

**Projekta “Ātra un rentabla, uz mašīnmācīšanos balstīta sistēma mikroorganismu augšanas analīzei”, Nr. 1.1.1.1/19/A/147,  
aktivitāšu aktualitātes:**

Darbības Nr.	Projekta darbības nosaukums	Veiktie pasākumi	Norises vieta
1.	<b>Autonomas un kompaktas lāzeru spekulū attēlošanas ierīces izveide baktēriju skaitīšanai un klasificēšanai</b>	<p><b>MP1 01.07 -30.08.2020.</b> Veikta aktuālā stāvokļa izpēte. Apskatīta pieejama aparatūra un aktuālie zinātniskie raksti.</p> <p><b>MP2 01.09 -10.12.2020.</b> Veikti iekārtas testi laboratorijas apstākļos, saņemti pirmie rezultāti visos apakšetapos, analizētas problēmas un tiek ieviesti uzlabojumi.</p> <p><b>MP3 11.12.2020-30.12.2020.</b> Tiek turpināti eksperimentālās iekārtas testi laboratorijas apstākļos.</p> <p><b>MP4 01.01.2021.-28.02.2021.</b> Sistēmas darbība tiek validēta laboratorijas apstākļos ar reāliem mikrobu paraugiem.</p> <p><b>MP5 01.03.2021.-31.05.2021.</b> Prototips ir notezēts īstā mikrobioloģijas laboratorijas inkubātorā un tiek veikta iegūto datu apstrāde.</p> <p><b>MP6 01.06.2021.-31.08.2021.</b> Izmantojot uzkrāto datu kopu tika papildus pierādīta speklu algoritma efektivitāte darbā reālā vidē.</p> <p><b>MP7 01.09.2021.-30.11.2021.</b> Tiek veikti uzlabojumi sistēmas darbībā, lai izvairīties no trokšņiem, kas eksistē reālā laboratorijā.</p> <p><b>MP8 01.12.2021.-28.02.2022.</b> Tika sagatavots algortims tīro koloniju skaitīšanai un veikta to galīga novērtēšana. Turpmāk algoritms tiks pilnveidots koloniju segmentācijai īpašās barotnēs.</p> <p><b>MP9 01.03.2022.-31.05.2022.</b> Turpinās darbs ar specifisko koloniju klasifikāciju. Prototipam tiek uzlabota optiskā sistēma.</p> <p><b>MP10 01.06.2022.-31.08.2022.</b> <b>Izveidots specifisko koloniju skaitīšanas modulis un tiek veiktas iegultas sistēmas optimizācijas darbi.</b></p>	RTU, DITF

1.1.	Kompakta prototipa ierīces izstrāde mikrobu augšanas monitoringam baltās gaismas un lāzera apgaismojumā	<p><b>MP1 01.07-30.08.2020.</b> Atjaunota informācija par jaunāko aparatūru. Izzināti pieejamie LED moduļi baltais gaismai un lāzerim. Atrasti jaunie kompaktas kameras un lēcas veidi, atjaunots saraksts ar pieejam am igultām neirontīku platformām.</p> <p><b>MP2 1.09-10.12.2020.</b> Izmēģināti vairāki apgaismojumu mezglu un lēcas fiksācijas moduļi. Tika izveidota adaptīvā platformā, kas ļaus regulēt lēcas un apgaismojuma elementu pozīciju un leņķi. Kas nākotnē ļaus atrast izdevīgāko izvietojumu. Tika izveidoti gan 3D modeļi, gan veiktas izdrukas uz 3D printeru, lai pārbaudīt elementu izmantošanas ērtību.</p> <p><b>MP3 11.12.2020-30.12.2020.</b> Ergonomikas pārbaude izveidotājiem 3D modeļu elementiem.</p> <p><b>MP4 01.01.2021.-28.02.2021.</b> Tiek veikti prototipa uzlabojumi, lai samazinātu fiziskos izmērus dēļ optikas prasībām.</p> <p><b>MP5 01.03.2021.-31.05.2021.</b> Prototips tika pārveidots un tika veikta to darbības pārbaude biolaboratorijas inkubatorā.</p> <p><b>MP6 01.06.2021.-30.06.2021.</b> Tika izveidota kompakta ierīce ar iebūvēto apgaismojuma sistēmu. Tā iekļauj: lāzerdiodi, balto diodi un optisku sistēmu apgaismojuma kūļa formēšanai. Ierīce ir autonomā un pieprasīta tikai barošanu un Ethernet vai WiFi pieslēgumu Internetam, lai automātiski atsūtīt iegūtas bildes analīzei mākoņsistēmā.</p> <p><b>Aktivitāte pabeigta.</b></p>	RTU, DITF
1.2.	“Kopējā skaita” funkcijas ieviešana kompaktajā ierīcē, izmantojot lāzera speklu analīzi	<p><b>MP2 01.09-10.12.2020.</b> “Kopējā skaita” funkcijas ieviešana kompaktajā ierīcē, izmantojot lāzera speklu analīzi. Lāzera speklu analīzes metode ir papildināta ar signāla filtrācijas algoritmu kopu, kas ļauj izfiltrēt lielu daļu no trokšņiem, kas negatīvi ietekmē koloniju detektēšanu. Tika izveidota augstas kapacitātes un veikspējas datu glabāšanas platforma, kas ļauj izvairīties no portatīviem datu nesējiem. Tas atļāva dubultot katru eksperimentu attēlu izšķirtspēju un palielināt kopējo eksperimenta ilgumu no 24 stundām līdz 70+. Katru eksperimentu datu apjoms ir palielinājies no vidēji 30GB uz 200GB, kas atļaus veikt pilnīgākos eksperimentus, detektējot arī lēnāk augošās kolonijas.</p> <p><b>MP3 11.12.2020-30.12.2020.</b> Izveidots algoritms kas ir spējīgs iezīmēt baktēriju kolonijas. Iegūti pirmie rezultāti koloniju skaitīšanā.</p> <p><b>MP4 01.01.2021.-28.02.2021.</b> Tiek veikti uzlabojumi koloniju skaitīšanā, lai izfiltrēt trkošņus.</p> <p><b>MP5 01.03.2021.-31.05.2021.</b> Koloniju skaitīšana tika pārbaudīta uz 700+ attēlu datukopas ar precizitāti &gt;84%.</p> <p><b>MP6 01.06.2021.-31.08.2021.</b> Koloniju skaitīšanas algoritms tika uzlabots un sasniedz 85% precizitāti.</p> <p><b>MP7 01.09.2021.-30.11.2021.</b> Koloniju skaitīšanas algoritms salīdzināts ar citiem eksistējošiem segmentācijas algoritmiem. Izveidotais algoritms sniedz labāko precizitāti nekā populārākie algoritmi, ieskaitot tos, kas specializējas uz bioloģiskas sfēras. Tiek turpināti algoritma uzlabojumi.</p> <p>Koloniju aktivitātes detektēšanas algoritms tika uzlabots un spēj atšķirt koloniju segmentus, kur notiek aktīvā dalīšana no neaktīvām.</p>	RTU, DITF

		<p><b>MP8 01.12.2021.-28.02.2022.</b> Izveidots koloniju skaitīšanas un segmentēšanas algoritms. Tas tika pārbaudīts uz vairākām datukopām un tika sagatavota atskaite par rezultējošo kvalitāti.</p> <p><b>Aktivitāte pabeigta.</b></p>	
1.3.	ANN apmācība mikrobu koloniju klasifikācijai	<p><b>MP1 01.07-30.08.2020.</b> Veikta zinātnisko rakstu izpēte. Pieejama informācija sašķirota, nesmot vērā reālos bakteriju paraugus. Definēts paraugu bilžu iegūšanas protokols un nepieciešamais apjoms. Tika apskatītas pieejamas datubāzes ar baktēriju attēliem.</p> <p><b>MP2 1.09-10.12.2020.</b> Savāktai reālo baktēriju attēlu kopai tika veikta koloniju anotācija, kas ļauj veikt tālāko neirontīkla apmācību. Tika uzsāktas neirontīkla apmācības ar reālajiem laboratorijas baktēriju attēliem, izmantojot eksistējošos neirontīku modeļus. Tika identificētas attēlu problemātiskas vietas, kur neirontīku segmentācija klūdas. Ir sastādīts ricībplāns ar potenciālām metodēm, segmentācijas kvalitātes uzlabošanai.</p> <p><b>MP3 11.12-30.12.2020.</b> Izveidota ANN arhitektūra baktēriju koloniju iezīmēšanai baltajos attēlos. Iegūti pirmie KVV skaitīšanas rezultāti.</p> <p><b>MP4 01.01.2021.-28.02.2021.</b> Izveidotais neirontīku modelis tiek testēts un uzlabots uz reālām baktēriju bildēm.</p> <p><b>MP5 01.03.2021.-31.05.2021.</b> Neirontīks ir apmacīts lai atšķirt kolonijas no apkartnēja trokšņa. Tieka uzsākta neirontīkla trenēšana daudzu koloniju tipu atšķiršanai.</p> <p><b>MP6 01.06.2021.-31.08.2021.</b> Neirontīks tika pilnveidots un veikta salidzināšana ar lābākiem eksistējošiem modeļiem. Mūsu modelis ir vidēji labāks visā datu kopā un īpaši labāks bildēs, kur koloniju izmēri ir mazi. Balstoties uz iegūtiem rezultātiem tiek gatavots raksts.</p> <p><b>MP7 01.09.2021.-30.11.2021.</b> Tiek veidots “unsupervised” tipa neirontīkla apmācības algoritms, kas ļaus ievērojami atvieglot apmācības datu kopas sagatavošanu baktēriju koloniju segmentācijai.</p> <p><b>MP8 01.12.2021.-28.02.2022.</b> Tiek attīstīts segmentēšanas algoritms, koloniju segmentēšanai īpašās barotnēs. Tieka veiktas pārbaudes ar esošu segmentēšanas algoritmu, apmācot uz jaunām baktēriju konoliju bildēm.</p> <p><b>MP9 01.03.2022.-31.05.2022.</b> Tika sagatavoti vairāki eksistējošie neirontīku bāzētie klasifikācijas algoritmi, lai izvēlēties labāko un sākt veidot baktēriju koloniju specifisko neirontīkla modeļa izveidi.</p> <p><b>MP10 01.06.2022.-31.08.2022.</b> <b>Izveidota testa versija attēlu pirmsapstrādes algoritmam, kas spēj veikt dažādo mikrobu attēlu pirmsapstrādi, lai veikt tikai noteikto mikrobu koloniju skaitīšanu.</b></p>	RTU, DITF

1.4.	Pilnās funkcionēšanas kompaktas ierīces ar iegultu ANN projektēšana un uzlabošana	<b>MP9 01.03.2022.-31.05.2022.</b> Tiek uzlabota lāzera apgaismojuma sistēma, veidojot labāko lāzera “spēklu” kontrastu un stabilitāti.  <b>MP10 01.06.2022.-31.08.2022.</b> <b>Tika optimizēts neirontīkla modelis, kas veic nespecifisko koloniju skaitišanu, lai tas varētu darboties iegultā sistēmā.</b>	RTU, DITF
2.	<b>Sistēmas testi laboratorijas vidē</b>	Testu veikšana laboratorijas vidē	LU, SIA "Laboratorija Auctoritas"
2.1.	Augšanas testu veikšana, lai attīstītu Sistēmas mikroorganismu "kopējā skaita" funkciju izmantojot references un no analīžu materiāla izdalītos mikroorganismu celmus	<b>MP1 1.07-31.08.2020.</b> Uzsākta mikroorganismu Escherichia coli un Staphylococcus aureus references celmu kultivēšana šķidrajās un cietajās barotnēs (PA, LB); sākta koloniju veidojošo vienibu skaita / mL noteikšana dažādu kultivējot dažādās barotnēs laboratorijas apstākļos.  <b>MP2 1.09-10.12.2020.</b> Turpināta mikroorganismu references celmu: Escherichia coli, Staphylococcus aureus, Vibrio natriegens kultivēšana cietajās barotnēs uz virsmas un pārliečtās plates formā uz LB vai PA barotnēm. Uzņemtas attēlu sērijas gan lāzera speklu uzņemšanas režīmā, gan baltās gaismas un attēlu skanēšanas režīmos. Turpināta koloniju veidojošo vienibu skaita (KVV/ mL) noteikšana testa mikroorganismiem dažādās barotnēs un laboratorijas apstākļos. Uzņemtie attēli tiek uzkrāti vienotā projekta datu bāzē ANN apmācībai.  <b>MP3 11.12.-30.12.2020.</b> Turpināta mikroorganismu references celmu: Escherichia coli, Staphylococcus aureus, Vibrio natriegens kultivēšana cietajās barotnēs uz virsmas un pārliečtās plates formā uz LB vai PA barotnēm. Turpināta koloniju veidojošo vienibu skaita (KVV/ mL) noteikšana testa mikroorganismiem dažādās barotnēs un laboratorijas apstākļos.  <b>MP4 01.01.2021.-28.02.2021.</b> Turpināta mikroorganismu references celmu: Escherichia coli, Staphylococcus aureus, Vibrio natriegens kultivēšana cietajās barotnēs uz virsmas un pārliečtās plates formā. Turpināta koloniju veidojošo vienibu skaita (KVV/ mL) noteikšana testa mikroorganismiem dažādās barotnēs un laboratorijas apstākļos.  <b>MP5 01.03.2021.-31.05.2021.</b> Tika turpināta mikroorganismu references celmu (Escherichia coli, Staphylococcus aureus, Vibrio natriegens) kultivēšana cietajās barotnēs uz virsmas, barotnes dažados dziļumos un pārliečtās plates formā. Veikti pētījumi ar mērķi noteikt koloniju veidojošo vienību skaitu (KVV/ mL) mikroorganismiem dažādās barotnēs. Tika veikti pētījumi baktēriju aktivitātes noteikšanai kolonijas ietvaros un koloniju malās.  <b>MP6 01.06.2021.-31.08.2021.</b> Novērtēta speklu veidošanās intensitāte variējot šūnu skaitu sākotnējā kolonijā. Konstatēts, ka lāzera speklu aktivitāte ir tieši proporcionāla koloniju veidojošo šūnu skaitam.  <b>MP7 01.09.2021.-30.11.2021.</b> Pārbaudīta sistēmas darbība uz lēnāk augošiem mikroorganismiem - raugiem. Konstatēts, ka lēnāk augošu mikroorganismu gadījumā fona trokšņi var traucēt kvalitatīvāku signāla iegūšanu.	LU, SIA "Laboratorija Auctoritas"

	<p><b>MP8 01.12.2021.-28.02.2022.</b> Testēta sistēmas darbība, audzējot kolonijas noteiktu inhibitoru klātbūtnē.</p> <p><b>MP9 01.03.2022.-31.05.2022.</b> Turpināti sistēmas testi augšanas inhibitoru klātbūtnē.</p> <p><b>MP10 01.06.2022.-30.06.2022.</b> <b>Pārskatā periodā tika izanalizēti un apkopoti sistēmas rezultāti no references un no analīžu materiāla izdalītiem mikroorganismu celmiem. Rezultātu apkopojums un galvenie secinājumi ir icklauti ziņojumā par sistēmas darbību.</b></p>	
2.2.	<p>Apakšdarbības īstenošana sākās 01.09.2020.</p> <p><b>MP2 1.09-10.12.2020.</b> Uzsākta mikroorganismu references celmu: Escherichia coli, Staphylococcus aureus, Bacillus spp. kultivēšana specifiskās cietajās barotnēs (asins agars, endo agars, stafilokoku noteikšanas agars). No platēm uzņemti attēli baltās gaismas režīmā. iegūtie attēli tiek uzkrāti vienotā projekta datu bāzē ANN apmācībai.</p> <p><b>MP3 11.12.-30.12.2020.</b> Tiek turpināts baktēriju augšanas dinamikas attēlu iegūšana baltās gaismas režīmā.</p> <p><b>MP4 01.01.2021.-28.02.2021.</b> Tiek turpināta baktēriju augšanas dinamikas un KVV attēlu iegūšana baltās gaismas režīmā. Uzsākta ANN sistēmas koloniju atpazīšanas funkcijas manuāli pārbaude.</p> <p><b>MP5 01.03.2021.-31.05.2021.</b> Turpināta baktēriju celmu (Escherichia coli, Staphylococcus aureus, Vibrio natriegens) augšanas dinamikas un KVV attēlu iegūšana baltās gaismas režīmā un lāzera apgaismojumā.</p> <p><b>MP6 01.06.2021.-31.08.2021.</b> Pārbaudīti sistēmas darbība uzņemot (Escherichia coli, Staphylococcus aureus, Vibrio natriegens) makrokoloniju augšanu.</p> <p><b>MP7 01.09.2021.-30.11.2021.</b> Veikta KVV skaitīšanas metožu (CFU Scope aplikācija un Funke Gerber pusautomātiskā skaitīšanas iekārtā) verifikācija salīdzinot ar manuālās skaitīšanas paņēmienu. Pārbaudīta sistēmas darbība, uzņemot speklus ar references Saccharomyces cerevisiae, Kluyveromyces marxianus kultūrām.</p> <p><b>MP8 01.12.2021.-28.02.2022.</b> Salīdzināti baktēriju augšana baltās gaismas režīmā un lāzera speklu apgaismojumā. Rezultātā konstatēts, ka augšanas līknes sakrīt un lāzera speklu sistēma ir piemērota koloniju augšanas dinamikas ierakstiem.</p> <p><b>MP9 01.03.2022.-31.05.2022.</b> Mikroorganismu augšanas testu veikšana, lai novērtētu dažāda satura (attiecīgi krāsas vai konsistences) ietekmi uz sistēmas darbību.</p> <p><b>MP10 01.06.2022.-31.08.2022.</b> <b>Tiek turpināt darbs pie lāzera speklu attēlu iegūšanas un priekšapstrādes turpmākai ANN apmācībai.</b></p>	LU

2.3.	Sistēmas darbības pārbaude reālos laboratorijas apstākļos izmantojot nezināmus mikroorganismu celmus	n/a	
3.	<b>Sistēmas testi reālā vidē</b>	n/a	
3.1.	Sistēmas darbības verifikācija Auctoritas laboratorijā izmantojot vismaz 3 ISO vai GOST standartmetodes	<b>MP10 01.07.2022.-31.08.2022.</b> <b>Uzsākta sistēmas validācija SIA Laboratorija Auctoritas. Pārskata perioda tiek uzsākti sistēmas veikspējas testi lai noteiktu mikroorganismu kopējo skaitu analīžu paraugos. Iegūtie rezultāti tika salīdzināti ar ISO metodes.</b>	LU, SIA "Laboratorija Auctoritas"
3.2.	Jaunas standartmetodes atīstīšana, tās validācija pret "zelta standartu" (manuālu KVV skaitīšanu)	n/a	
4.	<b>Publicitāte un izplatīšana</b>	Zinātniskās literatūras izpēte.	LU, RTU, SIA "Laboratorija Auctoritas"
4.1.	Projekta rezultātu publicēšana un izplatīšana	<b>MP 1 01.07-31.08.2020.</b> Pārskata periodā tika veikta zinātniskas literatūras izpēte ar mērķi aktualizēt esošo problēmu un projekta pievadāto risinājumu nozīmi un aktualitāti. <b>MP2 1.09-10.12.2020.</b> Sagatavots literatūras pārskats par baktēriju kopējā skaita novērtēšanu ar optiskām metodēm. Identificētas starptautiskās konferences dalībai 2021. gadā. Uzsākta zinātniskā raksta sagatavošana, kurā tiek izvirzītas tēzes turpmākai izstrādei. <b>MP3 11.12-30.12.2020.</b> Identificētas tēzes zinātniska raksta sagatavošanai. <b>MP4 01.01.2021.-28.02.2021.</b> Sagatavots un iesniegts zinātniskais raksts "Laser Speckle Imaging Reveals Bacterial Activity Within Colony"	LU, RTU, SIA "Laboratorija Auctoritas"

dalībai "European Conferences on Biomedical Optics" konferencei.

**MP5 01.03.2021.-31.05.2021.**

Sagatavota prezentācija konferencei "European Conferences on Biomedical Optics".

Dalība Zinātnieku nākts pasākumā ar projekta praktisko rezultātu prezentāciju.

**MP6 01.06.2021-31.08.2021.**

Sagatavots un iensiegti zinātnisks raksts žurnālā "Journal of Biomedical Photonics & Engineering". Šobrīd notiek rakta labošana saskaņā ar recenzētu piebildēm.

Dalība un prezentācija konferencē "European Conferences on Biomedical Optics".

**MP7 01.09.2021.-30.11.2021.**

Nopublicēti zinātniskie raksti: a) Ilya Balmages, Janis Liepins, Dmitrijs Bliznuks, Stivens Zolins, Ilze Lihacova, Alexey Lihachev, "Laser speckle imaging reveals bacterial activity within colony," Proc. SPIE 11920, Diffuse Optical Spectroscopy and Imaging VIII, 1192024 (9 December 2021); <https://doi.org/10.1117/12.2615444>

b) A. Lihachev, D. Blīznuks, J. Liepiņš, and I. Lihacova, Laser Applications for Estimation of Microbial Activity and Investigation of NIR Skin Autofluorescence, Journal of Biomedical Photonics & Engineering, vol. 7, no. 4, p. 040305, Nov. 2021.

Iesniegts zinātnisks raksts - D. Blīznuks et. al., Multi-Path U-Net Architecture for Cell and CFU Image Segmentation, MDPI Sensors, under review.

Dalība Zināšanu agora 2021 ar prezentāciju - <https://www.lumic.lu.lv/en/about-us/news/detailed-view/t/68621/>  
Populārzinātnisks raksts portālā Delfi.lv - <https://www.delfi.lv/campus/raksti/latvijas-zinatnieki-rada-metodi-atrakai-mikrobiologiska-piesarnojuma-konstatesanai?id=53723945>

**MP8 01.12.2021. -28.02.2022.**

Nopublicēti zinātnisks raksts žurnālā ar impact faktoru kas sasniedz vismaz 50% no nozares vidējās vertības - Jumutc, V.; Blīznuks, D.; Lihachev, A. Multi-Path U-Net Architecture for Cell and Colony-Forming Unit Image Segmentation. Sensors 2022, 22, 990. <https://doi.org/10.3390/s22030990>.

Iesniegts SCOPUS zinātnisks raksts Ilya Balmages, et. al., "Evaluation of microbial colony growth parameters by laser speckle imaging", SPIE Proc, Paper No.12144-30, accepted, conf.proc., EPE2022.

Sagatavota un iesūtīta prezentācija dalībai EPE2022 konferencē.

Sniegts ziņojums par projekta progresu un vidusposma rezultātiem LU ASI zinātniskājā seminārā, 27.01.2022.

**MP9 01.03.2022.-31.05.2022.**

Nopublicēti zinātnisks raksts SCOPUS žurnālā - Ilya Balmages, Janis Liepins, Ernests T. Auzins, Anitra Zile, Dmitrijs Blīznuks, Ilze Lihacova, and Alexey Lihachev "Evaluation of microbial colony growth parameters by laser speckle imaging", Proc. SPIE 12144, Biomedical Spectroscopy, Microscopy, and Imaging II, 121440B (27 May 2022). Sniegts ziņojums PE2022 konferencē - I.Balmages et. al., Evaluation of microbial colony growth parameters by laser speckle imaging, SPIE Photonics Europe, 2022, Strasbourg, France.

**MP10 01.07.2022.-31.08.2022.**

Iesniegts zinātnisks raksts I. Balmages et al., Use of the speckle imaging sub-pixel correlation analysis in revealing a mechanism of microbial colony growth, Scientific Reports (under review). Nopublicēts raksta pre-prints, pieejams - <https://www.researchsquare.com/article/rs-2010339/v1>

Sagatavota un iesniegta tēze A.Lihachev et al., Dynamic laser speckle imaging for estimation of microbial

		<b>growth activity, dalībai konferencē 3rd Baltic Biophysics Conference, Viļņa, Lietuva. Pieteikta dalība pasākumā Zinātnieku Nakts ar nosaukumu – “Baktēriju augšanas demonstrācija, izmantojot lāzera speklu metodi”.</b>	
4.2.	Zinātības apraksta sagatavošana licencēšanai	n/a	

31.10.2022.