



LATVIJAS UNIVERSITĀTE
**ATOMFIZIKAS UN
SPEKTROSKOPIJAS
INSTITŪTS**



AUTORITAS
Laboratorija

Ātra un rentabla, uz mašīnmācīšanos balstīta sistēma
mikroorganismu augšanas analīzei
ERAFA 3.k. # 1.1.1.1/19/A/147

Zinātniskais vadītājs Aleksejs Ļihačovs
Administratīvais vadītājs Liene Ozoliņa

07.2020-06.2023

Sadarbībā ar Rīgas Tehnisko universitāti un SIA "Laboratorija Auctoritas"

NACIONĀLĀS
ATTĪSTĪBAS
PLĀNS 2020



EIROPAS SAVIENĪBA
Eiropas Reģionālās
attīstības fonds

Prezentēts LU Atomfizikas un
spektroskopijas institūta zinātniskajā
seminārā 27.01.2022.

I E G U L D I J U M S T A V Ā N Ā K O T N ē

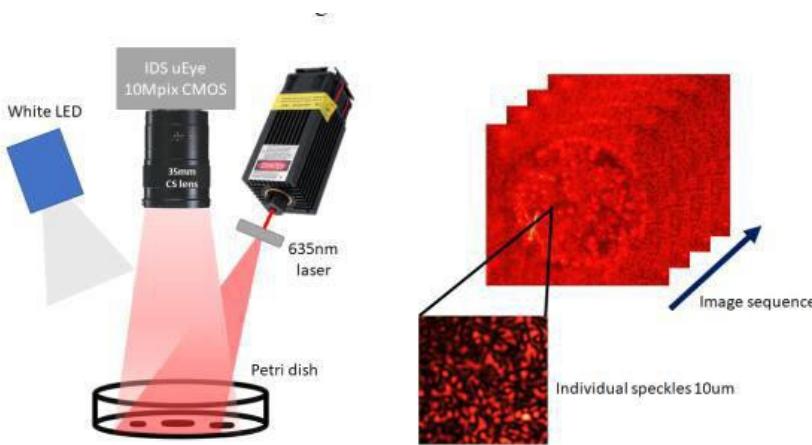
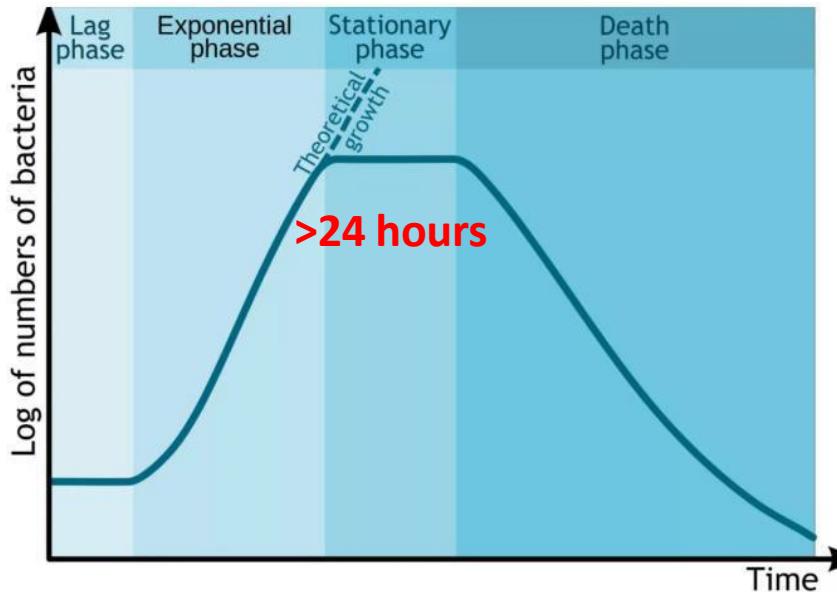
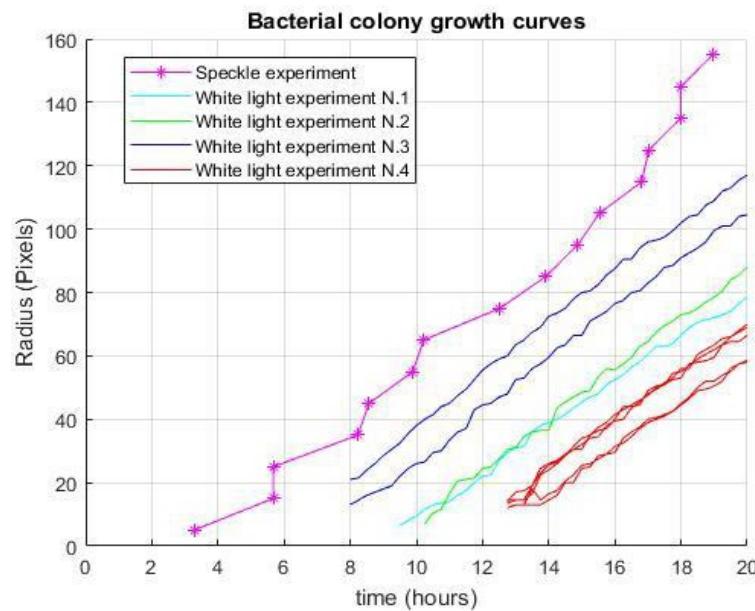


Fig.1. Setup scheme for burst image capturing of bacteria growing process under 635 nm laser and white LED illumination.



Mērkis:

Izstrādāt un validēt jaunu, rentablu sistēmu mikroorganismu aktivitātes agrīnai novērtēšanai cietās barotnēs.

Projekta mērķis un sagaidāmie rezultāti

- izveidot rentablu, autonomu kompaktu lāzeru speklu attēlošanas sistēmu mikroorganismu skaitīšanai un klasificēšanai;
- validēt mikroorganismu skaitīšanas un klasifikācijas sistēmu laboratorijas vidē;
- validēt mikroorganismu skaitīšanas un klasifikācijas sistēmu reālajā vidē;
- izstrādāt protokola priekšlikumu jaunai standartmetodei mikroorganismu skaitīšanai;
- iesniegt 9 zinātniskus rakstus žurnālos vai konferenču materiālos, kas citēti SCOPUS vai Web of Science datubāzēs. Trīs no tiem – brīvpieejas recenzētos žurnālos, kuru citēšanas indekss sasniedz vismaz 50% no nozares vidējā.



LATVIJAS UNIVERSITĀTE
**ATOMFIZIKAS UN
SPEKTROSKOPIJAS
INSTITŪTS**



AUCTORITAS
Laboratorija

Vadošais partneris, sistēmas testi laboratorijas vidē WP2, WP4

Vadošais pētnieks Aleksejs Ļihačovs

Vadošais pētnieks Dr. biol. Jānis Liepiņš

Vadošais pētnieks Dr. fiz Ilze Ļihačova

Laborants biol. Fak. bak. studente Anita Zīle

Algoritmu un sistēmas izstrāde WP1, WP4

Vadošais pētnieks Dr.sci.ing. Dmitrijs Blīzņuks

Vadošais pētnieks Dr.sci.ing. Katrina Boločko

Pētnieks Dr.sci.ing. Andrejs Bondarenko

Sistēmas testi reālajā vidē WP3, WP4

Eksperts Edgars Baranovičs

Eksperts Dzintars Rozītis

Eksperts Vilens Jumucs

Eksperts Dr.biol. Ieva Bērziņa

Laboratni: Stīvens Zoljins, Ilya Balmages, Ernests Tomass Auziņš

Īstenošanas laika grafiks

Vidusposms

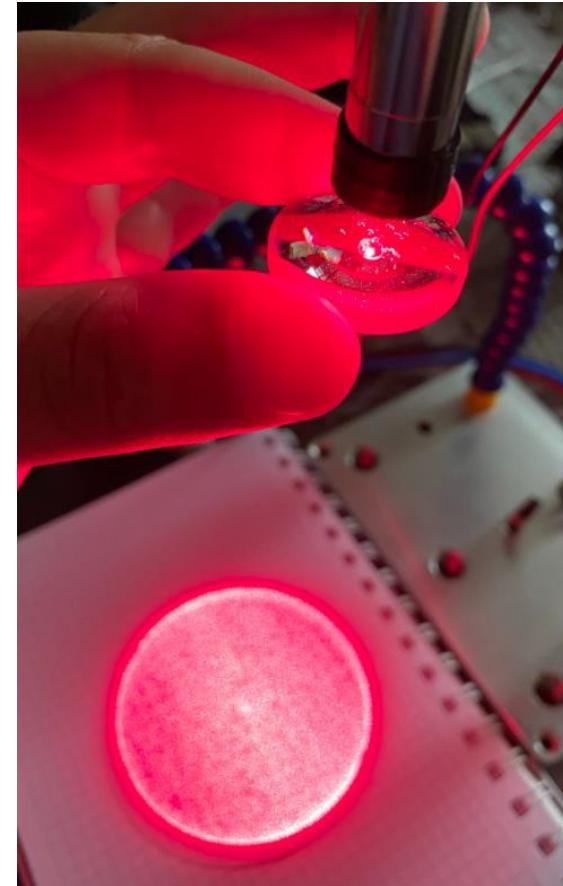
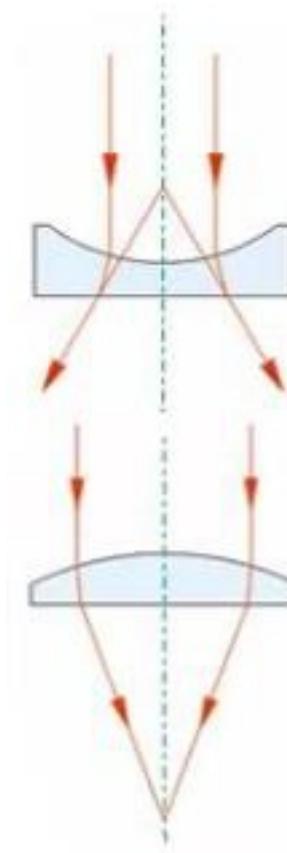
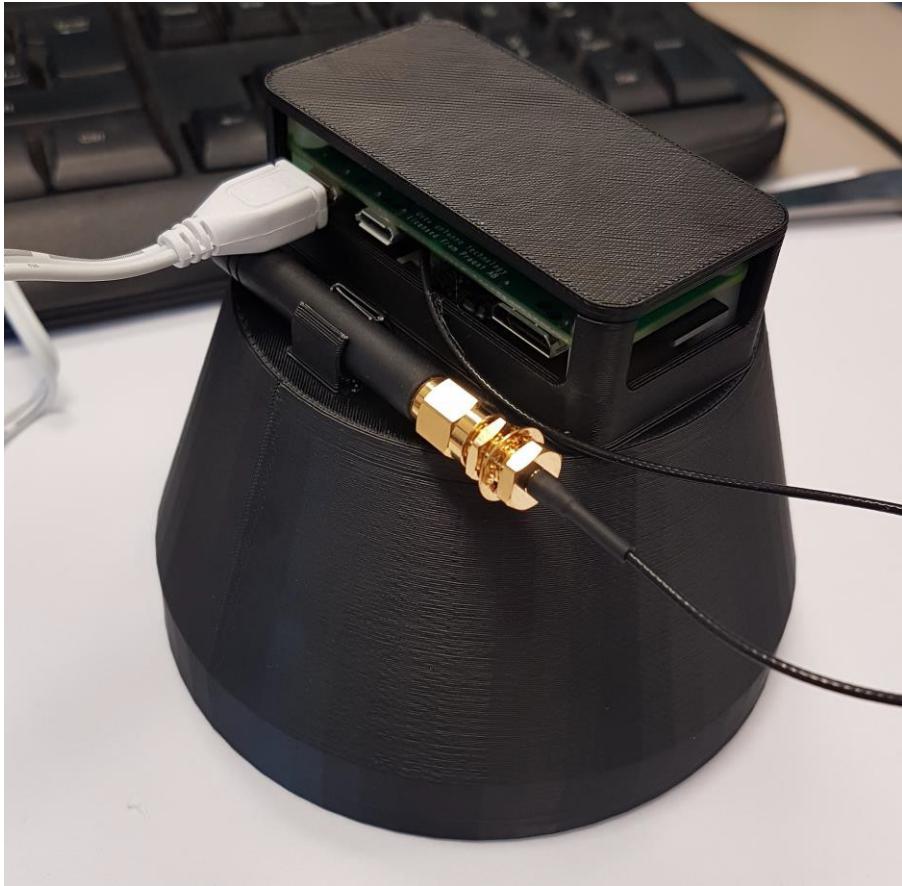
Nr.p.k.	Projekta darbības numurs	2020.				2021.				2022.				2023.				
		1.	2.	3.	4.	1.	2.	3.	4.	1.	2.	3.	4.	1.	2.	3.	4.	
1.	Autonomas un kompaktas lāzeru speklu attēlošanas ierīces izveide baktēriju skaitīšanai un klasificēšanai			X	X	X	X	X	X	X	X	X	X					
1.1.	Kompakta prototipa ierīces izstrāde mikrobu augšanas monitoringam baltās gaismas un lāzera apgaismojumā			X	X	X	X											
1.2.	"Kopējā skaita" funkcijas ieviešana kompaktajā ierīcē, izmantojot lāzera speklu analīzi				X	X	X	X	X	X								
1.3.	ANN apmācība mikrobu koloniju klasifikācijai			X	X	X	X	X	X	X	X	X	X					
1.4.	Pilnās funkcionēšanas kompaktas ierīces ar iegultu ANN projektēšana un uzlabošana										X	X	X	X	X	X	X	X
2.	Sistēmas testi laboratorijas vidē			X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
2.1.	Augšanas testu veikšana, lai attīstītu Sistēmas mikroorganismu "kopējā skaita" funkciju izmantojot references un no analīžu materiāla izdalītos mikroorganismu celmus			X	X	X	X	X	X	X	X	X						
2.2.	Mikroorganismu references celmu augšanas testi uz specifiskām atlases barotnēm, lai uzkrātu attēlu masīvu ANN apmācībai			X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
2.3.	Sistēmas darbības pārbaude reālos laboratorijas apstākļos izmantojot nezināmus mikroorganismu celmus														X	X	X	
3.	Sistēmas testi reālā vidē														X	X	X	X
3.1.	Sistēmas darbības verifikācija Auctoritas laboratorijā izmantojot vismaz 3 ISO vai GOST standartmetodes														X	X	X	X
3.2.	Jaunas standartmetodes atīstīšana, tās validācija pret "zelta standartu" (manuālu KVV skaitīšanu)														X	X		
4.	Publicitāte un izplatīšana			X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
4.1.	Projekta rezultātu publicēšana un izplatīšana			X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
4.2.	Zinātības apraksta sagatavošana licencēšanai														X	X		

Plānotie vidusposma rezultāti

- D1.1 Ierobežoto funkciju ierīces prototips.
- D1.2 Progresa pārskats par algoritmu izstrādi, kuri ir spējīgi detektēt baktēriju augšanu un definēt koloniju skaitu.
- D2.1 Progresa pārskats par sistēmas darbības efektivitāti, veicot kopīgo koloniju veidojošo vienību uzskaiti.
- 3 Scopus publikācijas, ieskaitot vienu ar citēšanas indeksu $>50\%$.
- 3 prezentācijas konferencēs.

WP1 Ierobežoto funkciju ierīces prototips (D1.1)

RTU



Ievietota jauna, efektīva lāzerdiode. Lāzerdiode papildināta ar optisko sistēmu, kas nodrošina vienmērīgu apgaismojumu Petri platē.

WP1 Progresa pārskats par algoritmu izstrādi, kas detektē baktēriju augšanu un definē koloniju skaitu (D1.2)
 RTU, SIA «Laboratorija Auctoritas»

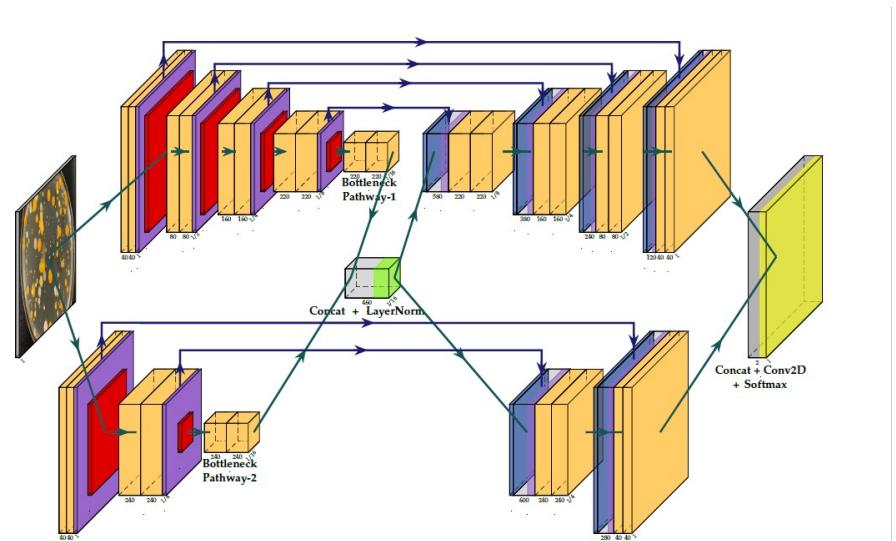
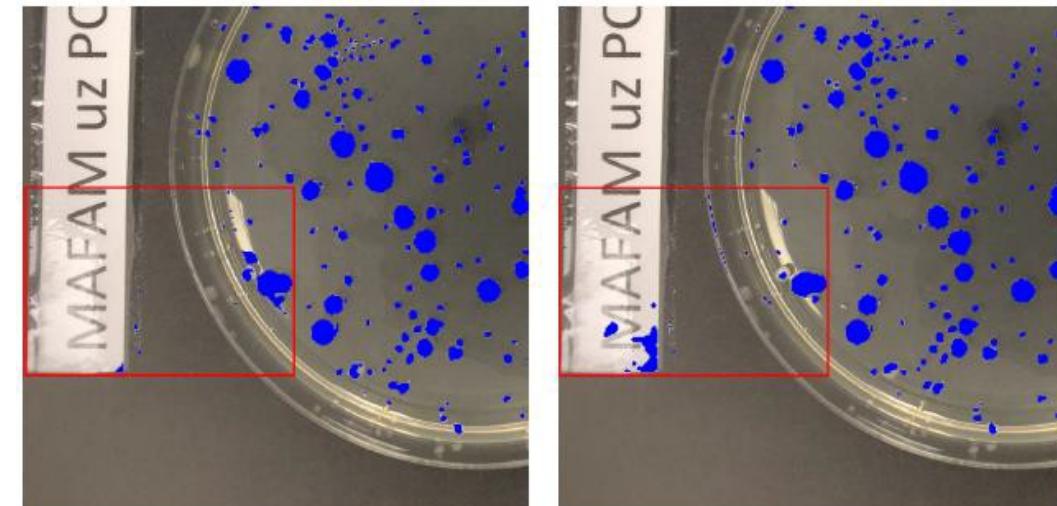
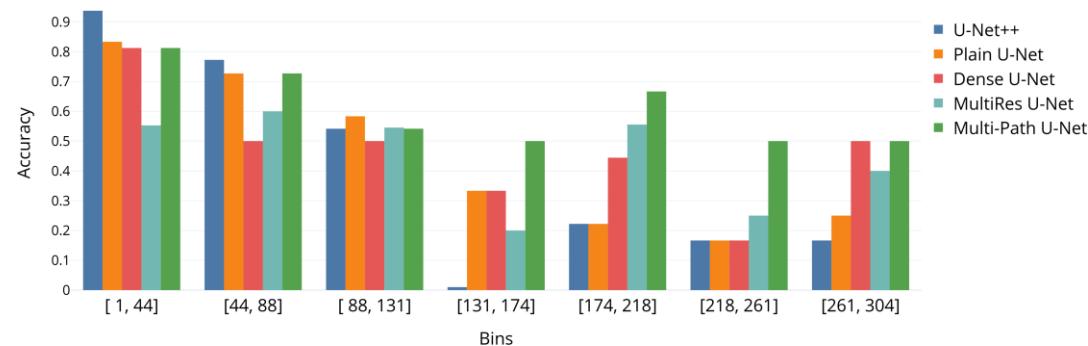
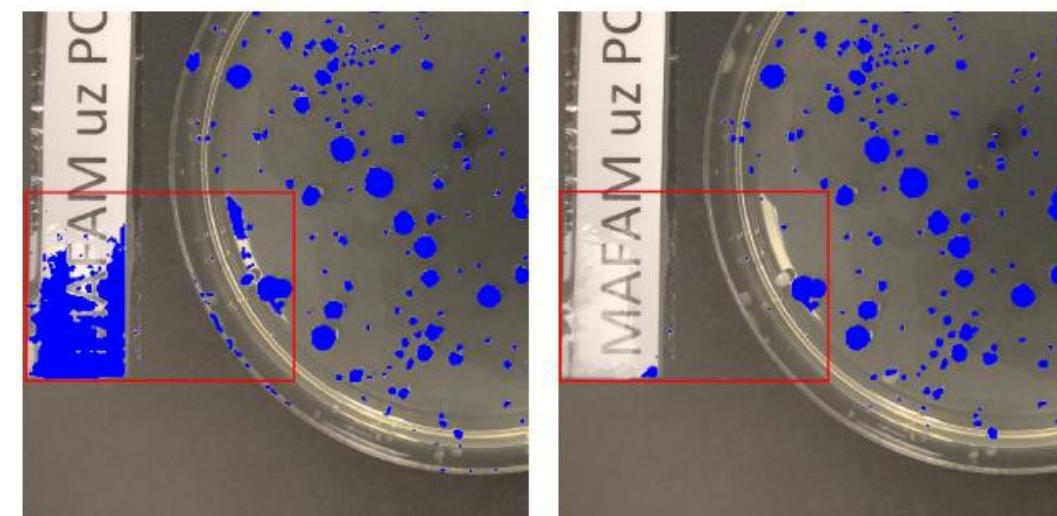


Figure 1. Overall multi-path U-Net architecture. The input layer is shown in terms of a typical CFU image followed by the ramification into two separate pathways. All convolutional layers are shown in light-orange with the subscripted number of filters, which amounts to a 3×3 kernel, followed by instance normalization and leaky ReLU activation. The spatial dropout layer is shown in violet, the max pooling layer in red, and the deconvolutional layer is shown in light-blue. Concatenation layers are depicted in light-gray. Interconnecting and final output layers are captioned and displayed in green and yellow, respectively. All normal pathways are illustrated in green arrow lines, while skip-connections are depicted in blue. Best viewed in color.



(c) CFU segmentation by U-Net++

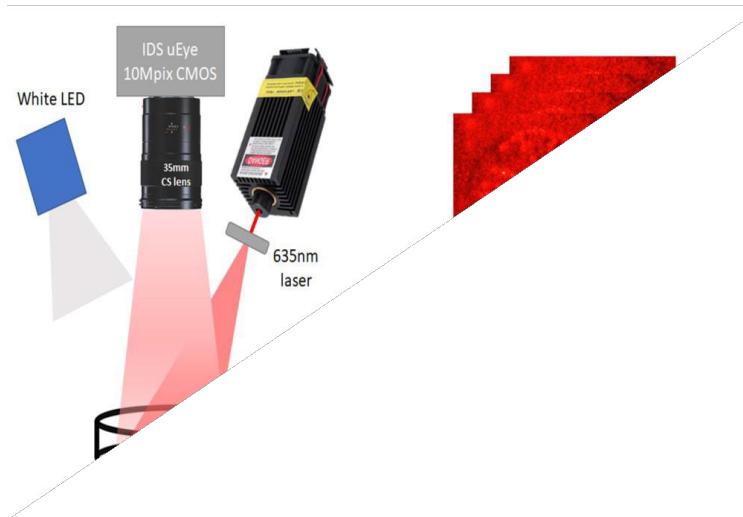
(d) CFU segmentation by Plain U-Net



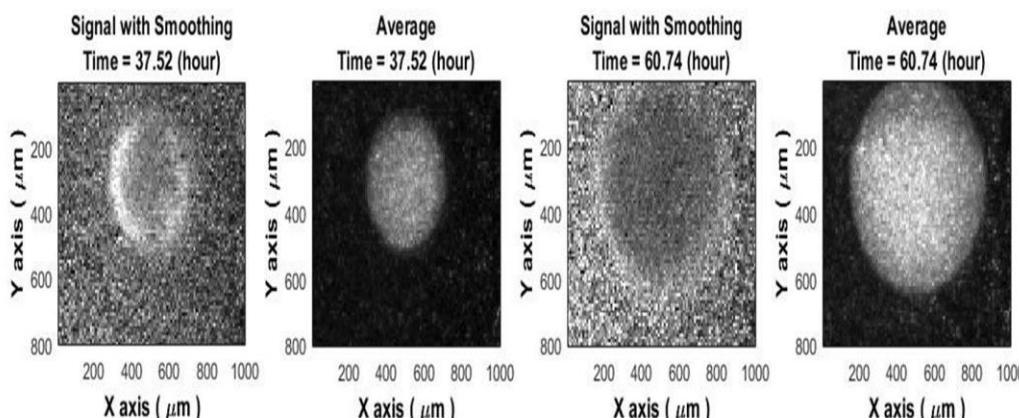
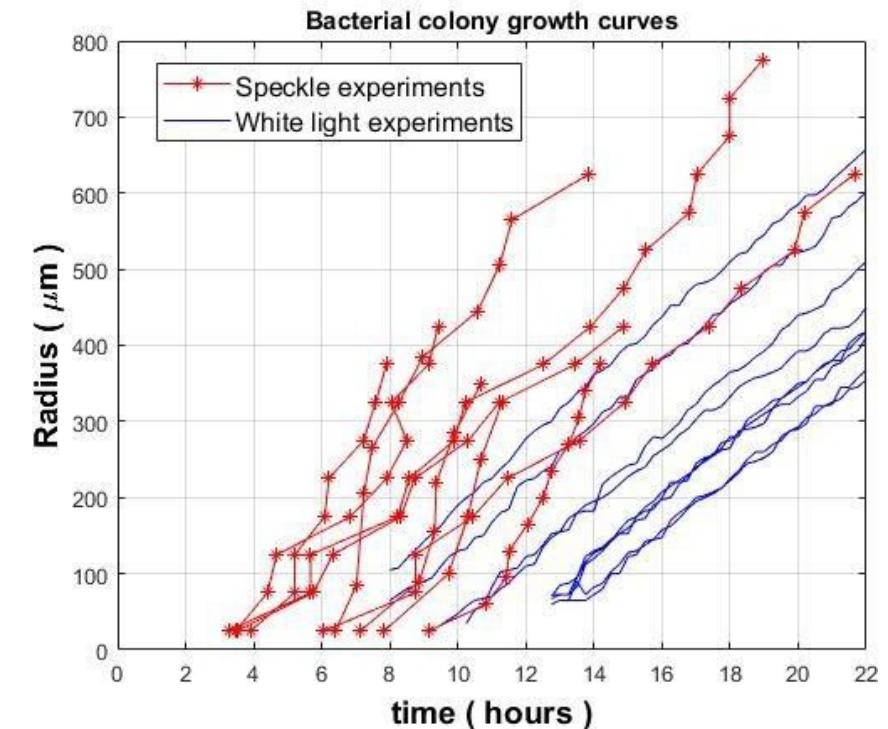
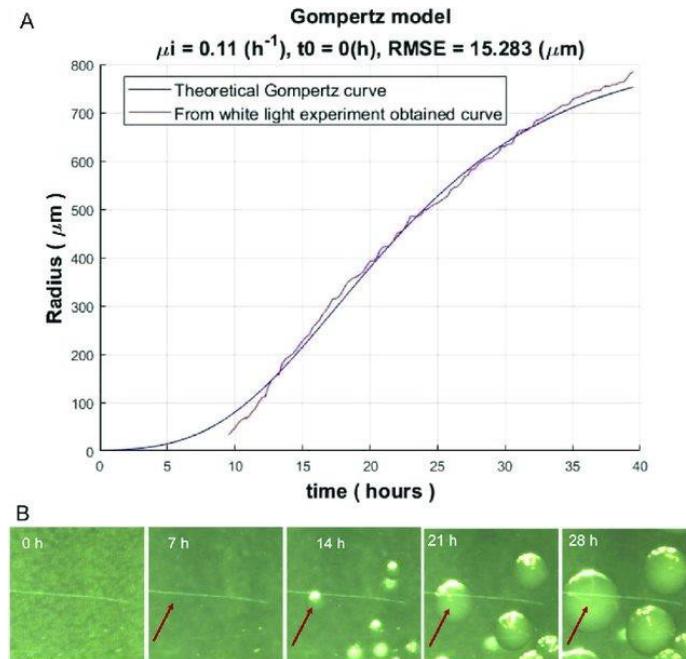
(e) CFU segmentation by MultiRes U-Net

(f) CFU segmentation by Multi-Path U-Net

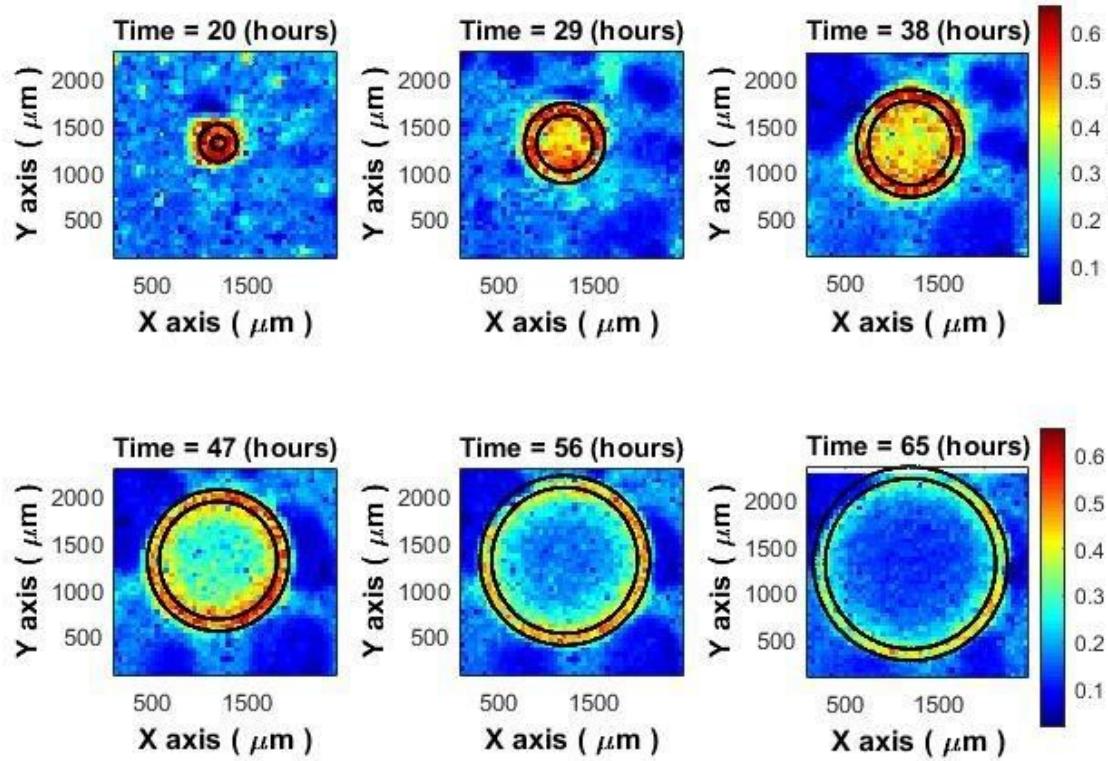
WP1, WP2 Algoritma izstrāde un aprobācija laboratorijas vidē LU, RTU



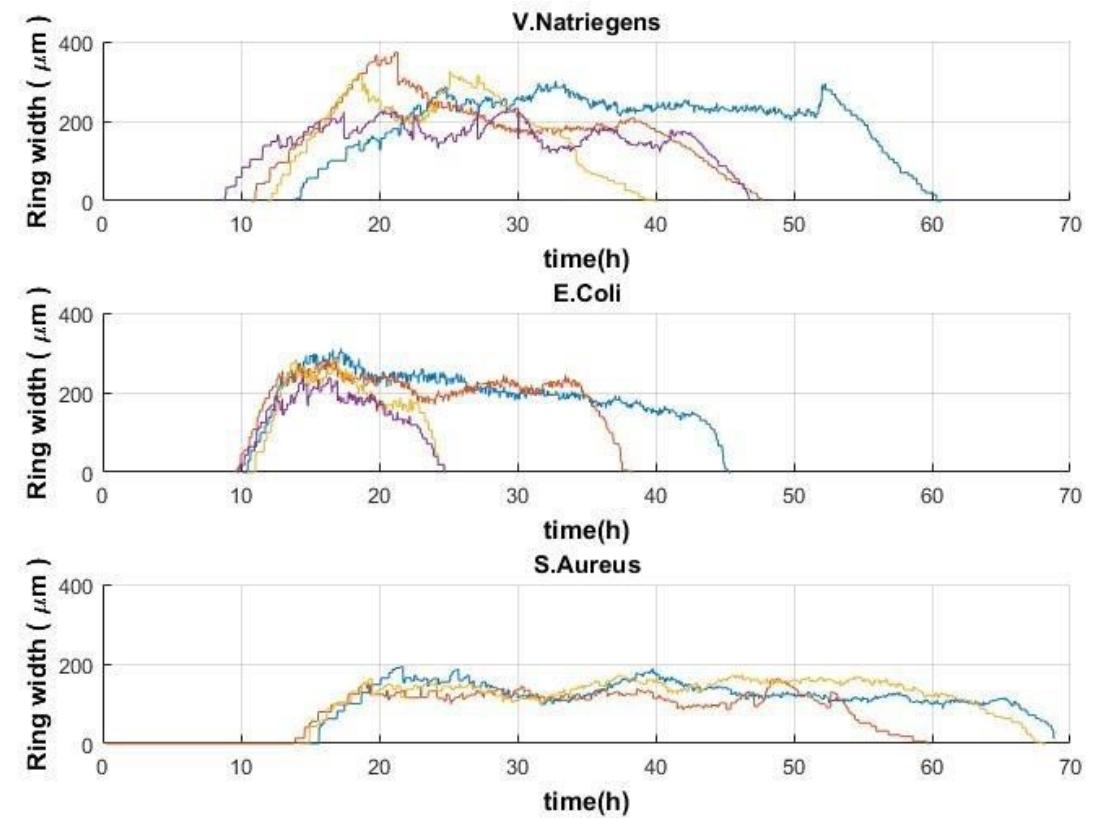
- 1) Performing a two-dimensional normalized correlation between a fragment of the image allows you to find the changes in the speckle image that occur as a result of dynamic activity.
- 2) Finding the location off set of the maximum correlation value determines the changes that occurred between frames.
- 3) To find a more accurate value of the offset, interpolation was performed within the maximum of the correlation function.
- 4) It is necessary to consider previous offsets. Therefore, the offsets obtained between each pair of adjacent samples accumulate.*



WP2 Laser speckle imaging reveals bacterial activity within colony LU, RTU

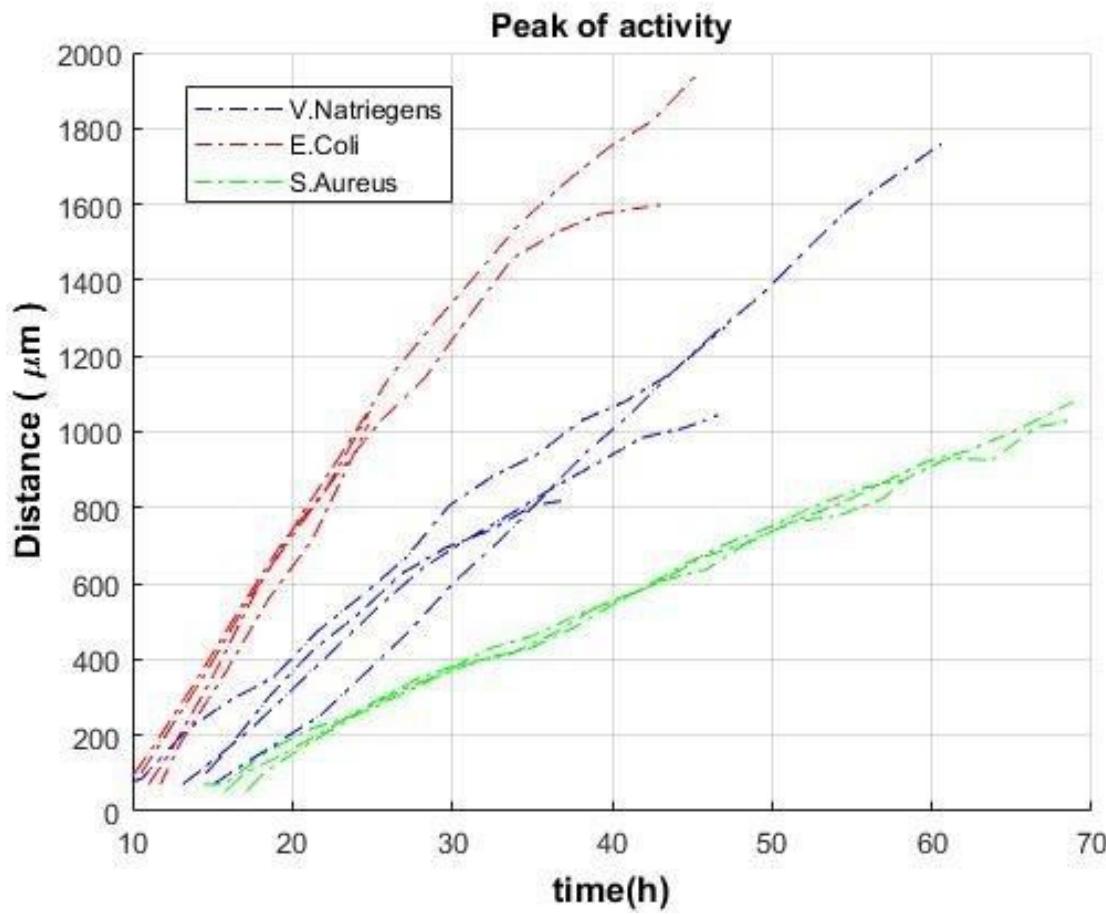


A comparison of the obtained width of the activity "ring" for one colony at different times (black lines).

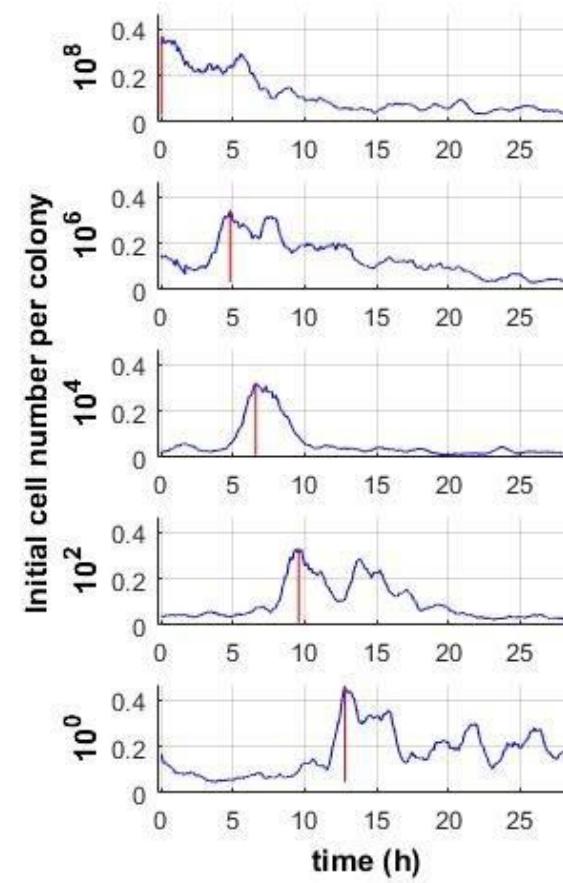


"Ring" width as a function of time for different types of bacterial colonies.

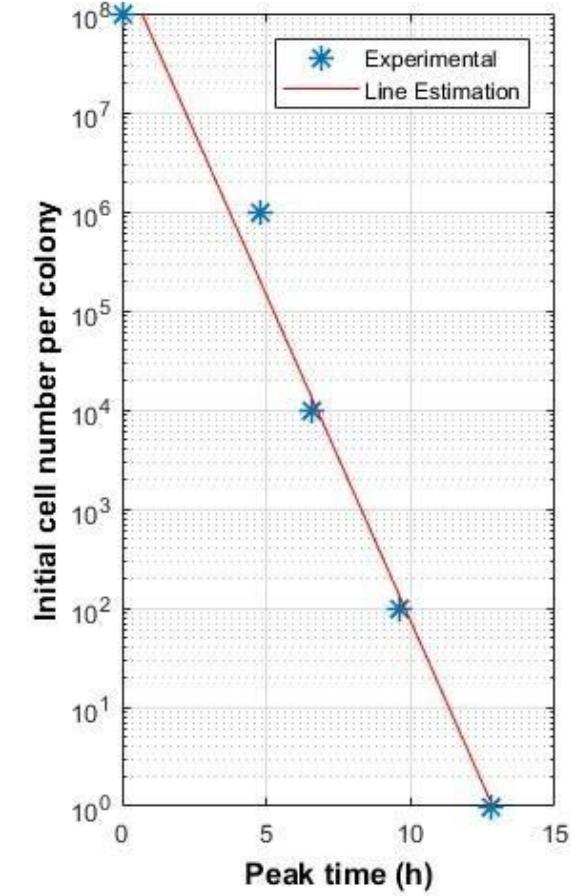
WP2 Sistēmas testi laboratorijas vidē LU, RTU



Colony peak activity curve as a function of time of the *V. natriegens* (blue), *E. coli* (red) and *S. aureus* (green)



Colony peak activity time for different initial concentration of bacteria.

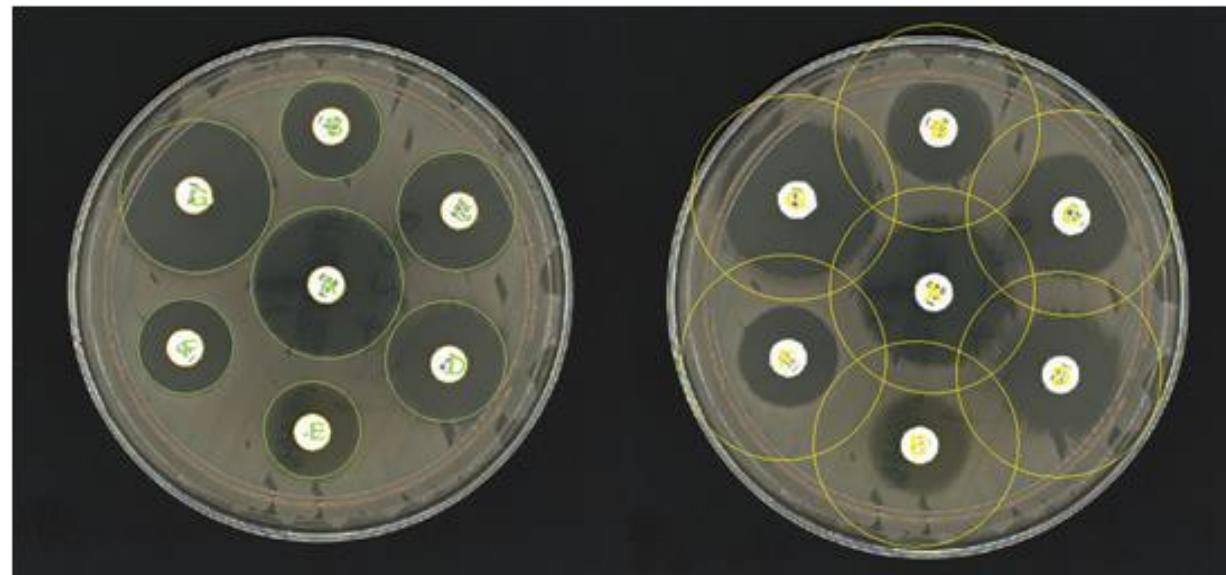


Turpmākie soļi

- Plānotas 6 prezentācijas konferencēs
- +2 zinātniskie raksti ar citēšanas indeksu >50%
- +4 konferenču raksti
- Sistēmas testi reālajā vidē WP3
- ERANET, FLPP, ERC, Deep Tech Start Up

ERA5. kārta

«Antibakteriālās rezistences ātras novērtēšanas sistēma pacientiem ar sekundārām bakteriālām infekcijām»
Zinātniskais vadītājs Ilze Ļihačova



1.3. Projektā sasniegtie uzraudzības rādītāji atbilstoši normatīvajos aktos par attiecīgā Eiropas Savienības fonda specifiskā atbalsta mērķa vai pasākuma īstenošanu norādītajiem:

Iznākuma rādītāji					
Nr.	Rādītāja nosaukums	Sasniegtā vērtība		Plānotā gala vērtība	Mērvienība
		gads	Plānotā starpvērtība (sasniegtā starpvērtība)		
1.	Jaunu pētnieku skaits atbalstītajās vienībās (pilnas slodzes ekvivalenti)	2021	1 (1,24)	2.2	Pilnslodzes ekvivalenti
2.	Zinātnisko rakstu skaits, kuru izstrādei un publicēšanai sniegs atbalsts projekta ietvaros	2021	3 (3)	9	Zinātnisko rakstu skaits
2.1.	Oriģināli zinātniskie raksti, kas publicēti žurnālos vai konferenču rakstu krājumos, kuru citēšanas indekss sasniedz vismaz 50 procentus no nozares vidējā citēšanas indeksa	2021	1 (1)	3	Zinātnisko rakstu skaits
2.2.	Oriģināli zinātniskie raksti, kas publicēti Web of Science vai SCOPUS (A vai B) datubāzēs iekļautos žurnālos vai konferenču rakstu krājumos	2021	3 (3)	9	Zinātnisko rakstu skaits
3.	Jaunu produktu un tehnoloģiju skaits, kas ir komercializējamas un kuru izstrādei sniegs atbalsts projekta ietvaros	2021	0	1	Produktu un tehnoloģiju skaits
4.	Jauna produkta vai jaunas tehnoloģijas, tai skaitā metodes, prototips	2021	0	1	Prototipu skaits
5.	Jaunas nekomercializējamas ārstniecības un diagnostikas metodes	2021	0	0	Metožu skaits
6.	Intelektuālā īpašuma licences vai nodošanas līgumi	2021	0	1	Līgumu skaits
7.	Privātās investīcijas, kas papildina valsts atbalstu inovācijām vai pētniecības un izstrādes projektiem	2021	19428,40 (18734,82)	38856,80	EUR
8.	Komersantu skaits, kuri sadarbojas ar pētniecības organizāciju	2021	1 (1)	1	Komersanti
9.	Citi pētījuma specifikai atbilstoši projekta rezultāti (tai skaitā dati)	2021	3 (3)	12	Skaits
10.	Tehnoloģiju tiesības - patenti	2021	0	0	Patentu skaits
11.	Tehnoloģiju tiesības - citi nemateriālie aktīvi	2021	0	1	Nemateriālo aktīvu skaits
12.	Jauno zinātnieku skaits (pilnas slodzes ekvivalenti), kuriem projekta īstenošanas ietvaros pilnveidota kompetence, ieskaitot karjeras izaugsmes un personāla atjaunotnes procesus ¹	2021	0,75 (0,8)	1,5	Pilnslodzes ekvivalenti

Publikācijas:

1. Ilya Balmages, Janis Liepins, Dmitrijs Bliznūks, 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>
2. A. Lihachev, D. Blīzņuks, 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.
3. Vilen Jumutc, Dmitrijs Bliznūks, and Alexey Lihachev, Multi-Path U-Net Architecture for Cell and CFU Image Segmentation, ID sensors-1522220, Mdpi Sensors, accepted 2022.

Zinojumi konferencēs:

1. Ilya Balmages, Janis Liepins, Dmitrijs Bliznūks, Stivens Zolins, Ilze Lihacova, Alexey Lihachev, "Laser speckle imaging reveals bacterial activity within colony, European Conferences on Biomedical Optics, 2021, Online Only.
2. Jānis Liepiņš, Application of laser speckles for CFU counting, UL scientific conference, 21.02.2020.
3. Aleksejs Ļīhačovs, Jānis Liepiņš, D. Blīzņuks, I. Balmages, S. Zolins. Fast and non-contact optical estimation of microorganisms activity, UL scientific conference, 12.02.2021.
4. Ilya Balmages et al., Evaluation of microbial colony growth parameters by laser speckle imaging, SPIE Photonics Europe 2022, accepted for oral presentation, scheduled for 3 - 7 April 2022, Strasbourg, France.

Zinojumi semināros, publiskos pasākumos, sociālajos mēdijos:

1. Aleksejs Ļīhačovs, Dmitrijs Blīzņuks and Edgars Baranovičs, project reports at UL Institute of Atomic Physics and Spectroscopy, 17.12.2020 and 27.01.2022.
2. Jānis Liepiņš, To see invisible or detection of microbial colonies for faster contamination assessment (in latvian), University of Latvia New Technologies and Innovations Day 2021, 20.05.2021.
3. Aleksejs Ļīhačovs, Demonstration of project results, Researchers Night (in latvian), available at: <https://www.youtube.com/watch?v=-T1FGM3jXQY> 30.04.2021.
4. UL communication department and Jānis Liepiņš, "Latvian scientists are creating a method for faster detection of microbiological contamination" (in latvian, 2021, leading news portal -Delfi) available at: <https://www.delfi.lv/campus/raksti/latvijas-zinatnieki-rada-metodi-atrakai-mikrobiologiska-piesarnojuma-konstatacijai?id=53723945>
5. Regular publishing of experimental data in youtube channel, available at <https://www.youtube.com/channel/UCwLMGqXHcj2FtQt7XW0G1wg/featured>

Paldies!