyen osztályozási feladatot megoldani, megtalálnia az adatok közötti kapcsolatokat, vagy a hasonlóságokat felderíteni [38].

2.3.4 Konvolúciós neurális hálózatok (CNN)

A konvolúciós neurális hálózatok, más néven CNN, a képfeldolgozáshoz és a megjelenítéshez használt mesterséges neurális hálózatok kategóriájába tartoznak, melyet az emberi látókéregre modelleztek [5]. A neurális hálózatok tanításánál kulcsfontosságú a rendelkezésre álló tananyag mennyisége. Minél bonyolultabb hálózatot építünk fel, annál nagyobb tananyagra is van szükségünk. Viszont ha a bemeneti anyagunk egy kép, akkor maga a bemeneti adat is rendkívül összetett lesz. Hiszen egy átlagos minőségű kép is rengeteg pixelből áll, és ha minden egyes pixelt egy bemeneti neuronként értelmezzük, olyan bonyolult rendszert kapunk, amelyhez nem lehet elegendő adatot gyűjteni. Ennek a problémának a megoldására hozták létre a CNN-t, ami a bemenetként megadott adatot nem egészében értelmezni, hanem részleteit szkenneli le. Egy réteg minden egyes egysége az előző réteg egy kis szomszédságában található egységek egy csoportjától kapja a bemeneteket. Ezzel a technikával a neuronok képesek kinyerni olyan vizuális jellemzőket, mint például orientált élek, végpontok, sarkok vagy hasonló vonások. Ezeket a jellemzőket aztán a magasabb rétegek kombinálják. A CNN két komponensből épül fel: az egyik a jellemzők rétege (feature maps). Ebben a részben a hálózat egy sor konvolúciós és csoportosítási műveletet hajt végre, amelyek során a jellemzők felismerése történik. Ha egy őz képét vennénk, ez az a rész az, ahol a hálózat felismerné az agancsot, a két fület és a négy



2. ábra: Egy konvolúciós neurális hálózat szerkezete (<https://vinodsblog.com/2018/10/15/everything-you-need-to-know-about-convolutional-neural-networks/>)

látat (2. ábra). A másik a klasszifikációs réteg. Itt a teljesen összekapcsolt rétegek klasszifikálóként szolgálnak a kivont jellemzők tetején. Megadják a valószínűség mértékét annak, hogy a képen lévő tárgy az legyen, amit az algoritmus megjósol [39]. A kiderített jellemzők alapján a megfelelően paraméterezett és tanított osztályozó rész képes a jellemzők

összességét vizsgálni és ezáltal a képen szereplő teljes képet értelmezni és osztályozni. A konvolúciós neurális hálózatok tanításához előre feliratozott adatfájlok szükségesek. A CNN használata forradalmasította például az objektumdetektálást, az arcfelismerés rendszerét [40], az önvezető autók irányítását [41], vagy az orvosi diagnosztikát [42].

2.4 A mesterséges intelligencia és CNN használata mikrobiológiai feladatokban

A konvolúciós neurális hálózatok jelenleg új kutatások tárgyát képezi a mikrobiológia területén. Ezen okból kifolyólag a szakirodalmi áttekintés, a téma összetettsége, és nagysága miatt, csak pár szegmens eredményeit fedi le. Ez azonban teret ad a jövőbeni kutatásoknak, valamint tanúbizonyságot tesz a kutatás aktualitásáról és nemzetközi igényéről is.

A mikrobiológiai képelemzés területén is a konvolúciós neurális hálózatok alkalmazhatók a legjobb eredményekkel. A felügyelet alatt történő betanításához szükség van egy tanuló és egy validáló készletre, ami nagy számú, manuálisan klasszifikált képet jelent. Ezek szolgálják a bemenetet. Az algoritmus minden egyes képet osztályoz, és összehasonlítja a pontosságát az emberi eredményekkel. A próbaidőszakban a konvolúciós neurális hálózat akár ezerszer vagy milliószor is módosítja a neurális hálózatok paramétereit a predikció pontossága érdekében. Amennyiben a tanítás során elérjük az elvárt pontosságot, az algoritmus készen áll a használatra. Vagyis a tanítás során nem használt képek klasszifikációjára, illetve a képeken objektumok detektálására. A tanuláshoz felhasznált anyag minősége kritikusan fontos egy nagy méretű algoritmus fejlesztéséhez. Optimalizált tanulási adat nélkül meglepő eredmények születhetnek.

A klinikai mikrobiológia szempontjából a képi alapú mesterséges intelligenciát használó értelmezés két fő típusai a kenetelemzés, és táptalajlemez elemzés. Utóbbi, számunkra releváns, magába foglalja az agarlemezekben való mikrobiális növekedés elemzését. Ezen a területen már léteznek nem mesterséges intelligenciát használó különböző megoldások, de még számos kihívás maradt a mesterséges intelligencia alapú élőcsíraszám-meghatározás automatizációjában [43]. Például egyes telepeket pontosan el kell határolni, meg kell különböztetni és számszerűsíteni kell. Ez számítástechnikai kihívást jelent, hiszen a telepek morfológiája, sűrűsége közegenként változik [44]. Továbbá a telepek nem mindig jól elhatároltak, mely nehézségeket okoz a pontos morfortípus megadásában. Technikailag azonban sokkal egyszerűbb kimutatni a telepek jelenlétét vagy hiányát, amikor a szegmentálás és a felsorolás nem szükséges. Tekintettel arra, hogy a mikrobiológiai laboratórium számos táptalaján nincs növekedés, a növekedés és a nem-növekedés közötti

megbízható mesterséges intelligencia alapú döntések hasznosak, hiszen nem igényelnek humán figyelmet.

Az első mesterséges intelligencia alapú technológiát két területen alkalmazták: vizeletben növvő organizmusok növekedésének vagy annak hiányának detektálása; és klinikai vagy járványtani szempontból nagy jelentőségű organizmusok jelenlétének kimutatása kromogén agar táptalajon, az indikátor szín megjelenése alapján [45–47].

A vizelet kultúra elemzése, beleértve a táptalajok értelmezését, valószínűleg az első tenyésztési típus, amely számos okból szinte vagy teljesen automatizálttá válhatott. Először is, a vizelet standardizált gyűjtőedényekben szállítható, amit könnyen feldolgoznak automatizált mikrobiológiai laboratóriumokban. Másodsorban, a vizeletben levő kórokozók jórészt előre meghatározhatók, így nem szükséges, hogy az összes előforduló organizmust számításba vegyünk. Valamint a kromogén agart használó eljárások további jelzéseket biztosítanak, ami a mesterséges intelligencia differenciáló képességét javítja a kórokozók között. Harmadsorban, kevert, sok kultúrát tartalmazó mintákban nem tipikusan szükséges a teljes, részletes felmérés, ami azt jeleníti, hogy a mesterséges intelligenciának csak a kevert kultúra jelenlétét kell felismernie, azontúl nem kívánt a megkülönböztetésük és kategorizálásuk [17].

Az első mély tanulási, konvolúciós neurális hálózatot alkalmazó megközelítést a telepszámlálásról 2015-ben tették közzé [44], amely jelentősen felülmúlt más módszereket. Robusztus méretű tanítási készletet hoztak létre, a képeket viszont nagy felbontású lineáris kamerával és többszörös megvilágítással készítették. A képeket szegmensekre osztották, egytől hatig, attól függően, hogy hány telepet tartalmaznak. Egy hetedik szegmenst is lehet alkalmazni, amely a port, szennyeződést vagy a buborékokat takarja. A szegmenseket tapasztalt operátorok jelölték, megfelelő grafikus felhasználói felülettel. A teljes adatbázis mérete mintegy 28500 kép. Kiemelkedő eredményük, hogy a 80-100 CFU-t tartalmazó táptalajokon pontosan meg tudták számolni a telepek számát, 92,8%-os pontosságot értek el egy nagy méretű adathalmazon., azonban a nagy sűrűségű táptalajokon, az összefolyó telepekkel nem tudtak megbirkózni.

Legutóbb, 2018-ban is teljesen CNN-t használó megközelítést alkalmaztak [48]. Itt a hálózatot közvetlenül a képekre alkalmazták, nem pedig a kép szegmenseire. Megközelítésük azonban nem számolta a kolóniák számát, hanem csak a háttérrel választotta el a telepektől, elkerülve ezzel a telepek összefolyásával kapcsolatos problémákat.

Megkerülték a hosszadalmas, nagy munkaidőt és hozzáértést igénylő annotálást, és egy új, mesterséges képgenerátort alkalmaztak. Ezzel olcsón tudtak előállítani egy nagy adathalmazt, amely a már teljesen annotált Petri- csészékről készült képeket tartalmaz. A generátor valóság-hű képek széles skáláját állítja elő, amelyek segítségével neurális hálózat tanítható. Az adathalmaz 119000 szintetikus képet tartalmaz véres agar lemezekről. Kiderült, hogy a csak mesterséges példákon képzett hálózat hasonló eredményeket ér el, a valós adatok felhasználásával összehasonlítva. Míg a teljesítmény jelentős javulása figyelhető meg, ha mindkét típusú adatot használják a tanításhoz.

Az Ilastik17 egy felhasználó-barát rendszer, amely a gépi tanuláson alapuló (bio) képelemzést jelentős számítástechnikai szakértelem nélkül teszi elérhetővé. Célja mind az adatok, mind a módszerek/paraméterek kezelése azáltal, hogy számos gyakran előforduló képelemzési problémát fogalmaz meg, az interaktívan felügyelt gépi tanulás mellett. Egy random forest osztályozót használ, hogy klasszifikáljon képképpontokat, a felhasználó által meghatározott osztályokba. 37 előre definiált funkciót kínál, amelyeket a felhasználó kiválaszthat az osztályozási folyamathoz [49].

Albaradei 2020-as publikációja alapján felfedezett egy alkalmazható módszert, a korábbi rendszerek hibáit figyelembe véve. A legtöbb teljesen automatizált technikát mély gépi tanulás segítségével fejlesztették ki. Jelentős probléma a mély gépi tanulás alkalmazásával erre a feladatra az, hogy nincsen elég nagyszámú betanításra használt képgyűjtemény. Ezért a Transfer Learning-et alkalmazták a telepképző egység számlálására. A Transfer Learning lehetővé teszi, hogy az egyik feladatra már betanított neurális hálózati modellt egy másik, de kapcsolódó feladatra alkalmazzák. Különösen az egyik feladattól származó nagy adathalmaz használatával kiképzett modell részben átképezhető egy másik feladattól származó kisebb adathalmaz használatával. Kísérletükben a Transfer Learning-modell alapjául a CSRNet mély gépi tanulós modelljét [50] használták, amelyet eredetileg az emberek számát hivatott megszámolni zsúfolt jeleneteket ábrázoló képeken. Kutatásuk azonban további bizonyításra szorul, annak felmérésére, hogy a modell mennyire képes általánosítani a különböző kísérletek során. Ezen kívül esedékesnek tartják további rétegek betanítását, amit több bemeneti adat gyűjtése előzne meg [15].

Wang és mtsai. a 2020-ban publikált munkájuk egy élő baktérium-detektáló rendszert mutat be, amely rendszeresen rögzít összefüggő mikroszkópos képeket a baktériumok növekedéséről egy 60 mm átmérőjű agarlemezen belül. A platform két különböző mély neurális hálózatot használ a működéséhez. Az első mély neurális hálózatot a baktériumok

szaporodásának mielőbbi kimutatására használják, a második mély neurális hálózatot pedig a növekvő baktériumok típusának osztályozására. A rendszer 30 percenként gyorsan átvizsgálja két külön agarlemez teljes területét, és „time-lapsed hologram”-os képeket használ a növekvő telepek lehető legkorábbi pontos észlelésére, osztályozására és számlálására. Ezeket a hologramokat elemzi az idő múlásával, mély neurális hálózatok segítségével, a baktériumok szaporodásának gyors kimutatására és a baktériumok osztályozására. Ez a rendszer lehetővé teszi az inkubált minta nagy teljesítményű időszakos megfigyelését egy 60 mm átmérőjű agarlemez 87 másodperc alatt történő szkennelésével, $<4 \mu\text{m}$ képfelbontással. A lemez minden nem statikus objektumának térbeli és időbeli jellemzőit folyamatosan elemzik, mély tanulás segítségével, hogy meghatározzák a baktériumok számát, és automatikusan azonosítsák az agarlemez különböző részein növekvő baktériumok típusát. Ennek a platformnak a hatékonyságát bizonyították azzal, hogy korai felismerést és három osztályozást hajtottak végre különböző baktériumokon. Az *Escherichia coli* és a coliform baktériumok (pl. *Klebsiella aerogenes* és *Klebsiella pneumoniae* subsp. *pneumoniae*) gyors kimutatását hajtották végre vízmintákban, ami 12 órával lerövidítette az észlelési időt a Környezetvédelmi Ügynökséghez (EEA) képest jóváhagyott módszerekkel összehasonlítva. A rendszer az előinkubálással, kevesebb, mint 9 óra alatt észlelte a kimutatási határértéket jelentő 1 CFU/L-t. Ez a platform rendkívül költséghatékony (~ 0,6 USD/teszt), és gyors, 24 cm²/perc szkennelési sebességgel rendelkezik a teljes lemezfelületen. Ez egy mély neurális hálózatot használó, automatizált és költséghatékony rendszer, amely nem igényeli szakértő figyelmét, és potenciálisan alkalmas lehet a manuális telepszámlálás leváltására [51].

3. CÉLKITŰZÉSEK

Napjainkban a technika fejlődésével mobiltelefonjaink egyre nagyobb teljesítményre képesek, mely felveszi a versenyt a számítógépekkel is. Szinte minden modellben alapvető elvárássá vált a nagy felbontású kamerarendszer. Ez arra ösztönzött minket, hogy nélkülözzük a számítógépek illetve különböző kamera- és fényrendszerek használatát, és egy mindenki számára elérhető megoldást biztosítsunk. Ebbe a szűk keresztmetszetbe illett bele a mobiltelefon. Első körben célunk egy kellően precízen és gyorsan működő algoritmus létrehozása, amely telefon által készített képeken képes az adott mikroorganizmus élőcsíraszámát meghatározni. Ezzel megalapozzuk jövőbeni célunkat: egy felhasználóbarát, mobiltelefonra fejlesztett applikáció létrehozását, amely a mély neurális hálózatok használatával automatizálja élőcsíraszám- meghatározást. Ez hasznos emberi munkaórákat szabadít fel a laboratóriumi munkák során. Az okostelefonra készült applikáció lehetővé tenné, hogy a világ bármely szegletén elérhető megoldás szülessen, és bárhová magunkkal tudjunk vinni.

4. ANYAG ÉS MÓDSZER

4.1 A mikroorganizmusok tenyésztési folyamata

Kutatásunkban 28 mikroorganizmus tenyészetéről készítettünk képes dokumentációt. 11 Gram-pozitív, 15 Gram-negatív, 1 sarjadzó gomba és 1 élesztő gomba képezte a vizsgálat tárgyát. Az adatbázis létrehozásához olyan fajokat választottunk, melyek által az okozott kórfolyamatok jelentős gazdasági kártételt okoznak a gazdasági haszonállat tartásban, vizsgálatuk kiemelkedően fontos az élelmiszerbiztonságban, vagy kisállatok gyógyászatában okoznak megbetegedéseket. A munka első szakaszában Czeising Péter korábbi kutatásához [31] készített képekből hoztunk létre egy tanítókészletet, majd azoknál a baktériumfajoknál, ahol szükséges volt még a tanítókészlet bővítése, további tenyésztést végeztem és annak eredményéről digitális fényképeket készítettem.

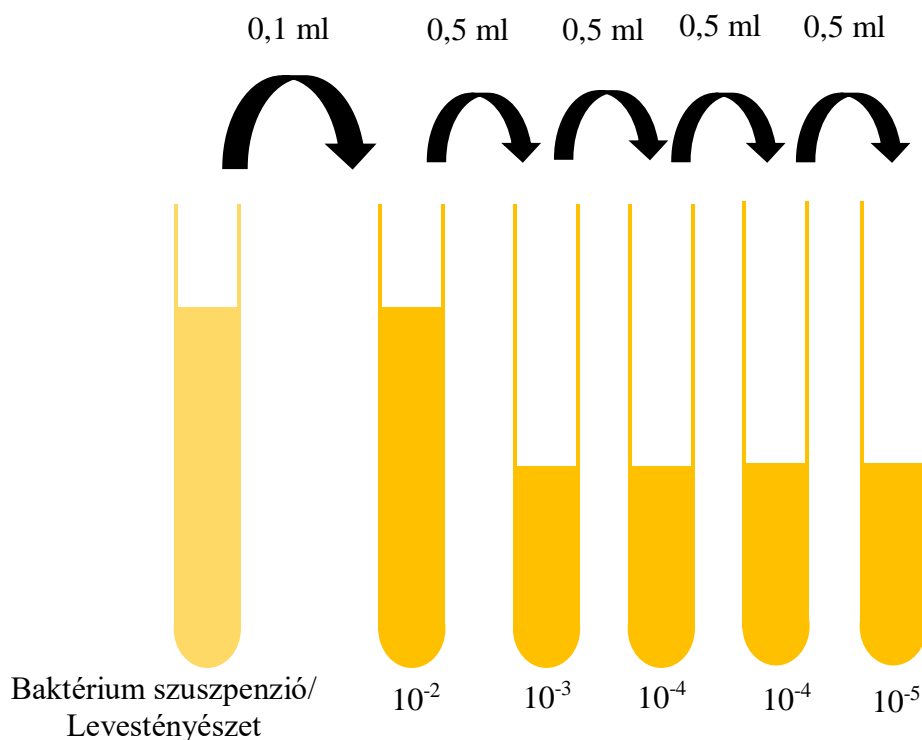
A baktériumok túlnyomó többségben nem tenyészthetők, pontos igényeik nem ismertek. Többségük kettéosztódással szaporodik, ami a populációt alkotó sejtek számának a növekedésével jár. Módszertanilag ezt tenyésztési eljárásokkal lehet követni, ami többnyire a táptalajokon képződő, szabad szemmel is látható telepek számának meghatározását jelenti [1]. A táptalajoknak a vízben és a különféle ásványi sókon kívül tartalmazniuk kell a szükséges tápanyagokat, vitaminokat és kiegészítő anyagokat, emellett izotóniásnak és megfelelő pH-júnak, továbbá sterilnek kell lenniük. A baktériumoknak a táptalajokkal szembeni igénye igen sokrétű, ennek megfelelően sokféle, változatos összetételű táptalajt használunk [52].

A szilárd táptalajon növekedő baktériumtelep a szilárd táptalajra oltott baktérium egy-egy sejtjéből alakul ki. Azonban előfordulhat, hogy a sejtek összetapadnak, és több sejtből képződik egy telep, ezért az eredményt nem sejt/g (ml) mértékegységben adjuk meg, hanem a telepképző egység angol nevéből (colony forming unit) CFU/g (ml) mértékegységet használunk. A telepszám meghatározása csak bizonyos határok között végezhető kellő pontossággal (a telepszám 30-300 között). 30 alatti telepszám esetén a mikróbaszám Poisson eloszlást követ, 300 felett pedig bizonytalanná válhat a számlálás az összefolyó telepek miatt, és megnő a valószínűsége annak, hogy egynél több mikróbából fejlődik ki egyetlen telep. Ezért a mikróbaszámot hígítással, esetleg koncentrációval kell beállítani.

A mikroorganizmusok kioltását a Járványtani és Mikrobiológiai Tanszék Bakteriológiai Laboratóriumának törzsgyűjteményéből, -80 °C-ról. A tenyésztés és szélesztés folyamata az egyes baktériumfajokhoz szükséges inkubációs időtől függően öt vagy hat napot vett igénybe. Figyelembe véve az adott mikroba igényeit különböző táptalajokat használtunk

(közönséges agar, véresagar, MacConkey agar). Az egyes Petri-csészékről fehér illetve fekete háttérrel is készítettem képeket, annak érdekében, hogy szűkebb megkötésektől mentes legyen az algoritmus.

Az első nap -80°C -on tárolt mélyhűtött törzsekből oltottam a megfelelő táptalajra, majd szélesztettem. A második napon az ebben kinőtt baktériumtelepekből párat átoltottam egy másik táptalajra, szintén szélesztettem. Az eddigi lépésekre azért volt szükség, hogy az esetleges szennyeződés (más faj) elszaporodását meggátoljuk, így biztosan a kívánt baktérium- vagy gombafaj került tenyésztésre. Majd a harmadik napon a baktériumokat bakteriológiai kaccsal TGE-levesbe oltottam (tripton: 5,0 g; glükóz: 1,0 g; élesztőkivonat: 2,5 g; víz: 1000 ml). Az alapsuszpenzióból ezután egy tízes alapú hígítási sort készítettem. A steril hígító oldatból (fiziológiás konyhasó oldat) aseptikus körülmények között 9,9 ml-t valamint 4,5 ml-t kémcsövekbe adagoltam. Az alapsuszpenzióból először 0,1 ml-t pipettáztam a 9,9 ml steril hígító oldatot tartalmazó kémcsőbe, majd a szuszpenziót alaposan homogenizáltam (-2. hígítás) (3. ábra) [53]. Ebből a szuszpenzióból 0,5 ml-t adtam a 4,5 ml fiziológiás konyhasó oldatot tartalmazó kémcsőbe. Így létrejött a -3. hígítás. A folyamatot a kellő hígítási fokig, általában -5. hígításig végeztem.



3. ábra: 10-es alapú hígítási sor

A hígítási fokokat úgy kell megválasztani, hogy telepszámlálás esetén a várható telepszám 30 és 300 közé essen. A hígítási sor kellő homogenizációját követően a legnagyobb hígítástól kezdve 50 µl-t mértem hígításonként egy-egy táptalajra, és szélesztettem (előzetesen alkohollal történő, majd láng felett sterilizált) üvegbottal. Ezt követően 37 °C-on történő 24 órás inkubáció következett. A negyedik napon ellenőriztem a telepsűrűséget, ekkor megállapítható volt, melyik hígítási fok felel meg a 30-300 telepszámnak. A megfelelő hígítási fokkal rendelkező kémcsőből annyi táptalajra oltottam ki a mikróbát, ahányat az algoritmus pontos működéshez előzetesen kikalkuláltunk. Az adott baktériumfajtól függően 24 illetve 48 órás inkubációs idő következett, majd digitálisan dokumentáltam a Petri-csészéket. Két féle telefont használtam a fényképezéshez, hogy változatos tanítókészletünk legyen. A fényképek készítésekor figyeltem arra, hogy azonos távolságból, és jó fényviszonyok mellett készüljön a digitalizáció. További szempont volt, hogy a kamera lencséje párhuzamos legyen a Petri-csészével.

A képeket az adott mikroorganizmusra vonatkozó kóddal láttam el.

Bacillus cereus: 01; *Paenibacillus larvae*: 02; *Staphylococcus aureus*: 03; *Staphylococcus hyicus*: 04; *Streptococcus agalactiae*: 05; *Listeria monocytogenes*: 07; *Erysipelothrix rhusiopathiae*: 08; *Rhodococcus equi*: 09; *Clostridium perfringens*: 10; *Trueperella pyogenes*: 11; *Corynebacterium pseudotuberculosis*: 12; *Escherichia coli*: 13; *Salmonella enterica*: 14; *Serratia marcescens*: 15; *Histophilus somni*: 16; *Glaesserella parasuis*: 17; *Actinobacillus pleuropneumoniae* (II. bt.): 18; *Pasteurella multocida*: 19; *Bibersteinia trehalosi*: 21; *Brucella ovis*: 22; *Pseudomonas aeruginosa*: 23; *Klebsiella pneumoniae*: 24; *Proteus mirabilis*: 25; *Bordetella bronchiseptica*: 26; *Actinobacillus equuli*: 27; *Candida albicans*: 28; *Malassezia pachydermatis*: 29; *Aeromonas hydrophila*: 31.

4.2 A képek annotálása

Ezután az annotáció, azaz az egyes baktériumtelepek konkrét megjelölése következett. Ezt a COCO Annotator (<https://github.com/jsbroks/coco-annotator>) nevű, web-alapú képmegjelölő eszközzel végeztem (4. Ábra).



4. ábra: Bejelölt baktériumtelepek a COCCO Annotator rendszerben.

A 4. ábrán látható az annotáció folyamata a program segítségével. A bal oldali menüsorban különböző kijelölő eszközök láthatók, melyek közül a kutatásunk során mi a négyzetes formátumot használtuk. Egészen nagy közelítést is lehet használni, a pontosabb jelölés érdekében. Jobb oldalon a mikroorganizmusok kóddal ellátott könyvtára található. A felső sorban olvashatjuk a kiválasztott kép címét, ahol az első szám mindig a mikroba kódját jelenti. Így könnyen megkereshetjük – esetünkben a 03-as kódú – a könyvtárát, és rákattintva megkezdhetjük a telepek bejelölését, annotációját. A munka befejeztével a mentés gombbal tároljuk az adatokat.

4.3 A konvolúciós neurális hálózat tanítása, szoftverfejlesztés

A train2017 COCO-adatokon [54] előtanított R101-DC5 Faster R-CNN [55] konvolúciós neurális hálózatot tanítottuk az annotált felvételek közül véletlenszerűen kiválasztott tanító és validáló halmazokkal. Az objektumdetekció tanítását és a teszhalmazon történő predikciós megbízhatósági ellenőrzését a Facebook Pytorch környezetében [56], Python-nal írt szkriptekkel végeztük a Google Colaboratory-ban (<https://colab.research.google.com>). A tanítás eredményeként kapott CNN-súlyadatbázis felhasználásával C++ nyelven fejlesztettük a felhasználóbarát, grafikus felhatalmazott felülettel rendelkező CFU-detector nevű szoftvert, amelynek segítségével a felhasználó

Petri-csészékről készült felvételeken lévő baktériumtelepeket detektálhat, becsülheti azok számát. A predikció során azokat a predikciókat fogadtuk el, amelyek legalább 50%-os megbízhatóságúak voltak. Az eredmények statisztikai elemzését és ábrázolásukat R-környezetben végeztük [57].

5. EREDMÉNYEK

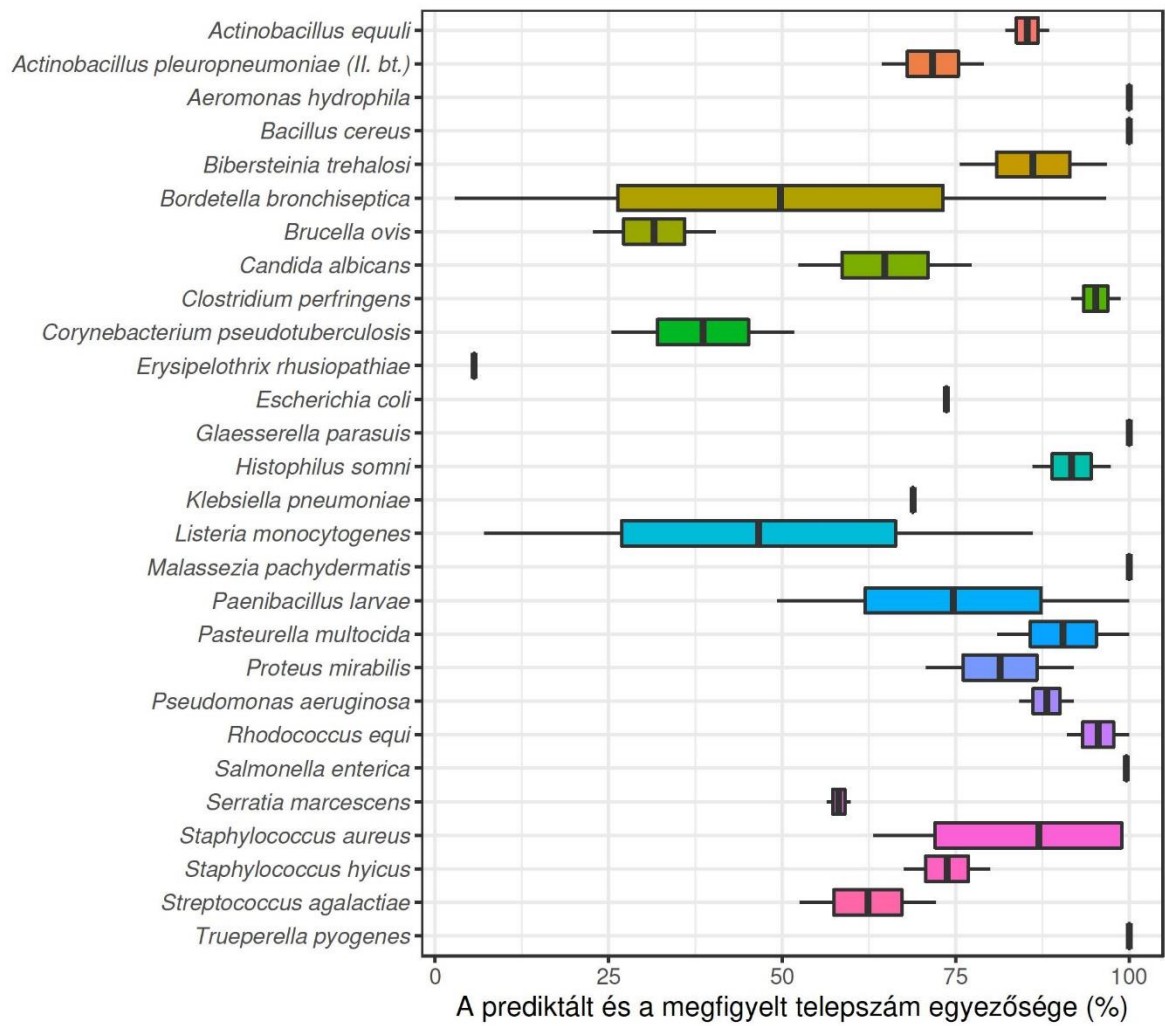
Az 608 Petri-csésze-felvételen 111 401 telepet annotáltunk, a fajonkénti részleteket az 1. táblázat tartalmazza. Az annotált képből a fajok szerint rétegzetten, véletlenszerűen kiválasztott 396 képezte a tanító, 155 a validáló és 57 a tesztalmodozt. A CNN 40 000 iterációja után kapott súlyok alapján az egyes fajokra vonatkozó predikciós pontosság 93.9%-os lett. Ez azt jelenti, hogy a validációs állományban annotált telepek fajra vonatkozó értéke milyen arányban egyezett meg a prediktált telepek fajra vonatkozó értékével.

Minden fajra megvizsgáltuk, hogy a tesztállományban lévő képeken szabad szemmel számolt telepek számával milyen arányban egyeztek a prediktált telepszámok. Az 5. ábra mutatja, hogy az összes, míg a 6. ábra a 300 telepnél kevesebbet tartalmazó teszt-Petri-csészére vonatkozó eredményeket. A tesztalmodozon ellenőrizve a CNN-t, 5 fajnál a prediktált és megfigyelt telepszám egyezősége 100% volt (pl. 7. és 8. ábra), míg további 4 fajnál 95% feletti (9. ábra). Összesen 10 fajnál tapasztaltunk 90% feletti egyezőséget, de 5 mikróbánál előfordult, hogy a teszt során 50% alatt eredményt kaptunk (10. ábra). Vannak fajok, ahol az algoritmus rendkívül precízen működik, de a precizitás hiánya alacsony egyezőségű fajoknál sem jelenthető ki egyértelműen, ugyanis előfordult, hogy egyes fajok különböző tesztképeit vizsgálva, a köztük levő szórás 66,3% volt (11. és 12. ábra).

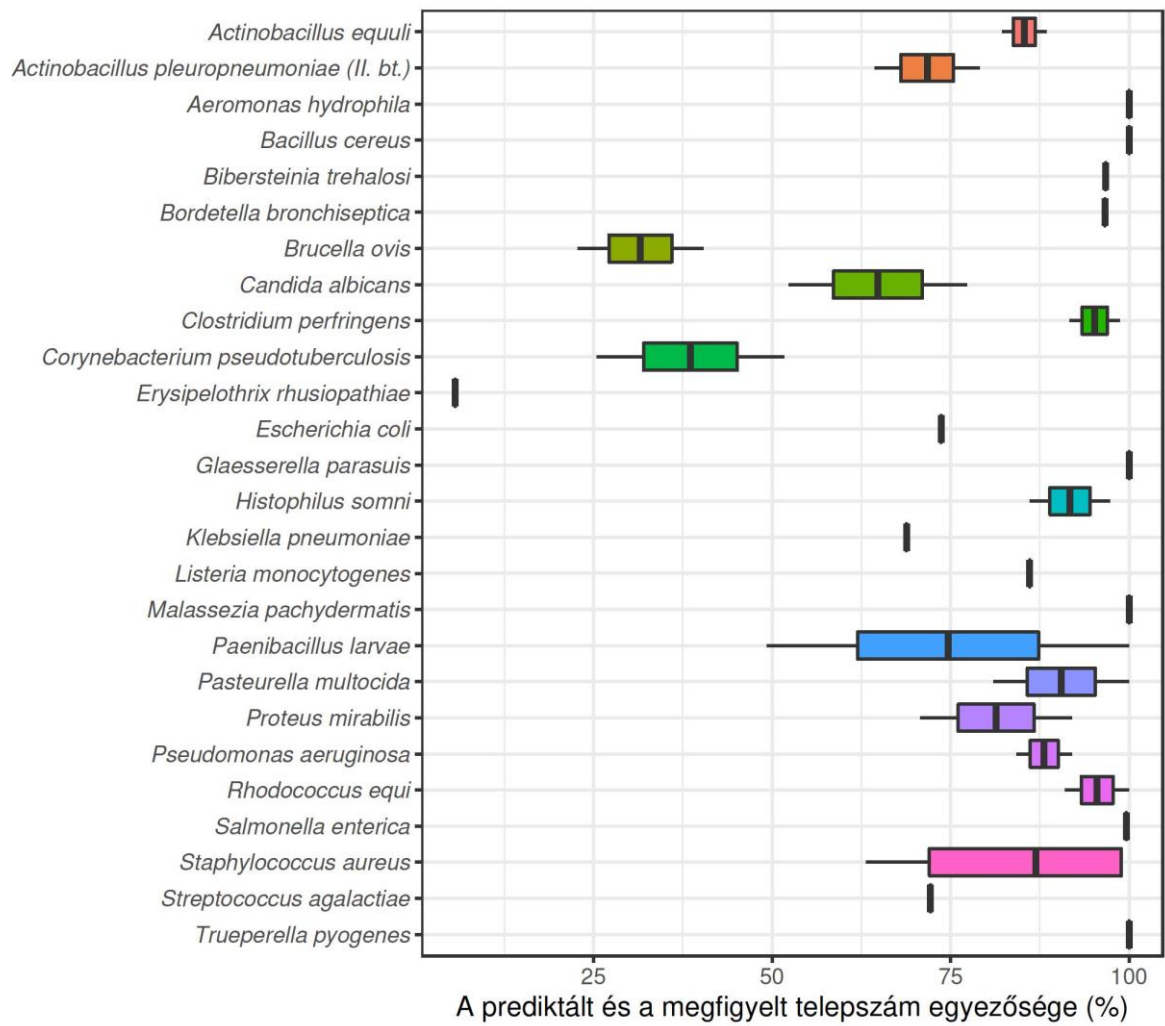
A betanított CNN súlyainak felhasználásával fejlesztett CFU-detector elnevezésű szoftverrel a felhasználó egy könnyen kezelhető felületen keresztül, néhány kattintással a beolvasott tárgyelemezen (13. ábra) lévő telepeket detektálhatja és a telepszámot meghatározhatja (14. ábra).

Faj	Annotált	
	képek száma	telepek száma
<i>Actinobacillus equuli</i>	12	392
<i>Actinobacillus pleuropneumoniae</i> (II. bt.)	10	1517
<i>Aeromonas hydrophila</i>	12	287
<i>Bacillus cereus</i>	5	229
<i>Bibersteinia trehalosi</i>	17	3866
<i>Bordetella bronchiseptica</i>	40	7945
<i>Brucella ovis</i>	11	990
<i>Candida albicans</i>	16	1264
<i>Clostridium perfringens</i>	10	307
<i>Corynebacterium pseudotuberculosis</i>	12	1695
<i>Erysipelothrix rhusiopathiae</i>	37	6800
<i>Escherichia coli</i>	10	564
<i>Glaesserella parasuis</i>	14	446
<i>Histophilus somni</i>	12	1856
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	34	18182
<i>Listeria monocytogenes</i>	36	14388
<i>Malassezia pachydermatis</i>	15	900
<i>Paenibacillus larvae</i>	12	884
<i>Pasteurella multocida</i>	17	1502
<i>Proteus mirabilis</i>	32	1129
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	12	1379
<i>Rhodococcus equi</i>	30	3499
<i>Salmonella enterica</i>	12	1210
<i>Serratia marcescens</i>	17	3591
<i>Staphylococcus aureus</i>	94	21958
<i>Staphylococcus hyicus</i>	27	6566
<i>Streptococcus agalactiae</i>	34	7354
<i>Trueperella pyogenes</i>	18	701

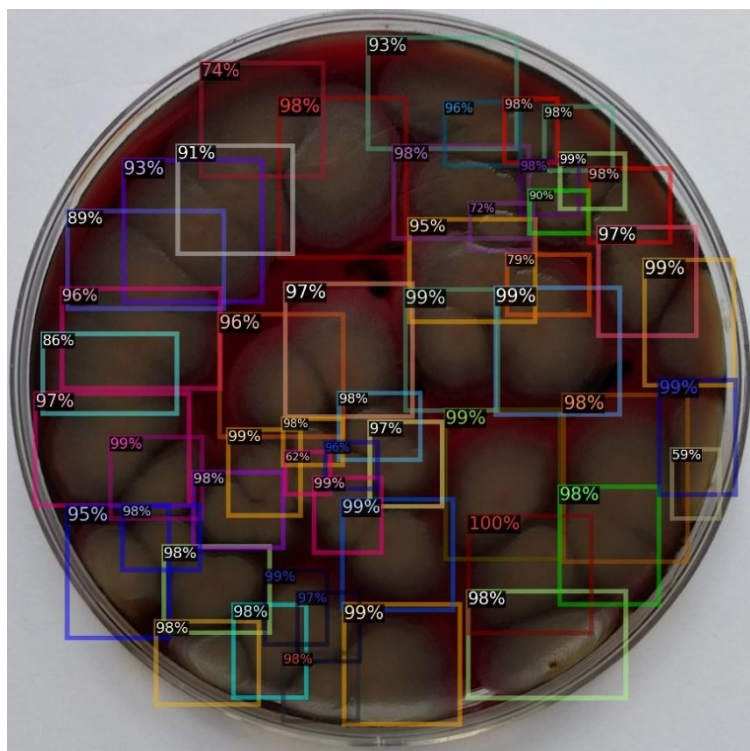
1. táblázat: Fajonként az adatbázis létrehozásához annotált képek, és rajtuk található telepek száma.



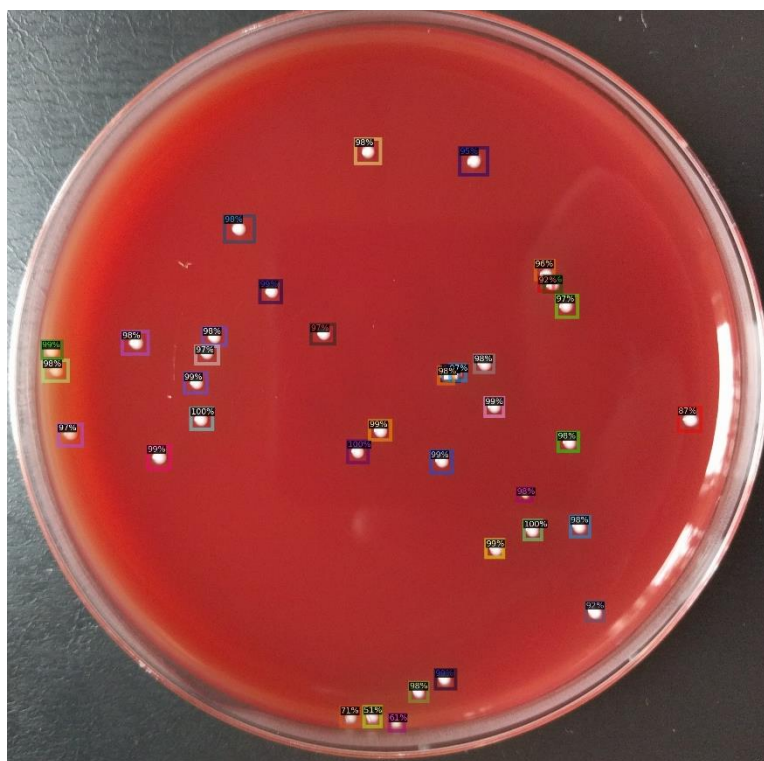
5. ábra: Az összes teszt-Petri-csészére vonatkozó predikciós és megfigyelt eredmények egyezősége.



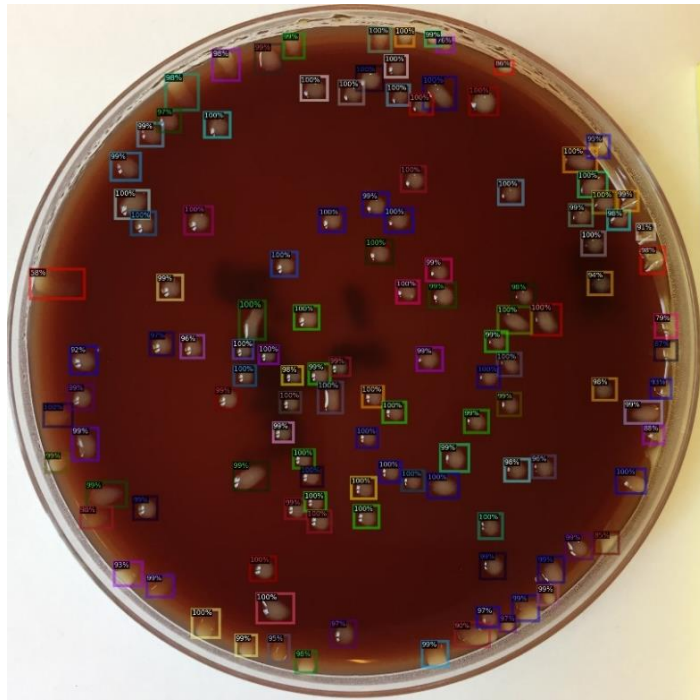
6. ábra: A 300 telepnél kevesebbet tartalmazó teszt-Petri-csészére vonatkozó predikciós és megfigyelt eredmények egyezősége.



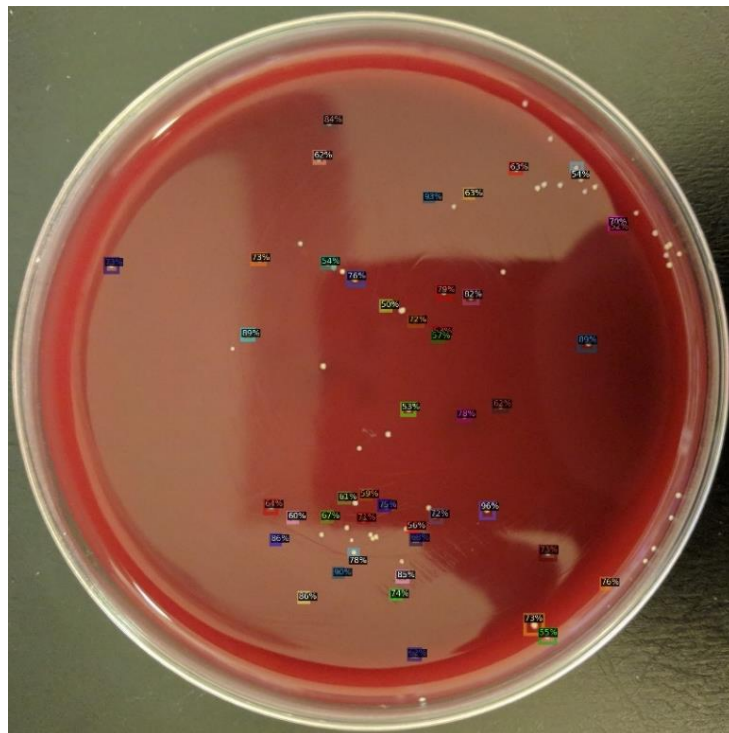
7. ábra: *Bacillus cereus* (01) teszt-Petri-csészén 100% a szabad szemmel leszámolt, és a prediktált telepszám egyezősége.



8. ábra: *Trueperella pyogenes* (11) teszt-Petri-csészén 100% a szabad szemmel leszámolt, és a prediktált telepszám egyezősége.



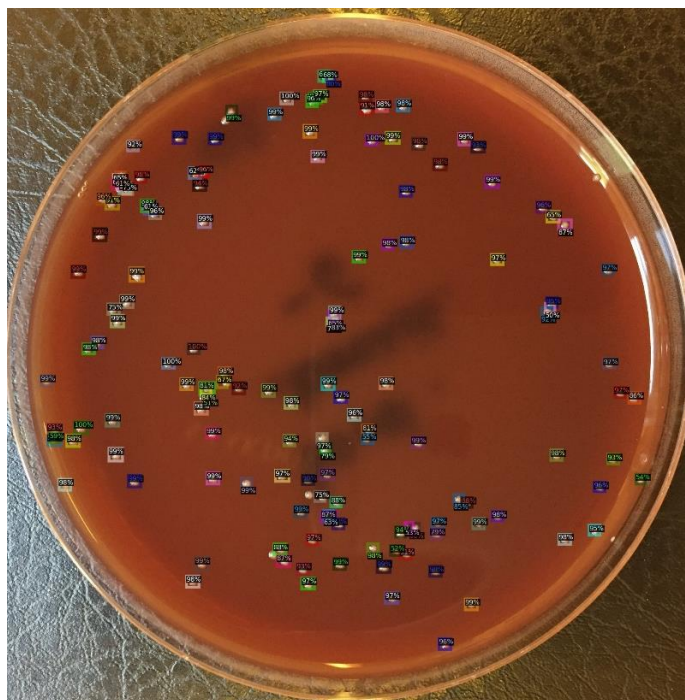
9. ábra: *Rhodococcus equi* (09) teszt-Petri-csészén 100% a szabad szemmel leszámolt, és a prediktált teletelepszám egyezősége. (Az összes teszt-Petri-csésze alapján: 95,2%)



10. ábra: *Corynebacterium pseudotuberculosis* (12) a teszt-Petri-csészén 51,7% a szabad szemmel leszámolt, és a prediktált teletelepszám egyezősége. (Az összes teszt-Petri-csésze alapján: 38,6%)



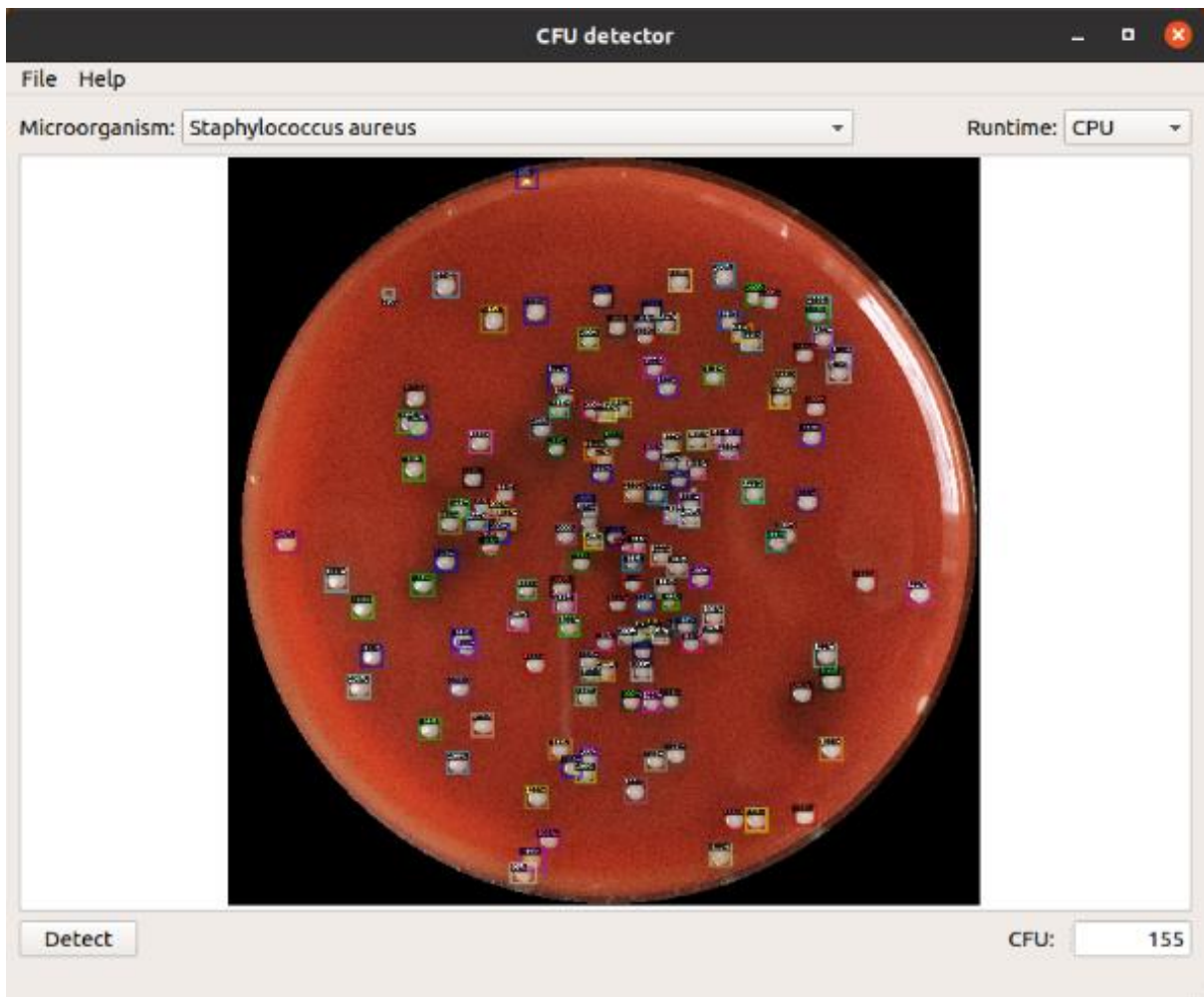
11. ábra: *Bordetella bronchiseptica* (26) esetén az egyik teszt-Petri-csészén 2,8% a szabad szemmel leszámolt, és a prediktált telepszám egyezősége.



12. ábra: *Bordetella bronchiseptica* (26) esetén egy másik teszt-Petri-csészén 96,6% a szabad szemmel leszámolt, és a prediktált telepszám egyezősége.



13. ábra: Tárgylemez beolvasása. A kép megnyitása után egy legördülő menüből választhatjuk ki a detektálni kívánt mikroorganizmust, majd a „Detect” gombra kattintva pár másodperc alatt a jobb sarokban megkapjuk prediktált telepszámot.



14. ábra: Telepek detektálása és a telepszám meghatározása. A színes négyzetek jelölik a kép azon részeit, ahol a program telepeket detektált. A felette látható százalék arra vonatkozik, hogy milyen mértékű a predikció pontossága.

6. MEGBESZÉLÉS

Az élőcsíraszám-meghatározás automatizálása régóta nemzetközi igény, számos kutatás is folyik a témával kapcsolatban, de mégsem vált egy megoldás sem széles körben elterjedté. Így a mikroorganizmusok mennyiségi kimutatása manapság is manuálisan folyik. Ezt általában tenyésztési eljárásokkal, szilárd táptalajokon képződő mikroorganizmusok telepszámlálásával határozzák meg, ami rendkívül sok időt és szakértő munkaeőrt igényel. Kutatásunkban minimális eszközhasználattal, konvolúciós neurális hálózatokkal fejlesztettünk egy programot, amely széleskörben használható, olcsó megoldást jelenthet. Képes szinte tökéletesen reprodukálni a manuális telepszámlálás által kapott eredményeket.

A program 93,9%-os predikciós pontossággal működik. Képes különálló telepként felismerni az érintkező telepeket, az agarban keletkezett műtermékeket, buborékokat sem detektálja telepként. A fényvisszatükröződést, a Petri-csészé csillogó széleit figyelmen kívül hagyja. Változó minőségű, megvilágítású és háttérű képeken is precízen tudja detektálni a telepeket. Ugyanakkor a predikciós pontosság azoknál a képeknél alacsony, ahol nagyon apró, nehezen kivehető a faj telepmorfológiája. Ezt tapasztalhatjuk akkor is, ha a Petri-csészén látható telepek túl nagy számban vannak jelen. Ezért az eredményeket külön elemeztük aszerint, hogy a Petri-csészén látható telepek meghaladják a háromszázat vagy sem. Vannak olyan mikróbák, amelyeknél, az, hogy meghaladja, nem befolyásolja a predikált és a megfigyelt telepszám egyezőségét (pl.: *Actinobacillus equuli*, *Aeromonas hydrophilia*, *Bacillus cereus* stb.). Számos esetben azonban javult a predikciós pontosság, vagy kisebb szórást mutat, amikor csak a 300 alatti telepszámú Petri-csészéket értékeltük (pl.: *Biberstenia trehalosi*, *Bordetella bronchiseptica*, *Listeria monocytogenes* stb.). Ennek oka a nagyon apró telepek, amik sűrűn beborítják az egész táptalajt. A nagy telepszámú Petri-csészék annotációjával, a tanítókészlet növelésével valószínűleg lehetne javítani ezen.

A manuálisan végzett telepszámlálással összehasonlítva, a program gyorsabban, kevesebb munkaeőrral, szakértelem nélkül képes reprodukálni hasonló eredményt. Eszközigénye ugyan nagyobb, de csupán egy közepes minőségű kép készítésére alkalmas okostelefonnal több. A különböző hardveres és szoftveres megoldások hátránya, hogy sokszor speciális, drága berendezést igényelnek [19, 20], nem tudják különálló telepként számolni az érintkező telepeket, az agarban található hibákat, buborékokat telepként detektálják, érzékenyek a változó fényviszonyokra. A szélesebb körben alkalmazott OpenCFU-val [18] szemben a programunk nem igényel manuális paraméterbeállítást a telepek detektálásához, további fejlesztésekkel pedig több képen is futtatható lesz automatikusan, hasonlóan az

AutoCellSeg-hez [23]. Ferrari és mtsai. [44] szintén konvolúciós neurális hálózatokat alkalmaztak, hasonlóan a mi eredményeinkhez, itt is a nagy telepsűrűségű képek telepszámának a meghatározása okozott problémát. Az általuk elért 92,8%-os pontosságot az általunk fejlesztett CNN 1,1%-kal haladta meg. Azt tapasztaltuk, hogy a tanítókészlet növelésével tovább javult a CNN pontossága, ebből következően, a tanítókészlet bővítésével jobb eredményeket kaphatunk a jövőben. Az azonban nem jelenthető ki, hogy csak a tanítókészlet mérete befolyásolja a CNN pontosságát, a pontos okok felderítéséhez további kutatások szükségesek.

A CFU-detector nevű program mobiltelefonra fejlesztett applikációjának megvalósítása egy mindenki számára elérhető megoldást eredményezne a mikroorganizmus élőcsíraszámának gyors, pontos, valós időben és helyben történő meghatározására.

7. ÖSSZEFOGLALÁS

Mikroorganizmusok mennyiségi kimutatása tömeg- vagy térfogat egységre vonatkoztatva általános feladat a mikrobiológia területén, például élelmiszerhigiéniában, infektológiában, vagy biológiai kutatásokban. A szilárd táptalajon végzett vizsgálat esetén telepszámlálással határozzuk meg a minta élőcsíraszámát. Ez a mai napig manuálisan történik, azonban meglehetősen idő- és munkaigényes folyamat, amely jelentős költségeket is von maga után. Az élőcsíraszám-meghatározás automatizálása emiatt már régóta igény.

Kutatásunkban - a fejlődő technológia által nyújtott lehetőségeket kihasználva - olyan konvolúciós neurális hálózatot (CNN) alkalmazó algoritmust fejlesztettük, amely képes lehet egy okostelefon által készített képről meghatározni az adott baktérium élőcsíraszámát. Munkánk során 28 mikroorganizmus-fajt tenyésztettünk. Az adott mikroba kioltása és szélesztése során az igényeinek megfelelő táptalajt és inkubációs időt választottunk. A tenyészetekről okostelefonnal készítettünk digitális fényképeket, amelyeket a COCO Annotator (<https://github.com/jsbroks/coco-annotator>) nevű, web-alapú képmegjelölő eszközzel annotáltunk. Az annotált képeink felhasználásával tanítottuk a train2017 COCO- adatokon előtanított R101-DC5 Faster R-CNN neurális hálózatot. A CNN 40 000 iterációja után kapott súlyok alapján az egyes fajokra vonatkozó predikciós pontosság 93.9%-os lett. Ez azt jelenti, hogy a validációs állományban annotált telepek fajra vonatkozó értéke milyen arányban egyezett meg a prediktált telepek fajra vonatkozó értékével. A tesztalmazon ellenőrizve a CNN-t, 5 fajnál a prediktált és megfigyelt telepszám egyezősége 100% volt, míg további 4 fajnál 95% feletti. Összesen 10 fajnál tapasztaltunk 90% feletti egyezőséget, de 5 mikróbánál előfordult, hogy a teszt során 50% alatt eredményt kaptunk. Vannak fajok, ahol az algoritmus rendkívül precízen működik, de a precizitás hiánya alacsony egyezőségű fajoknál sem jelenthető ki egyértelműen, ugyanis előfordult, hogy egyes fajok különböző tesztképeit vizsgálva, a köztük levő szórás 66,3% volt. A CNN-súlyadatbázis alapján készítettünk egy felhasználóbarát, grafikus felülettel rendelkező CFU-detector elnevezésű szoftvert, amelynek segítségével a felhasználó Petri-csészékről készült felvételeken lévő baktériumtelepeket detektálhat, becsülheti azok számát.

Az élőcsíraszám-meghatározás nélkülözhetetlen feladat a mikrobiológia területén, automatizálása pedig nemzetközi igény. A kutatómunkánk eredményei azt mutatják, hogy a konvolúciós neurális hálózatok potenciális megoldást kínálnak a problémára, és használatukkal szinte tökéletesen lehet reprodukálni a manuálisan végzett telepszámlálást. Ez a jövőben nemcsak a feladat élőmunka-igényét csökkenti, de hozzájárul a pontosabb, gyorsabb és olcsóbb diagnózishoz.

8. SUMMARY

Counting of Colony Forming Units using deep neural networks

The quantification of microorganisms per unit mass or volume is a common task in the field of microbiology, for example in food hygiene, infectology or biological research. In the case of solid medium testing, the viable cell count of the sample is determined by counting colony forming units. To this day, this task has been done manually, however it is time-consuming and labour-intensive process, which entails considerable costs as well. Automation of the counting of the colony forming units has been a long-standing request.

In our research, we have developed a convolutional neural network (CNN) algorithm that can estimate the number of the colony forming units from an image taken by a smartphone. We cultured 28 species of microorganisms, using the medium and incubation time adopted to the needs of each microbe. Digital photographs of the cultures were taken using a smartphone and then annotated using a web-based image annotation tool called COCO Annotator (<https://github.com/jsbroks/coco-annotator>). Using our annotated images, we trained the R101-DC5 Faster R-CNN neural network pretrained on the train2017 COCO data.

Based on the weights obtained after 40 000 iterations of the CNN, the prediction accuracy for each species was 93.9%. This shows, how well the species-specific value of the colonies annotated in the validation set matched the same value in the predicted set. When checking the CNN on the test set, the agreement between the number of colonies predicted and observed was 100% in the case 5 species, and above 95% in the case of 4 other species. In total, 10 species showed over 90% agreement, but 5 microbes had a result below 50% in the test. There are some species where the algorithm was very precise, but the lack of precision is not clear even for species with low agreement, as there were cases where the variance between different test images of some species was 66.3%. Based on the CNN weight database, a user-friendly software with a graphical user interface called CFU-detector was developed, which allows the user to detect and estimate the number of bacterial colonies in images taken of Petri dishes.

Viable cell counting is an essential task in microbiology and there is an international demand for its automation. The results of our research show that the CNN offers a potential solution to this problem, as is able to reproduce manual colony counting almost perfectly. In the future, this will not only reduce the manual labour requirements of the task, but also contribute to more accurate, faster and cheaper quantification.

9. IRODALOMJEGYZÉK

1. Tibor Deák, Kiskó Gabriella, Maráz Anna, Mohácsiné Farkas Csilla (2006) *Élelmiszer-mikrobiológia*. Mezőgazda Kiadó, Magyarország
2. Hobson NS, Tothill I, Turner APF (1996) Microbial detection. *Biosensors and Bioelectronics* 11:455–477 . [https://doi.org/10.1016/0956-5663\(96\)86783-2](https://doi.org/10.1016/0956-5663(96)86783-2)
3. Wuthiekanun V, Amornchai P, Paris DH, Langla S, Thaipadunpanit J, Chierakul W, Smythe LD, White NJ, Day NPJ, Limmathurotsakul D, Peacock SJ (2013) Rapid Isolation and Susceptibility Testing of *Leptospira* spp. Using a New Solid Medium, LVW Agar. *Antimicrob Agents Chemother* 57:297–302 . <https://doi.org/10.1128/AAC.01812-12>
4. Beznik T, Smyth P, de Lannoy G, Lee JA (2020) Deep Learning to Detect Bacterial Colonies for the Production of Vaccines. *arXiv:200900926 [cs, q-bio]*
5. LeCun Y, Bengio Y, Hinton G (2015) Deep learning. *Nature* 521:436–444 . <https://doi.org/10.1038/nature14539>
6. Tóth Bálint Pál (2016) Beszélő számítógépek mély gondolatokkal. *Élet és Tudomány* https://www.eletestudomany.hu/neuralis_halozatok Accessed in 2021.09.10.
7. Lecun Y, Bottou L, Bengio Y, Haffner P (1998) Gradient-based learning applied to document recognition. *Proc IEEE* 86:2278–2324 . <https://doi.org/10.1109/5.726791>
8. Sandgren A, Strong M, Muthukrishnan P, Weiner BK, Church GM, Murray MB (2009) Tuberculosis Drug Resistance Mutation Database. *PLoS Med* 6:e1000002 . <https://doi.org/10.1371/journal.pmed.1000002>
9. Arain TM, Resconi AE, Hickey MJ, Stover CK (1996) Bioluminescence screening in vitro (Bio-Siv) assays for high-volume antimycobacterial drug discovery. *Antimicrob Agents Chemother* 40:1536–1541 . <https://doi.org/10.1128/AAC.40.6.1536>
10. Jacobs W, Barletta R, Udani R, Chan J, Kalkut G, Sosne G, Kieser T, Sarkis G, Hatfull G, Bloom B (1993) Rapid assessment of drug susceptibilities of *Mycobacterium tuberculosis* by means of luciferase reporter phages. *Science* 260:819–822 . <https://doi.org/10.1126/science.8484123>
11. Lagier J-C, Dubourg G, Million M, Cadoret F, Bilen M, Fenollar F, Levasseur A, Rolain J-M, Fournier P-E, Raoult D (2018) Culturing the human microbiota and culturomics. *Nat Rev Microbiol* 16:540–550 . <https://doi.org/10.1038/s41579-018-0041-0>
12. Fierer N, Lauber CL, Zhou N, McDonald D, Costello EK, Knight R (2010) Forensic identification using skin bacterial communities. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 107:6477–6481 . <https://doi.org/10.1073/pnas.1000162107>
13. Anderson M, Hinds P, Hurditt S, Miller P, McGrowder D, Alexander-Lindo R (2011) The microbial content of unexpired pasteurized milk from selected supermarkets in a developing country. *Asian Pac J Trop Biomed* 1:205–211 . [https://doi.org/10.1016/S2221-1691\(11\)60028-2](https://doi.org/10.1016/S2221-1691(11)60028-2)
14. Goodacre R, Timmins ÉM, Burton R, Kaderbhai N, Woodward AM, Kell DB, Rooney PJ (1998) Rapid identification of urinary tract infection bacteria using hyperspectral whole-organism fingerprinting and artificial neural networks. *Microbiology (Reading)* 144 (Pt 5):1157–1170 . <https://doi.org/10.1099/00221287-144-5-1157>
15. Albaradei SA, Napolitano F, Uludag M, Thafar M, Napolitano S, Essack M, Bajic VB, Gao X (2020) Automated Counting of Colony Forming Units Using Deep Transfer Learning From a Model for Congested Scenes Analysis. *IEEE Access* 8:164340–164346 . <https://doi.org/10.1109/ACCESS.2020.3021656>
16. Mansberg HP (1957) Automatic Particle and Bacterial Colony Counter. *Science* 126:823–827 . <https://doi.org/10.1126/science.126.3278.823>

17. Smith KP, Kirby JE (2020) Image analysis and artificial intelligence in infectious disease diagnostics. *Clinical Microbiology and Infection* 26:1318–1323 . <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2020.03.012>
18. Geissmann Q (2013) OpenCFU, a New Free and Open-Source Software to Count Cell Colonies and Other Circular Objects. *PLoS ONE* 8:e54072 . <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0054072>
19. Alexander NE, Glick DP (1958) Automatic Counting of Bacterial Cultures- A New Machine. *IRE Trans Med Electron PGME-12*:89–92 . <https://doi.org/10.1109/IRET-ME.1958.5008510>
20. Brugger SD, Baumberger C, Jost M, Jenni W, Brugger U, Mühlemann K (2012) Automated Counting of Bacterial Colony Forming Units on Agar Plates. *PLoS ONE* 7:e33695 . <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0033695>
21. Chiang P-J, Tseng M-J, He Z-S, Li C-H (2015) Automated counting of bacterial colonies by image analysis. *J Microbiol Methods* 108:74–82 . <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2014.11.009>
22. Uppal, N., R. Goyal and M. Scholar (2012) Computational approach to count bacterial colonies. *International Journal of Advances in Engineering & Technology* Vol. 4:364–372
23. Khan A ul M, Torelli A, Wolf I, Gretz N (2018) AutoCellSeg: robust automatic colony forming unit (CFU)/cell analysis using adaptive image segmentation and easy-to-use post-editing techniques. *Sci Rep* 8:7302 . <https://doi.org/10.1038/s41598-018-24916-9>
24. Niyazi M, Niyazi I, Belka C (2007) Counting colonies of clonogenic assays by using densitometric software. *Radiat Oncol* 2:4 . <https://doi.org/10.1186/1748-717X-2-4>
25. Bewes JM, Suchowerska N, McKenzie DR (2008) Automated cell colony counting and analysis using the circular Hough image transform algorithm (CHiTA). *Phys Med Biol* 53:5991–6008 . <https://doi.org/10.1088/0031-9155/53/21/007>
26. Kachouie N, Kang L, Khademhosseini A (2009) Arraycount, an algorithm for automatic cell counting in microwell arrays. *Biotechniques* 47:x–xvi . <https://doi.org/10.2144/000113202>
27. Clarke ML, Burton RL, Hill AN, Litorja M, Nahm MH, Hwang J (2010) Low-cost, high-throughput, automated counting of bacterial colonies. *Cytometry A* 77:790–797 . <https://doi.org/10.1002/cyto.a.20864>
28. Cai Z, Chattopadhyay N, Liu WJ, Chan C, Pignol J-P, Reilly RM (2011) Optimized digital counting colonies of clonogenic assays using ImageJ software and customized macros: comparison with manual counting. *Int J Radiat Biol* 87:1135–1146 . <https://doi.org/10.3109/09553002.2011.622033>
29. Sieuwerts S, de Bok F a. M, Mols E, de vos WM, Vlieg JET van H (2008) A simple and fast method for determining colony forming units. *Lett Appl Microbiol* 47:275–278 . <https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.2008.02417.x>
30. Bray M-A, Vokes MS, Carpenter AE (2015) Using CellProfiler for Automatic Identification and Measurement of Biological Objects in Images. *Curr Protoc Mol Biol* 109:14.17.1-14.17.13 . <https://doi.org/10.1002/0471142727.mb1417s109>
31. Czeiszing Péter (2020) Különböző baktérium és gomba levestenyészetek élőcsíraszámának meghatározására szolgáló digitális képpalkotó eljárás kifejlesztése és tesztelése. Állatorvostudományi Egyetem
32. Carpenter AE, Jones TR, Lamprecht MR, Clarke C, Kang IH, Friman O, Guertin DA, Chang JH, Lindquist RA, Moffat J, Golland P, Sabatini DM (2006) CellProfiler: image analysis software for identifying and quantifying cell phenotypes. *Genome Biol* 7:R100 . <https://doi.org/10.1186/gb-2006-7-10-r100>
33. Choudhry P (2016) High-Throughput Method for Automated Colony and Cell Counting by Digital Image Analysis Based on Edge Detection. *PLoS ONE* 11:e0148469 . <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0148469>

34. Schindelin J, Arganda-Carreras I, Frise E, Kaynig V, Longair M, Pietzsch T, Preibisch S, Rueden C, Saalfeld S, Schmid B, Tinevez J-Y, White DJ, Hartenstein V, Eliceiri K, Tomancak P, Cardona A (2012) Fiji: an open-source platform for biological-image analysis. *Nat Methods* 9:676–682 . <https://doi.org/10.1038/nmeth.2019>
35. Máthé Lilla (2019) Objektumok detektálása neurális hálózatokkal. Eötvös Lóránd Tudományegyetem
36. Altrichter Márta, Horváth Gábor (2006) Neurális hálózatok. Panem, Budapest
37. Kovács Róbert (2019) Neurális hálózatok – a mesterséges intelligencia szent Grálja. <https://mesterin.hu/neuralis-halozatok-a-mesterseges-intelligencia-szent-gralja/> Accessed in 2021.09.13.
38. Russell SJ, Norvig P, Canny JF, Antal Péter (2005) Mesterséges intelligencia modern megközelítésben. Panem, Budapest
39. LeCun Y, Bengio Y (1995) Convolutional networks for images, speech, and time series. In: Arbib MA (ed) *Handbook of Brain Theory and Neural Networks*. MIT Press, p 3361
40. Redmon J, Divvala S, Girshick R, Farhadi A (2016) You Only Look Once: Unified, Real-Time Object Detection. arXiv:150602640 [cs]
41. Bojarski M, Del Testa D, Dworakowski D, Firner B, Flepp B, Goyal P, Jackel LD, Monfort M, Muller U, Zhang J, Zhang X, Zhao J, Zieba K (2016) End to End Learning for Self-Driving Cars. arXiv:160407316 [cs]
42. Ribli D, Horváth A, Unger Z, Pollner P, Csabai I (2018) Detecting and classifying lesions in mammograms with Deep Learning. *Sci Rep* 8:4165 . <https://doi.org/10.1038/s41598-018-22437-z>
43. Kirn TJ (2016) Commentary: Automatic Digital Plate Reading for Surveillance Cultures. *J Clin Microbiol* 54:2424–2426 . <https://doi.org/10.1128/JCM.01279-16>
44. Ferrari A, Lombardi S, Signoroni A (2015) Bacterial colony counting by Convolutional Neural Networks. *Annu Int Conf IEEE Eng Med Biol Soc* 2015:7458–7461 . <https://doi.org/10.1109/EMBC.2015.7320116>
45. Faron ML, Buchan BW, Coon C, Liebrechts T, van Bree A, Jansz AR, Soucy G, Korver J, Ledebor NA (2016) Automatic Digital Analysis of Chromogenic Media for Vancomycin-Resistant-Enterococcus Screens Using Copan WASPLab. *J Clin Microbiol* 54:2464–2469 . <https://doi.org/10.1128/JCM.01040-16>
46. Faron ML, Buchan BW, Vismara C, Lacchini C, Bielli A, Gesu G, Liebrechts T, van Bree A, Jansz A, Soucy G, Korver J, Ledebor NA (2016) Automated Scoring of Chromogenic Media for Detection of Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus by Use of WASPLab Image Analysis Software. *J Clin Microbiol* 54:620–624 . <https://doi.org/10.1128/JCM.02778-15>
47. Van TT, Mata K, Dien Bard J (2019) Automated Detection of Streptococcus pyogenes Pharyngitis by Use of Colorex Strep A CHROMagar and WASPLab Artificial Intelligence Chromogenic Detection Module Software. *J Clin Microbiol* 57: . <https://doi.org/10.1128/JCM.00811-19>
48. Andreini P, Bonechi S, Bianchini M, Mecocci A, Scarselli F (2018) A Deep Learning Approach to Bacterial Colony Segmentation. In: Kůrková V, Manolopoulos Y, Hammer B, Iliadis L, Maglogiannis I (eds) *Artificial Neural Networks and Machine Learning – ICANN 2018*. Springer International Publishing, Cham, pp 522–533
49. Sommer C, Straehle C, Kothe U, Hamprecht FA (2011) Ilastik: Interactive learning and segmentation toolkit. In: 2011 IEEE International Symposium on Biomedical Imaging: From Nano to Macro. IEEE, Chicago, IL, USA, pp 230–233
50. Li Y, Zhang X, Chen D (2018) CSRNet: Dilated Convolutional Neural Networks for Understanding the Highly Congested Scenes. arXiv:180210062 [cs]

51. Wang H, Ceylan Koydemir H, Qiu Y, Bai B, Zhang Y, Jin Y, Tok S, Yilmaz EC, Gumustekin E, Rivenson Y, Ozcan A (2020) Early detection and classification of live bacteria using time-lapse coherent imaging and deep learning. *Light Sci Appl* 9:118 . <https://doi.org/10.1038/s41377-020-00358-9>
52. dr. Tuboly Sándor, dr. Medveczky István, dr. Rusvai Miklós, dr. Varga János (1999) *Állatorvosi járványtan I. - Állatorvosi mikrobiológia, bakteriológia, virológia, immunológia*. Mezőgazda Kiadó, Magyarország
53. Erdősi O. Lányi K. László N. Lehel J. Szakmár K. Szili Zs (2016) *Élelmiszer-higiéniái gyakorlatok I. A/3 Nyomdaipari és Kiadói Szolgáltató Kft., Budapest*
54. Lin T-Y, Maire M, Belongie S, Bourdev L, Girshick R, Hays J, Perona P, Ramanan D, Zitnick CL, Dollár P (2015) Microsoft COCO: Common Objects in Context. arXiv:14050312 [cs]
55. Ren S, He K, Girshick R, Sun J (2016) Faster R-CNN: Towards Real-Time Object Detection with Region Proposal Networks. arXiv:150601497 [cs]
56. Paszke A, Gross S, Massa F, Lerer A, Bradbury J, Chanan G, Killeen T, Lin Z, Gimelshein N, Antiga L, Desmaison A, Köpf A, Yang E, DeVito Z, Raison M, Tejani A, Chilamkurthy S, Steiner B, Fang L, Bai J, Chintala S (2019) PyTorch: An Imperative Style, High-Performance Deep Learning Library. arXiv:1912.01703 [cs, stat]
57. Dinya Elek, Solymosi Norbert (2016) *Biometria a klinikumban: Feladatok megoldása R-környezetben*. Medicina Könyvkiadó Zrt., Budapest

10. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Szeretném megköszönni elsősorban témavezetőimnek Dr. Makrai László egyetemi docensnek és Dr. Solymosi Norbert egyetemi docensnek a lehetőséget, hogy velük dolgozhattam, a folyamatos támogatást, és rengeteg segítséget, amit tőlük kaptam.

Köszönettel tartozom továbbá az intézet összes munkatársának, akik türelmükkel, gyakorlatias tanácsukkal, segítőkészségükkel hozzájárultak a sikeres munkámhoz, és nyugodt lelki állapotomhoz.

Végül szeretnék köszönetet mondani a családomnak és a barátaimnak, akik átsegítettek a nehezebb pillanataimon, és együtt örültek sikereimnek.

HuVetA

ELHELYEZÉSI MEGÁLLAPODÁS ÉS SZERZŐI JOGI NYILATKOZAT

Név: Fodróczy Bettina

Elérhetőség (e-mail cím): mexii09@gmail.com

A feltöltendő mű címe: Élőcsíraszám-meghatározás mély neurális hálózatokkal.

Jelen megállapodás elfogadásával a szerző, illetve a szerzői jogok tulajdonosa nem kizárólagos jogot biztosít a HuVetA számára, hogy archiválja (a tartalom megváltoztatása nélkül, a megőrzés és a hozzáférhetőség biztosításának érdekében) és másolásvédtett PDF formára konvertálja és szolgáltatassa a fenti dokumentumot (beleértve annak kivonatát is).

Beleegyezik, hogy a HuVetA egynél több (csak a HuVetA adminisztrátorai számára hozzáférhető) másolatot tároljon az Ön által átadott dokumentumból kizárólag biztonsági, visszaállítási és megőrzési célból.

Kijelenti, hogy az átadott dokumentum az Ön műve, és/vagy jogosult biztosítani a megállapodásban foglalt rendelkezéseket arra vonatkozóan. Kijelenti továbbá, hogy a mű eredeti és legjobb tudomása szerint nem sérti vele senki más szerzői jogát. Amennyiben a mű tartalmaz olyan anyagot, melyre nézve nem Ön birtokolja a szerzői jogokat, fel kell tüntetnie, hogy korlátlan engedélyt kapott a szerzői jog tulajdonosától arra, hogy engedélyezhesse a jelen megállapodásban szereplő jogokat, és a harmadik személy által birtokolt anyagrész mellett egyértelműen fel van tüntetve az eredeti szerző neve a művön belül.

A szerzői jogok tulajdonosa a hozzáférés körét az alábbiakban határozza meg:

engedélyezi hogy a HuVetA-ban -ban tárolt művek korlátlanul hozzáférhetővé váljanak a világhálón

Amennyiben a feltöltés alapját olyan mű képezi, melyet valamely cég vagy szervezet támogatott illetve szponzorált, kijelenti, hogy jogosult egyetérteni jelen megállapodással a műre vonatkozóan.

A HuVetA üzemeltetői a szerző, illetve a jogokat gyakorló személyek és szervezetek irányában nem vállalnak semmilyen felelősséget annak jogi orvoslására, ha valamely felhasználó a HuVetA-ban engedéllyel elhelyezett anyaggal törvénysértő módon visszaélne.

1078, 2021. 10. 18.

NYILATKOZAT

Alulírott Fodróczy Bettina nyilatkozom, hogy diplomamunkám, melynek címe:

Élőcsíraszám-meghatározás mély neurális hálózatokkal

tartalmi és formai szempontból teljes mértékben megegyezik azonos című, a 2021. évi TDK konferencián szerepelt dolgozattal.

Budapest, 2022. november 3.

Fodróczy Bettina

Handwritten signature of Fodróczy Bettina in black ink, written in a cursive style.

a hallgató neve és aláírása



Diplomamunka konzultációs lap állatorvostan hallgatók részére

A hallgató neve: FODRÓCZY BETTINA

Neptun-kódja: H1501D

A témavezető neve és beosztása: DR. MAKRAI LÁSZLÓ, PHD - EGYETEMI DOCENS
DR. SOLYMOSI NORBERT, PHD - EGYETEMI DOCENS

Tanszék: JÁRVÁNYTANI ÉS MIKROBIOLÓGIAI TANSZÉK

A diplomadolgozat címe: ELŐCSÍRASZÁM- MEGHATÁROZÁS MELY
NEURÁLIS HALÓZATOKKAL

Konzultáció - 1. félév

	Időpont			Téma/Témavezető megjegyzése	Témavezető aláírása
	Év	Hó	Nap		
1.	2020.	10.	12.	Kutatási téma ismertetése, kutatási terv kialakítása	<i>[Signature]</i>
2.	2020.	10.	29.	Heterológus intelligencia-alapokhoz ismertetése	<i>[Signature]</i>
3.	2020.	11.	10.	Mely neurális halózatok	<i>[Signature]</i>
4.	2020.	11.	16.	Mikroorganizmusok vizsgálata	<i>[Signature]</i>
5.	2020.	12.	14.	Fotól készítése, manuális előcsíraszám-meghatározás	<i>[Signature]</i>

Érdemjegy az első félév végén: jelas (J)

Konzultáció - 2. félév

	Időpont			Téma/Témavezető megjegyzése	Témavezető aláírása
	Év	Hó	Nap		
1.	2021.	02.	23.	COCO annotáló program használatához ismertetése	<i>[Signature]</i>
2.	2021.	03.	18.	Annotálás	<i>[Signature]</i>
3.	2021.	04.	08.	Erdemjegy kiállítás	<i>[Signature]</i>
4.	2021.	05.	03.	Híadymos tesztekkel próba	<i>[Signature]</i>
5.	2021.	05.	12.	Szakterületi konzultáció, prezentáció készítés	<i>[Signature]</i>

Érdemjegy a második félév végén: jelas (J)

A nyomtatvány a hallgatói és a tanszéki ügyintézői aláírás, valamint az átvétel dátuma nélkül nem érvényes. A konzultációs lap a diplomamunka mellékletét képezi!



A diplomamunka - a szakra vonatkozóan - a Tanulmányi- és Vizsgaszabályzatban, valamint az Útmutató a szakdolgozatok/diplomamunkák készítéséhez című mellékletében leírt követelményeknek megfelel.

A diplomamunka befogadható, védeésre alkalmasnak találtam.

Hallgató aláírása: Fodorosy Bettina

[Handwritten Signature]
témavezető aláírása

Tanszéki előadó aláírása: Binc' Nikolett Átvétel dátuma: 2022. 11. 15.