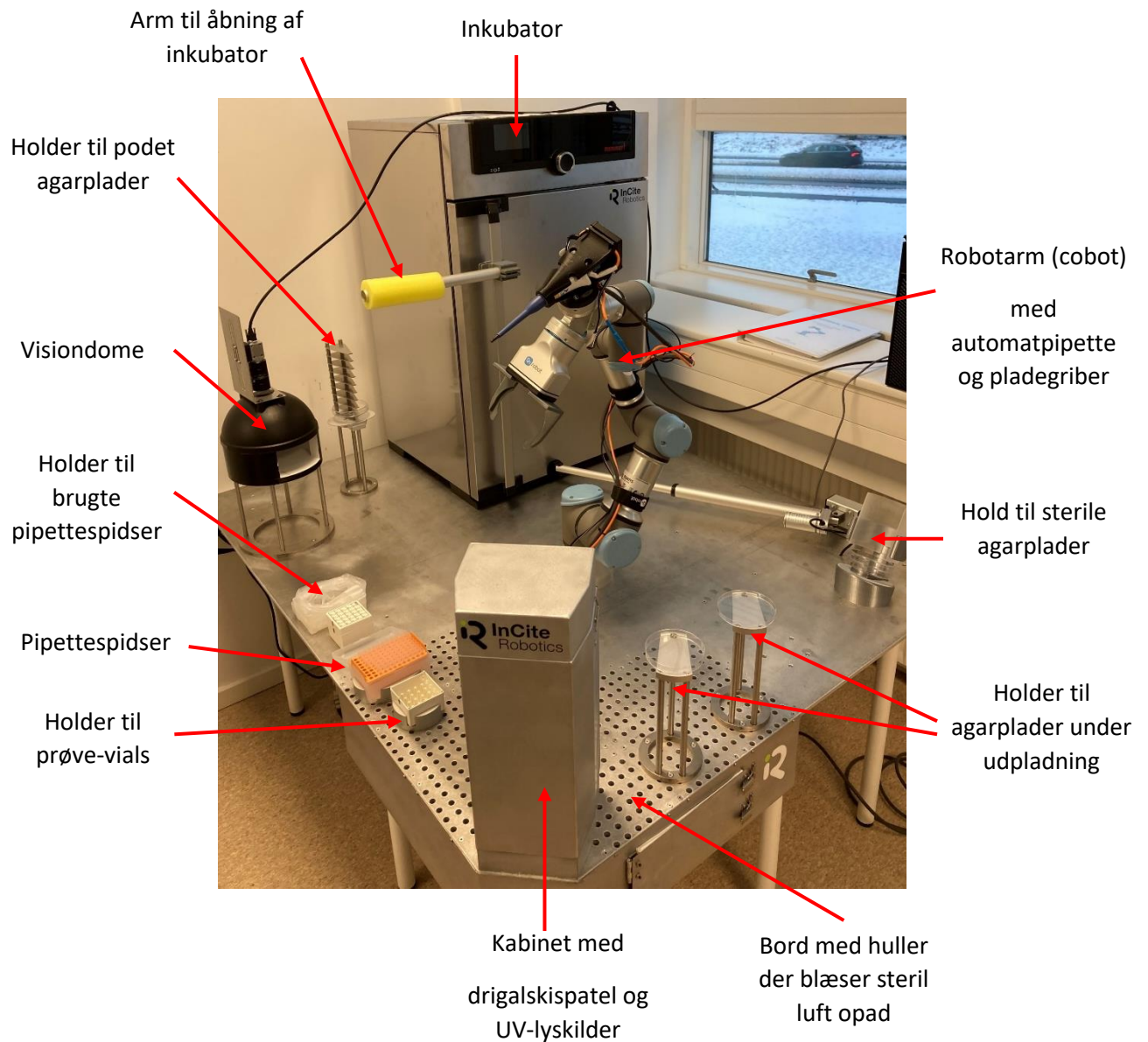


Kvalificering og validering af fuldautomatisk udpladningsrobot med AI model



Udarbejdet af Susanne Sund

d.9/1-2024

Cphbusiness Laboratorie og Miljø

Indholdsfortegnelse

1	Indledning	3
2	Kvalificering af robotten	3
2.1	Kontrol af aseptisk miljø	3
2.1.1	Formål	3
2.1.2	Forsøgsopsætning	3
2.1.3	Resultater og diskussion	4
2.2	Kontrol af UV-sterilisering af drigalskispatel	5
2.2.1	Formål	5
2.2.2	Forsøgsopsætning	5
2.2.3	Resultater og diskussion	5
2.3	Kontrol af resuspendering af prøven	6
2.3.1	Formål	6
2.3.2	Forsøgsopsætning 1	6
2.3.3	Resultater og diskussion 1	6
2.3.4	Forsøgsopsætning 2	7
2.3.5	Resultater og diskussion 2	7
2.4	Kontrol af drigalskispatlens rotationen	8
2.4.1	Formål	8
2.4.2	Forsøgsopsætning	8
2.4.3	Resultater og diskussion	8
2.5	Kontrol af agarpladevipning inden fordeling med drigalskispatlen	9
2.5.1	Formål	9
2.5.2	Forsøgsopsætning	9
2.5.3	Resultater og diskussion	10
2.6	Kontrol af inkubator	11
2.6.1	Formål	11
2.6.2	Forsøgsopsætning	11
2.6.3	Resultater og diskussion	12
2.7	Repeterbarhed	13
2.8	Korrektthed	13
2.9	Konklusion	13

3	Validering af AI model	14
3.1	Formål.....	14
3.2	Forsøgsopsætning	14
3.2.1	<i>Stammer</i>	14
3.2.2	<i>Nedfrysning af bakteriestammer</i>	15
3.2.3	<i>Udpladning af bakteriestammer</i>	15
3.2.4	<i>UTI-plader</i>	15
3.2.5	<i>Inkubation</i>	15
3.2.6	<i>Plader til træning af AI-modellen og billedbehandling</i>	15
3.2.7	<i>Plader til kontrol af AI-modellen</i>	16
3.2.8	<i>AI-modellen</i>	16
3.2.9	<i>Træning og kontrol af AI-modellen</i>	16
3.2.10	<i>Manuel optælling</i>	16
3.3	Resultater og diskussion	17
3.3.1	<i>Plader med én stamme</i>	17
3.3.2	<i>Plader med to stammer</i>	18
3.3.3	<i>Plader med tre og fire stammer</i>	19
3.4	Korrekthed.....	20
3.5	Specificitet	20
3.6	Robusthed.....	20
3.7	Repeterbarhed.....	20
3.8	Samlede diskussion.....	21
3.9	Konklusion	21
4	Bilag	22
	Bilag 1: Agarpladernes placering under kontrol af aseptisk miljø.....	22
	Bilag 2: Termometer placering i inkubator.....	23
	Bilag 3: Protokol til udarbejdelse af fryserør.....	24
	Bilag 4: Protokol for udpladning fra fryserør.....	26
	Bilag 5: Protokol for billedbehandlingen	27
	Bilag 6: Protokol for træning og kontrol af AI-modellen	32

1 Indledning

Firmaet Incite Robotics har udviklet, fremstillet og leveret en fuldautomatisk udpladningsrobot, som Cphbusiness Laboratorie og Miljø efterfølgende har tilpasset, afprøvet og delvis kvalificeret.

Robotten udfører en pladespredning af en prøve, som efterfølgende inkuberes og til sidst tages et billede af agarpladen.

Billedet af agarpladen skal efterfølgende bruges til at identificere og tælle kolonier på agarpladen vha. en AI-model, udviklet af en ekstern leverandør. Cphbusiness Laboratorie og Miljø har trænet og kontrolleret AI-modellen og foretaget en delvis validering.

2 Kvalificering af robotten

2.1 Kontrol af aseptisk miljø

2.1.1 Formål

At kontrollere det aseptiske miljø omkring robotarmen.

2.1.2 Forsøgsopsætning

Der er foretaget fire forsøg, hvoraf de først tre forsøg er foretaget to gange på samme dag.

Forsøgene er foretaget af tre laborantstuderende i forbindelse med deres prøve 4 projekt, der er placeret som sidste del af deres studie på skolen inden start på praktikperioden:

- For alle forsøg:
 - Robotbordets blæser, der blæser laminar steril luft op i robotarmens arbejdsområde, er tændt mindst 10 min inden hele robotbordets overfladen aftørres med 70 % sprit, for derefter at blæse luft i endnu mindst 10 min, inden selve robotarmen tændes.
- For forsøg 1-3:
 - 9 åbne agarplader (PCA) placeres 1 h på bordet omkring robotarmen – både i blæseområdet og uden for blæseområdet (se bilag 1)
- Forsøg 1 (d. 15/11-22)
 - Der var intet personale i lokalet
 - Agarpladerne er inkuberet ved 22°C i 3 døgn
- Forsøg 2 (d. 1/12-22)
 - Der var intet personale i lokalet
 - Agarpladerne er inkuberet ved 37°C i 1 døgn
- Forsøg 3 (d. 18/11-22)
 - Der er personale i lokalet
 - Agarpladerne er inkuberet ved 37°C i 1 døgn
- Forsøg 4 (d. 15/11-22)
 - 7 agarplader blev håndteret af robotarmen – uden prøve i vials'ne og uden drigalskiudpladning.
 - Der var intet personale i lokalet
 - Agarpladerne er inkuberet ved 22°C i 3 døgn

2.1.3 Resultater og diskussion

Nedenstående viser resultater af de fire forsøg.

Forsøg 1.1	Forsøg 1.2
7 agarplader med 0 kolonier 2 agarplader med hver 1 koloni (skimmel)	8 agarplader med 0 kolonier 1 agarplade med 1 koloni (skimmel)
Forsøg 2.1	Forsøg 2.2
2 agarplader med 2 kolonier (bakterier) 6 agarplader med 1 koloni (bakterier) 1 agarplader med 0 kolonier	1 agarplade med 5 kolonier (bakterier) 1 agarplade med 2 kolonier (bakterier) 5 agarplader med 1 koloni (bakterier) 2 agarplader med 0 kolonier
Forsøg 3.1	Forsøg 3.2
Alle 9 agarplader er kontamineret med bakterier: 7-24 kolonier/plade	Alle 9 agarplader er kontamineret med bakterier: 13-25 kolonier/plade
Forsøg 4	
7 agarplader med 0 kolonier	

Alle fire forsøg viser at der er et acceptabelt aseptisk miljø i og omkring robotarmens arbejdsområde.

Da forsøgene er foretaget på forskellige dage, ses en naturlig variation af antal observeret kim.

Der observeres flest kim i forsøg 3, hvor agarpladerne er inkuberes ved 37 °C og der er personale i rummet under forsøget. Den største kontaminering, der er observeret, er på 25 kim/h, svarende til <1 kim/2min, som er den tid en agarplade vil være åben under en kørsel.

Forsøg 4 viser at det aseptiske miljø ikke påvirkes når robotarmen kører. Her er agarpladerne inkuberet ved 22 °C i 3 døgn, men det vurderes at man ikke ville observere et meget større antal kim, hvis forsøget blev gentaget ved 37 °C.

Senere udpladningsforsøg, i forbindelse med denne kvalificering og validering, foretaget på kromogene UTI plader, hvor evt. kontaminering klart bliver registreres pga. manglende/forkert kolonifarve, viser at en kørsel med op til ni agarplader, ikke giver anledning til betydelig kontaminering fra omgivelserne.

2.2 Kontrol af UV-sterilisering af drigalskispattel

2.2.1 Formål

At kontrollere UV-steriliseringen af drigalskispattel.

2.2.2 Forsøgsopsætning

Der er foretaget to forsøg.

Forsøgene er foretaget af tre laborantstuderende i forbindelse med deres prøve 4 projekt, der er placeret som sidste del af deres studie på skolen inden start på praktikperioden:

- For begge forsøg:
 - Forsøgene er foretaget på samme dag (d. 24/11-22)
 - Agarpladerne er inkuberet ved 37°C i 1 døgn
- I hvert forsøg
 - Der udplades på 9 agarplader (PCA)
 - Der fremstilles én vial (prøvebeholder) med 1,0 mL fortyndingsvæske og én vial med 1,0 mL med bakteriesuspension (*E.coli*)
 - Robotten opsættes så der udtages skiftevis fra de to vials, startende med fortyndingsvæsken. Gennem forsøget vil der være mindre og mindre prøvemateriale i vials'ne.

2.2.3 Resultater og diskussion

Nedenstående viser resultater af de to forsøg.

Upladning	mL i vial ved prøveudtag	Antal kim	
		Forsøg 1	Forsøg 2
Fortyndingsvæske	1,0	0	0
<i>E.coli</i>	1,0	51	74
Fortyndingsvæske	0,9	0	1
<i>E.coli</i>	0,9	61	73
Fortyndingsvæske	0,8	0	2
<i>E.coli</i>	0,8	77	57
Fortyndingsvæske	0,7	1	0
<i>E.coli</i>	0,7	68	60
Fortyndingsvæske	0,6	1	0

Begge forsøg viser at drigalskispattel bliver acceptabelt UV-steriliseret efter hver udpladning.

På agarpladerne med fortyndingsvæske er der observeret højst 2 kim. Kimene er ikke artsbestemt, så det vides ikke om de stammer fra drigalskispattel eller fra kimnedfald i rummet.

Senere udpladningsforsøg, i forbindelse med denne kvalificering og validering, foretaget på kromogene UTI plader, viser at drigalskispattel bliver UV-steriliseret mellem udpladningerne. Når der ved en kørsel med op til ni agarplader, skiftes fra en prøve med en type bakterie (prøve 1) til en anden prøve med en anden type bakterier (prøve 2), ses ingen kolonier på agarplade 2 med en kolonifarvefarve, der svarer til bakterier fra prøve 1.

2.3 Kontrol af resuspendering af prøven

2.3.1 Formål

At kontrollere resuspendering af prøven umiddelbart inden udpladning på agerpladen.

2.3.2 Forsøgsopsætning 1

Der er foretaget forsøg, der sammenligner robotens resuspendering (forsøg 1), med resuspendering ved manuel whirlymix (forsøg 2) og ingen resuspendering (forsøg 3).

Forsøgene er foretaget af tre laborantstuderende i forbindelse med deres prøve 4 projekt, der er placeret som sidste del af deres studie på skolen inden start på praktikperioden:

Resuspenderingen på robotten er indstillet, så den suger 100 µL op i pipetten og sprøjter det ned i vial'en igen. Suger endnu engang 100 µL op i pipetten og sprøjter det endnu engang ned i vial'en. Herefter suger den 100 µL op, som bruges til udsåning.

- I hvert del forsøg 1-3:
 - Forsøgene er foretaget på samme dag (d. 22/11-22)
 - Der udplades på 7 agarplader (PCA)
 - Agarpladerne er inkuberet ved 37°C i 1 døgn
 - Der fremstilles én vial (prøvebeholder) med 1,0 mL med bakteriesuspension (*E.coli*)
 - Der udtages fra samme vial gennem hele delforsøget
 - Der går max 10 min fra bakteriesuspensionen er fremstillet til robotten startes

2.3.3 Resultater og diskussion 1

Nedenstående viser resultater af de tre delforsøg.

Upladning (kim/plade)	mL i vial ved prøveudtag	Forsøg 1	Forsøg 3	Forsøg 2
		Resuspendering på Robot	Resuspendering manuel whirly	Uden resuspendering
1	1,0	65	70	67
2	0,9	62	65	64
3	0,8	62	62	70
4	0,7	67	69	66
5	0,6	60	79	56
Gennemsnit		63	69	65
95% konfidensinterval		[56 ; 70]	[62 ; 76]	[58 ; 72]
6	?	49	82	42
7	?	77	69	84

Det blev under forsøget observeret at robotten efter fem udpladninger ikke længere afpipetterede det korrekte volumen. Da robotten i sin endelige opsætning kun skal udplade 1-2 agarplader fra samme vial, får dette ingen betydning for den endelige opsætning.

Der ses kun på resultater fra udpladning 1-5.

Hvert forsøg 1-3 er testet for outliers vha. Dixons outliertest, og der observeres ingen outliers (95% niveau).

95% konfidensinterval er derfor udregnet og det viser af der er overlap mellem de 3 forsøg, og der derved ikke kan påvises en forskel mellem de tre metoder.

De tre forsøg viser at robotens resuspendering ikke afviger fra en manuel resuspender.

Bemærkelsesværdigt observeres det ligeledes, at en resuspendering på robotten ingen betydning har for en bakteriesuspension der er fremstillet max. 10 min inden robotten startes.

2.3.4 Forsøgsopsætning 2

På baggrund af ovenstående resultat, kontrolleres om en resuspendering af prøven har betydning, hvis bakteriesuspensionen har henstået én time inden robotten startes.

Forsøgene er foretaget af tre laborantstuderende i forbindelse med deres prøve 4 projekt, der er placeret som sidste del af deres studie på skolen inden start på praktikperioden:

Resuspenderingen på robotten er indstillet, så den suger 100 µL op i pipetten og sprøjter det ned i vial'en igen. Suger endnu engang 100 µL op i pipetten og sprøjter det endnu engang ned i vial'en. Herefter suger den 100 µL op, som bruges til udsåning.

- I hvert del forsøg 1-2:
 - Forsøgene er foretaget på samme dag (d. 6/12-22)
 - Der udplades på 5 agarplader (PCA)
 - Agarpladerne er inkuberet ved 37°C i 1 døgn
 - Der fremstilles én vial (prøvebeholder) med 1,0 mL med bakteriesuspension (*E.coli*)
 - Der udtages fra samme vial gennem hele delforsøget
 - Der går 1 h fra bakteriesuspensionen er fremstillet til robotten startes

2.3.5 Resultater og diskussion 2

Nedenstående viser resultater af de to delforsøg.

Upladning (kim/plade)	mL i vial ved prøveudtag	Forsøg 1	Forsøg 2
		Med resuspendering på Robot	Uden resuspendering
1	1,0	76	71
2	0,9	75	83
3	0,8	66	67
4	0,7	65	62
5	0,6	57	63
Gennemsnit		68	69
95% konfidensinterval		[61 ; 75]	[62 ; 76]

Hvert forsøg 1-2 er testet for outliers vha. Dixons outliertest, og der observeres ingen outliers (95% niveau).

95% konfidensinterval er derfor udregnet og det viser af der er overlap mellem de 2 forsøg, og der derved ikke kan påvises en forskel mellem de to metoder.

De to forsøg viser at robotens resuspendering ikke er nødvendigt, hvis robotten startes inden for én time fra prøverne er fremstillet.

2.4 Kontrol af drigalskispatlens rotationen

2.4.1 Formål

At kontrollere om antallet af rotationer drigalskispatlens fordeler bakteriesuspensionen har betydning for fordelingen af bakterierne på agarpladerne.

2.4.2 Forsøgsopsætning

Der er foretaget et forsøg, hvor rotationerne er hhv. 1, 2 og 3 omgange.

Forsøgene er foretaget af tre laborantstuderende i forbindelse med deres prøve 4 projekt, der er placeret som sidste del af deres studie på skolen inden start på praktikperioden:

- I hvert del forsøg 1-3:
 - Forsøgene er foretaget på samme dag (d. 05/12-22)
 - Der udplades på 5 agarplader (PCA)
 - Agarpladerne er inkuberet ved 37°C i 1 døgn
 - Der fremstilles én vial (prøvebeholder) med 1,0 mL med bakteriesuspension (*E.coli*)
 - Der resuspenderes 2 gange
 - Der udtages fra samme vial gennem hele delforsøget
 - Der går max 10 min fra bakteriesuspensionen er fremstillet til robotten startes

2.4.3 Resultater og diskussion

Nedenstående viser resultater af de tre delforsøg.

Upladning (kim/plade)	mL i vial ved prøveudtag	Forsøg 1	Forsøg 2	Forsøg 3
		Rotation: 1 omgang	Rotation: 2 omgange	Rotation: 3 omgange
1	1,0	63	41	48
2	0,9	59	59	44
3	0,8	73	59	36
4	0,7	76	61	46
5	0,6	83	49	53
Gennemsnit		71	54	45
95% konfidensinterval		[63 ; 71]	[49 ; 61]	[39 ; 51]

Forsøgene var tænkt til kun at observere om bakterierne blev fordelt jævnt over agarpladerne. Det viste sig at kolonierne lå fint fordelt over alle agarplader, så det har ingen betydning for fordelingen af kolonierne, om drigalskispatlens drejer 1, 2 eller 3 gange rundt.

Forsøgene viste dog, at antallet af kolonier på agarpladerne reduceres med antal af omdrejninger.

Hvert forsøg 1-3 er testet for outliers vha. Dixons outliertest, og der observeres ingen outliers (95% niveau).

95% konfidensinterval er derfor udregnet og det viser at der er et lille overlap mellem forsøg 2 og 3, men ingen overlap mellem forsøg 1 og forsøg 2 eller 3. Der er dermed påvist at der er en forskel på antal kim/plade ved metode 1 ift. metode 2 og 3.

Den observerede forskel, kan muligvis skyldes at bakteriesuspensionen, der blev brugt ved de tre forsøg, ikke var ens. De tre vials er fremstillet hver for sig, med udtag fra hvert sit fryserør, og med hver sin fortynding. Se desuden diskussion i næste afsnit, der viser samme tendens.

2.5 Kontrol af agarpladevipning inden fordeling med drigalskispåtlen

2.5.1 Formål

At kontrollere om fordelingen af bakteriesuspensionen, ved vipning af agarpladen inden fordelingen med drigalskispåtlen har betydning for fordelingen af bakterierne på agarpladerne.

2.5.2 Forsøgsopsætning

Der er foretaget i alt 9 forsøg med forskellig vipning af agarpladen og forskellig antal rotationer med drigalskispåtlen.

Forsøgene er foretaget af tre laborantstuderende i forbindelse med deres prøve 4 projekt, der er placeret som sidste del af deres studie på skolen inden start på praktikperioden:

- I hvert del forsøg 1-9:
 - Forsøgene er foretaget på samme dag (d. 05/12-22)
 - Der udplades på 5 agarplader (PCA)
 - Agarpladerne er inkuberet ved 37°C i 1 døgn
 - Der fremstilles én vial (prøvebeholder) med 1,0 mL med bakteriesuspension (*E.coli*)
 - Der resuspenderes 2 gange
 - Der udtages fra samme vial gennem hele delforsøget
 - Der går max 10 min fra bakteriesuspensionen er fremstillet til robotten startes
- Forsøg 1, 4, 7: Prøverne fordeles ikke ved vip op/ned el. højre/venstre
- Forsøg 2, 5, 8: Prøverne fordeles med højre/ venstre vip før rotation med drigalskispåtlen
- Forsøg 3, 6, 9: Prøverne fordeles med højre/ venstre vip + frem/tilbage vip før rotation med drigalskispåtlen
- Forsøg 1, 2, 3: Prøverne fordeles med 1 rotation med drigalskispåtlen
- Forsøg 4, 5, 6: Prøverne fordeles med 2 rotation med drigalskispåtlen
- Forsøg 7, 8, 9: Prøverne fordeles med 3 rotation med drigalskispåtlen

2.5.3 Resultater og diskussion

Nedenstående viser resultater af de tre delforsøg med 1 rotation med drigalskispatten:

Upladning (kim/plade)	mL i vial ved prøveudtag	Forsøg 1	Forsøg 4	Forsøg 7
		Ingen vip	Højre/venstre vip	Højre/ venstre + frem/tilbage vip
1	1,0	63	55	70
2	0,9	59	58	57
3	0,8	73	64	69
4	0,7	76	67	54
5	0,6	83	71	62
Gennemsnit		71	63	62
95% konfidensinterval		[63 ; 78]	[56 ; 70]	[55 ; 69]

Nedenstående viser resultater af de tre delforsøg med 2 rotationer med drigalskispatten:

Upladning (kim/plade)	mL i vial ved prøveudtag	Forsøg 2	Forsøg 5	Forsøg 8
		Ingen vip	Højre/venstre vip	Højre/ venstre + frem/tilbage vip
1	1,0	41	55	60
2	0,9	59	63	64
3	0,8	59	67	53
4	0,7	61	63	55
5	0,6	49	53	43
Gennemsnit		54	60	55
95% konfidensinterval		[47 ; 60]	[53 ; 67]	[48 ; 62]

Nedenstående viser resultater af de tre delforsøg med 3 rotationer med drigalskispatten:

Upladning (kim/plade)	mL i vial ved prøveudtag	Forsøg 3	Forsøg 6	Forsøg 9
		Ingen vip	Højre/venstre vip	Højre/ venstre + frem/tilbage vip
1	1,0	48	59	35
2	0,9	44	62	41
3	0,8	36	29	35
4	0,7	46	38	47
5	0,6	52	36	58
Gennemsnit		45	45	43
95% konfidensinterval		[39 ; 51]	[39 ; 51]	[37 ; 49]

Alle 9 forsøg er testet for outliers vha. Dixons outliertest, og der observeres ingen outliers (95% niveau).

95% konfidensinterval er derfor udregnet og det viser af der er overlap mellem forsøg 1, 4 og 7 (1 rotation af drigalskispatten), overlap mellem forsøg 2, 5 og 8 (2 rotation af drigalskispatten) og overlap mellem forsøg 3, 5 og 9 (3 rotation af drigalskispatten).

Der kan derved ikke påvises en forskel mellem de tre vippe metoder.

Nedenstående viser en samlede oversigt over 95% konfidensinterval for alle 9 forsøg:

Upladning (kim/plade)		Vipning af agarpladen inden fordelingen med drigalskispattel		
		Ingen vip	Højre/venstre vip	Højre/ venstre + frem/tilbage vip
Rotation af drigalskispattel	1 rotation	71	63	62
		[63 ; 78]	[56 ; 70]	[55 ; 69]
	2 rotationer	54	60	55
		[47 ; 60]	[53 ; 67]	[48 ; 62]
	3 rotationer	45	45	43
		[39 ; 51]	[39 ; 51]	[37 ; 49]

Endnu engang viser forsøgene, at antallet af kolonier på agarpladerne reduceres med antal af rotationer af drigalskispattel.

I forsøgene uden vip ses ingen overlap mellem de tre 95% konfidensinterval.

I forsøgene med højre/venstre vip ses overlap mellem 1 og 2 rotationer, men ingen overlap mellem 3 rotationer og 1-2 rotationer.

I forsøgene med højre/ venstre + frem/tilbage vip ses overlap mellem 1 og 2 rotationer, et lille overlap mellem 2 og 3 rotationer, men ikke mellem 1 og 3 rotationer.

Som tidligere skrevet kan den observerede forskel, muligvis skyldes at bakteriesuspensionen, der blev brugt ved forsøgene, ikke var ens. Vialsene er fremstillet hver for sig, med udtag fra hvert sit fryserør, og med hver sin fortynding. Se desuden i afsnit 2.8 Korrekthed for yderligere diskussion.

2.6 Kontrol af inkubator

2.6.1 Formål

At kontrollere effekten af at varmeskabet åbnes og lukkes flere gange under inkubation.

2.6.2 Forsøgsopsætning

Inkubatoren – en Memmert INB 400 – uden inderlåde blev kontrolleret.

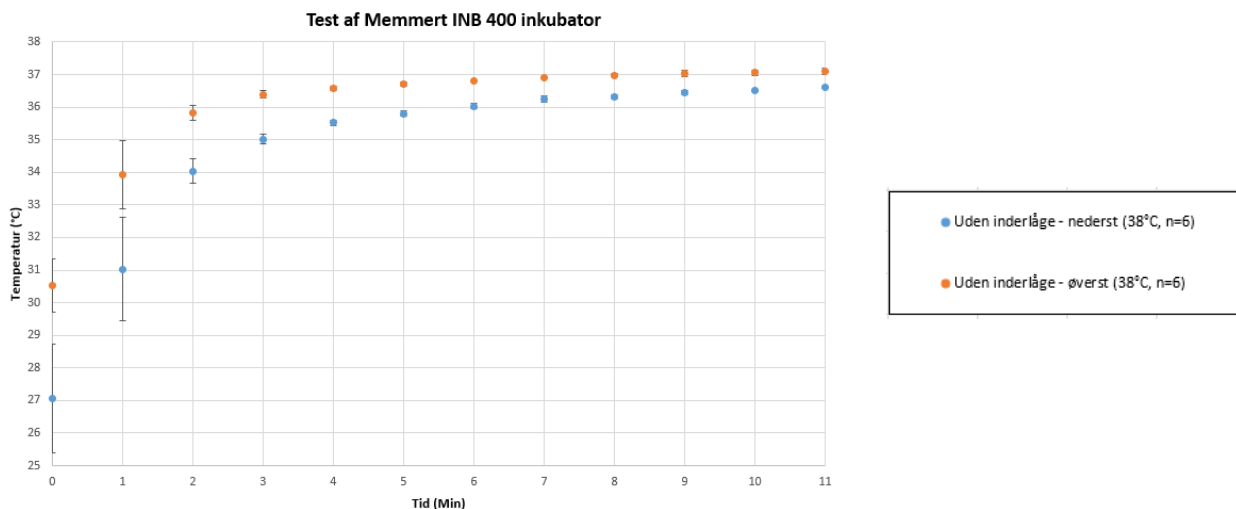
Temperaturen på inkubatoren blev indstillet på 38°C, idet forforsøg viste at inkubatoren uden inderlåde skal indstilles til 38°C, for at opnå en temperatur på 37°C.

I inkubatoren placeredes en rist i øverste og nederste rille. På hver rist placeres et Fluke 53II termometer med føler, internt nummer MIT 240 (øverst) og MIT 242 (nederst), som vist i bilag 2.

Termometrene indstilles til at logge temperaturen kontinuerligt hvert minut, og inkubatoren blev åbnet i 1 minut, 6 gange på vilkårlige tidspunkter i løbet af en dag.

2.6.3 Resultater og diskussion

Nedenstående viser resultater af temperaturmålinger, hvor inkubatoren har været åbnet i et minut:



Resultaterne viser at ca. 5 min efter lågen er blevet lukket, efter at have stået åben i 1 min, er temperaturen stabiliseret.

Der ses ingen forskel i hvor lang tid, der går inden temperaturen er stabiliseret, afhængig af om termometret ligger på øverste eller nederste rist i inkubatoren.

Inkubatorens varmekilde sidder under bundpladen og over toppladen, og varmen fordeles via en blæser der skaber cirkulation, se bilag 2. På ovenstående resultater ses at temperaturmålinger foretaget i bunden af inkubatoren falder mere end målinger foretaget i toppen. Denne forskel er muligvis forårsaget af termofølerens placering i forhold til varmekilden, men under alle omstændigheder stabiliseres temperaturen lige hurtigt uafhængig af størrelsen på faldet i temperatur ved at åbne inkubatoren.

Faldet i temperatur ved åbning af inkubatoren er efter al sandsynlighed negligerbar i forhold til en ønsket inkubationstid på 24 ± 3 timer.

2.7 Repeterbarhed

Robottens præcision er vurderet med repeterbarhed ved at måle 5 gange fra samme prøve. Med robottens indstillinger var det ikke muligt at foretage 7 målinger af samme prøve.

Hvert forsøg er testet for outliers vha. Dixons outliertest, og der observeres ingen outliers i nogen af forsøgene. Det kan derfor konkluderes at robottens præcision er god.

2.8 Korrekthed

Robottens korrekthed er ikke vurderet i denne kvalificering.

Der er observeret en forskel i antal kolonier på agerpladerne afhængig af antallet af rotationer drigalskispalten fordeler prøven med – se afsnit 2.4 og afsnit 2.5.

Hvis det senere ønskes at undersøge om antallet af drigalskispaltens omdrejninger har betydning for antallet af fremkomne kolonier, bør der opsættes et forsøg, hvor der fremstilles én bakteriesuspension, som derefter fordeles i vialsene. Resultaterne fra disse bør sammenlignes med resultater fra en manuel udpladning af prøver fra samme bakteriesuspension ved at beregne en gennemsnitlig genfinding.

2.9 Konklusion

Det aseptiske miljø omkring robotarmen vurderes at være tilfredsstillende.

Ligeledes vurderes UV-sterilisering af drigalskispattel at være tilfredsstillende.

Robottens resuspendering af prøven vurderes et være tilfredsstillende. Desuden vurderes at resuspendering af en prøve ikke er nødvendig, hvis robotten startes inden for én timer efter prøveforberedelse.

Antallet af rotationer, drigalskispalten fordeler bakteriesuspentionen med, vurderes til ikke at have betydning for fordelingen af bakterierne på agarpladerne. Dog bør det undersøges om antallet af kolonier på agarpladerne reduceres med antal af rotationer af drigalskispalten.

Vipning af agarpladen inden fordelingen med drigalskispalten vurderes til ikke at have betydning for fordelingen af bakterierne på agarpladerne.

Det vurderes at det ikke har nogen effekt på inkubationen, at varmeskabet åbnes i kortere perioder á 1 min.

Det vurderes at robottens præcision er god.

Robottens korrekthed er ikke vurderet i denne kvalificering.

3 Validering af AI model



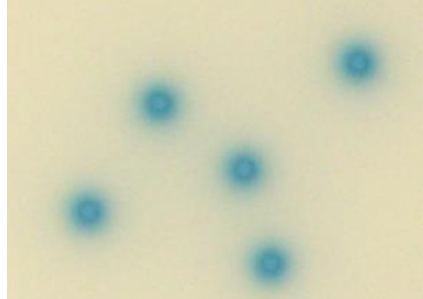
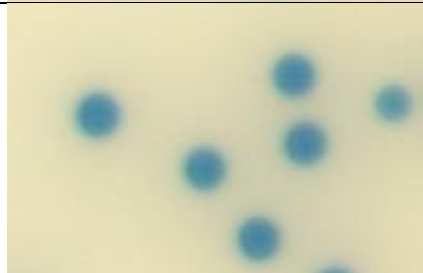
3.1 Formål

At træne og kontrollere en AI-model til identificering og tælling af de fire bakteriestammer *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis* og *Serratia* på UTI-agarplader.

3.2 Forsøgsopsætning

3.2.1 Stammer

Der er udvalgt fire bakteriestammer fra egen bakteriesamling til udpladning på UTI plader.

Stamme	Billeder af kolonier på UTI plader	Farve på UTI plader
<i>Escherichia coli</i>		Rød/Pink
<i>Staphylococcus aureus</i>		Gul
<i>Enterococcus faecalis</i>		Grønblå med lys midte
<i>Serratia</i>		Blå

3.2.2 Nedfrysning af bakteriestammer

Alle fire bakteriestammer opbevares i kryorør med LB-medium+16%glycerol ved -80°C. Hvert rør indeholder ca. 200 µL bakteriesuspension.

Der er udarbejdet en protokol til fremstilling af fryserør, som ses i bilag 3.

3.2.3 Udpladning af bakteriestammer

Kryorør med nedfrosne bakteriesuspensioner benyttes til udpladning. I et for-forsøg er det testet hvorledes bakteriesuspensionerne skal fortyndes, så der opnås 50-100 kolonier pr. agarplade. Resultaterne er ikke medtaget i denne rapport.

Der er udarbejdet en protokol for udpladning fra fryserør, som ses i bilag 4.

3.2.4 UTI-plader

Agarpladerne fremstilles og støbes fra Dehydrated Culture Media: Brilliance UTI Agar (OXOID, CM0949).

11,3 g agar opslemmes i 200 mL destilleret vand og autoklaveres ved 121°C i 15 min. Herefter afkøles agaren til ca. 50 °C og blandes godt inden støbningen i sterile petriskåle. Agarpladerne opbevares efter støbning ved stuetemperatur i max 2 uger.

UTI er et kromogent medium, hvilket giver en god visuel differentiering af de valgte bakteriestammer – se 3.2.1.

3.2.5 Inkubation

UTI pladerne, som skal benyttes til både træning og validering af AI-modellen, inkuberes ved 37°C i 24 ± 3 timer.

De 24 ± 3 timer er valgt da NMKL nummer 66, 67 og 125 foreskriver dette. NMKL nummer 66, 67 og 125 tester for henholdsvis *staphylococci*, *Bacillus cereus* og *Escherichia coli* i fødevarer.

3.2.6 Plader til træning af AI-modellen og billedbehandling

Der fremstilles vha. udpladningsrobotten i alt 24 UTI plader med én stamme på hver:

- 6 plader med *E.coli*
- 6 plader med *S.aureus*
- 6 plader med *E.faecalis*
- 6 plader med *Serratia*

UTI pladerne inkuberes ved 37°C i 24 timer og fotograferes derefter vha. Visiondomen.

Hvert billede "klippes" i mindre billeder i dimensionen 640x640, og de billeder, som indeholdte bakteriekolonier, udvælges og annoteres. I alt annoteres 184 640x640 billeder. Der annoteres kun kolonier, som ligger enkeltvis og er hele.

Der er udarbejdet en protokol for billedbehandlingen, som ses i bilag 5.

3.2.7 Plader til kontrol af AI-modellen

Der fremstilles vha. udpladningsrobotten i alt 36 UTI plader:

- 6 plader med *E.coli*
- 6 plader med *S.aureus*
- 6 plader med *E.faecalis*
- 6 plader med *Serratia*
- 6 plader med 2 stammer
- 4 plader med 3 stammer
- 2 plader med 4 stammer

UTI pladerne inkuberes ved 37°C i 24 timer og fotograferes derefter vha. Visiondomen.

Billederne bruges, uden nogen billedbehandling, til kontrol af AI-modellen.

3.2.8 AI-modellen

AI-modellen til billede genkendelsen er baseret på en lille prætrænet model fra Ultra Lytics. Træning og validering er foregået med egne billeder, der er minimalt præbehandlet, med det formål at modellen skal kunne genkende billeder der så vidt muligt ikke har været behandlet, for at kunne blive genkendt. Dette betyder at modellen kan bruges til et vilkårligt billede taget gennem Visiondome, så frem billederne er baseret på chromogene medier i petriskålene.

3.2.9 Træning og kontrol af AI-modellen

De 184 annoteret billeder, beskrevet under afsnit 3.2.6, bruges til træning af AI-modellen.

De 36 billeder, beskrevet under afsnit 3.2.7, bruges til kontrol af AI-modellen.

Der er udarbejdet en protokol for træning og kontrol af AI-modellen, som ses i bilag 6.

3.2.10 Manuel optælling

Kolonierne på de 36 UTI plader, beskrevet under afsnit 3.2.7, er talt af en trænet laborant. Alle kolonier tælles, også de kolonier, som overlapper med andre kolonier.

3.3 Resultater og diskussion

3.3.1 Plader med én stamme

Nedenstående viser resultater fra plader med kun én stamme på hver plade – talt manuel og talt med AI-modellen.

Stamme	Plade nr.	Antal kolonier/plade		GF%		AI-model forket aflæst og kommentarer
		Manuel	AI-model	Den enkelte plade	Summen af alle plader	
<i>E.coli</i> (Rød/Pink)	1.1	88	5	6	Ikke medtaget	Billedet er gult
	1.2	68	52	76		
	1.3	66	48	73		
	1.4	74	53	72		
	1.5	102	63	62		
	1.6	70	46	66		
	<i>gns.</i>	78				
<i>S.aureus</i> (Gul)	2.1	45	41	91	87	
	2.2	42	32	76		
	2.3	60	55	92		
	2.4	45	39	87		
	2.5	70	61	87		
	2.6	62	54	87		
	<i>gns.</i>	54				
<i>E.faecalis</i> (Grønblå med lys midte)	3.1	65	56	86	93	
	3.2	55	48	87		
	3.2	57	53	93		
	3.4	63	59	94		
	3.5	53	52	98		
	3.6	47	46	98		
	<i>gns.</i>	57				
<i>Serratia</i> (blå)	4.1	123	78	63	76	
	4.2	90	64	71		
	4.3	99	71	72		
	4.4	88	71	81		
	4.5	93	76	82		
	4.6	92	78	85		
	<i>gns.</i>	98				

For alle 24 plader ses at AI-modellen tæller færre kolonier/plade end ved manuel optælling.

Ved manuel aflæsning kan alle kolonier tælles, også de kolonier som overlapper med andre kolonier. Ved AI-modellen observeres, at den ikke tæller kolonier med overlap og desuden ikke tæller alle enkeltliggende kolonier.

Ud fra den samlede GF% for hver af stammerne ses at AI-modellen giver den højeste GF% ved tælling af *E.faecalis* (GF%= 93%) og *S.aureus* (GF%=87%) og lavest ved tælling af *E.coli* (GF%= 70%) og *Serratia* (GF%=76%). Dette kan skyldes at modellen ren faktisk er bedre til at identificere og tælle *E.faecalis* og *S.aureus*. Men når der ses på det gennemsnitlige (*gns.*) antal kolonier/plade, ses at pladerne med *E.faecalis*

(gns.= 57) og *S.aureus* (gns. 54) er væsentlig lavere end for *E.coli* (gns.=78) og *Serratia* (gns. 98). Dette er væsentlig, idet der observeres at AI-modellen ikke tæller kolonier med overlap, og jo flere kolonier/plade, des flere kolonier vil overlape.

Desuden observeres at AI-modellen ved tælling af plader med *Serratia* fejlidentificer nogen af kolonierne som *E.faecalis*.

3.3.2 Plader med to stammer

Nedenstående viser resultater fra plader med to stammer på hver plade – talt manuel og talt med AI-modellen.

Stamme	Plade nr.	Antal kolonier/plade		GF%	AI-model forket aflæst og kommentarer
		Manuel	AI-model	Den enkelte plade	
<i>E.coli</i> <i>S.aureus</i>	5.1	33	24	73	
		26	17	65	
	sum	59	41	69	
<i>E.coli</i> <i>E.faecalis</i>	5.2	44	33	75	+ 3 <i>Serratia</i> som var <i>E.faecalis</i>
		42	28	67	
	sum	86	61	71	
<i>E.coli</i> <i>Serratia</i>	5.3	37	22	59	+ 1 <i>E.faecalis</i> som var <i>Serratia</i>
		44	30	68	
	sum	81	52	64	
<i>S.aureus</i> <i>E.faecalis</i>	5.4	33	22	67	
		22	19	86	
	sum	55	41	75	
<i>S.aureus</i> <i>Serratia</i>	5.5	24	15	63	+ 2 <i>E.faecalis</i> som var <i>Serratia</i>
		45	38	84	
	sum	69	53	77	
<i>E.faecalis</i> <i>Serratia</i>	5.6	27	42	156	Mange <i>Serratia</i> identificeres som <i>E.faecalis</i> . og nogle <i>E.faecalis</i> identificeres som <i>Serratia</i>
		48	10	21	
	sum	75	52	69	

For plader 5.1-5.5 ses at AI-modellen for alle stammer tæller færre kolonier/plade end ved manuel optælling. For plade 5.6 ses at AI-modellen for det samlede antal tæller færre kolonier/plade end ved manuel optælling.

Som beskrevet under afsnit 3.2.10 kan alle kolonier tælles ved manuel aflæsning, mens AI-modellen ikke tæller kolonier med overlap og ikke tæller alle enkeltliggende kolonier.

GF% for summen af kolonierne på de enkelte plader er mellem 64% og 77%, hvilket er lidt lavere end der blev bestemt under plader med kun én stamme. Dette kan skyldes at der er større usikkerhed på de enkelte GF%, idet der tælles på færre kolonier for hver stamme.

Desuden observeres igen at AI-modellen fejlidentificerer flere *Serratia* kolonier som *E.faecalis* kolonier. Ydermere se også en fejlidentifikation af *E.faecalis* kolonier som *Serratia* kolonier. Hel galt går det når *E.faecalis* og *Serratia*, udplades på samme agarplade – her identificeres mange *Serratia* kolonier som *E.faecalis* kolonier og nogle *E.faecalis* identificeres som *Serratia*.

3.3.3 Plader med tre og fire stammer

Nedenstående viser resultater fra plader med tre og fire stammer på hver plade – talt manuel og talt med AI-modellen.

Stamme	Plade nr.	Antal kolonier/plade		GF%	AI-model forket aflæst og kommentarer
		Manuel	AI-model	Den enkelte plade	
<i>E.coli</i> <i>S.aureus</i> <i>E.faecalis</i>	6.1	17	13	76	
		19	14	74	
		22	26	96	
		sum	63	53	
<i>E.coli</i> <i>S.aureus</i> <i>Serratia</i>	6.2	12	11	92	
		14	11	79	
		41	35	85	
		sum	67	57	
<i>E.coli</i> <i>E.faecalis</i> <i>Serratia</i>	6.3	17	13	76	Har svært ved at skelne mellem <i>E.faecalis</i> og <i>Serratia</i>
		12	7	58	
		18	19	106	
		sum	47	39	
<i>S.aureus</i> <i>E.faecalis</i> <i>Serratia</i>	6.4	18	13	72	Har svært ved at skelne mellem <i>E.faecalis</i> og <i>Serratia</i>
		17	22	129	
		31	9	29	
		sum	66	44	
<i>E.coli</i> <i>S.aureus</i> <i>E.faecalis</i> <i>Serratia</i>	6.5	11	8	73	Har svært ved at skelne mellem <i>E.faecalis</i> og <i>Serratia</i>
		11	9	82	
		16	13	81	
		13	10	77	
		sum	51	40	
<i>E.coli</i> <i>S.aureus</i> <i>E.faecalis</i> <i>Serratia</i>	6.6	11	10	91	Har svært ved at skelne mellem <i>E.faecalis</i> og <i>Serratia</i>
		12	9	75	
		15	23	153	
		17	4	24	
		sum	55	26	

For alle plader ses samme tendens som tidligere: AI-modellen tæller færre kolonier/plade end ved manuel optælling for *E.coli* og *S.aureus*, og stor fejlidentifikation af *E.faecalis* og *Serratia*

3.4 Korrekthed

Metodens korrekthed er vurderet ved at måle pladerne (fotografere og bestemme antal kolonier/plade med AI-modellen) i afsnit 3.2.7 én gang og sammenligne med én manuel optælling beskrevet i afsnit 3.2.10. Der er beregnet %GF for hver stamme.

Resultaterne viser at GF% for *E.coli* er mellem 62% (plade 1.5) – 92% (plade 6.2), for *S.aureus* er mellem 63% (plade 5.5.) – 92% (plade 2.3) , for *E.faecalis* er mellem 58% (plade 6.3) – 156% (plade 5.6) og for *Serratia* er mellem 21% (plade 5.6) – 106% (plade 6.3).

Det kan derfor konkluderes at robottens korrekthed er lav.

3.5 Specificitet

Metodens specificitet er vurderet ud fra om AI-modellen kan identificere og tælle hver af kolonierne korrekt ved at måle pladerne (fotografere og bestemme antal kolonier/plade med AI-modellen) i afsnit 3.2.7 én gang og sammenligne med én manuel optælling beskrevet i afsnit 3.2.10.

Resultaterne viser at AI-modellen ikke identificerer alle kolonier. AI-modellen tæller ikke kolonier med overlap og tæller ikke alle enkeltliggende kolonier.

Resultaterne viser desuden at *E.coli* og *S.aureus* ikke bliver fejlidentificeret, mens *E.faecalis* og *Serratia* ofte bliver forvekslet. Det tyder på at den største fejl er *Serratia* som fejlidentificeres som *E.faecalis*.

Det kan derfor konkluderes at robottens Specificitet er lav.

3.6 Robusthed

Metodens robusthed er ikke vurderet i denne validering, idet metoden korrekthed og specificitet vurderes som lav.

Hvis det senere ønskes at undersøge metodens robusthed, kan UTI plader svarende til pladerne beskrevet i afsnit 3.2.7 aflæses med AI-modellen efter 21 og 27 timer som er ± 3 timer fra de 24 timer som er inkubationstiden for de plader AI-modellen er kalibreret på. De 24 ± 3 timer er valgt da NMKL nummer 66, 67 og 125 foreskriver dette.

3.7 Repeterbarhed

Metodens repeterbarhed er ikke vurderet i denne validering, idet metoden korrekthed og specificitet vurderes som lav.

Hvis det senere ønskes at undersøge metodens robusthed, kan UTI plader svarende til pladerne beskrevet i afsnit 3.2.7 aflæses med AI-modellen i alt 7 gange og beregne %RSD for hver stamme på hver plade.

3.8 Samlede diskussion

For at opnå en højere korrekthed og specificitet bør det forsøges at optimere træningen af AI-modellen.

Korrektheden kan **muligvis** øges ved:

- Flere træningsbilleder i forsøg på at alle enkeltliggende kolonier tælles med.
- Ikke kun at annotere kolonier, som ligger enkeltvis og er hele, men også annotere overlappende kolonier, i forsøg på at også overlappende kolonier tælles med.

Specificiteten for *E.faecalis* og *Serratia* kan **muligvis** øges ved:

- Flere træningsbilleder i forsøg på at dette vil give større specificitet
- Længere inkubationstid der vil give lidt større kolonier og det derved vil give større specificitet

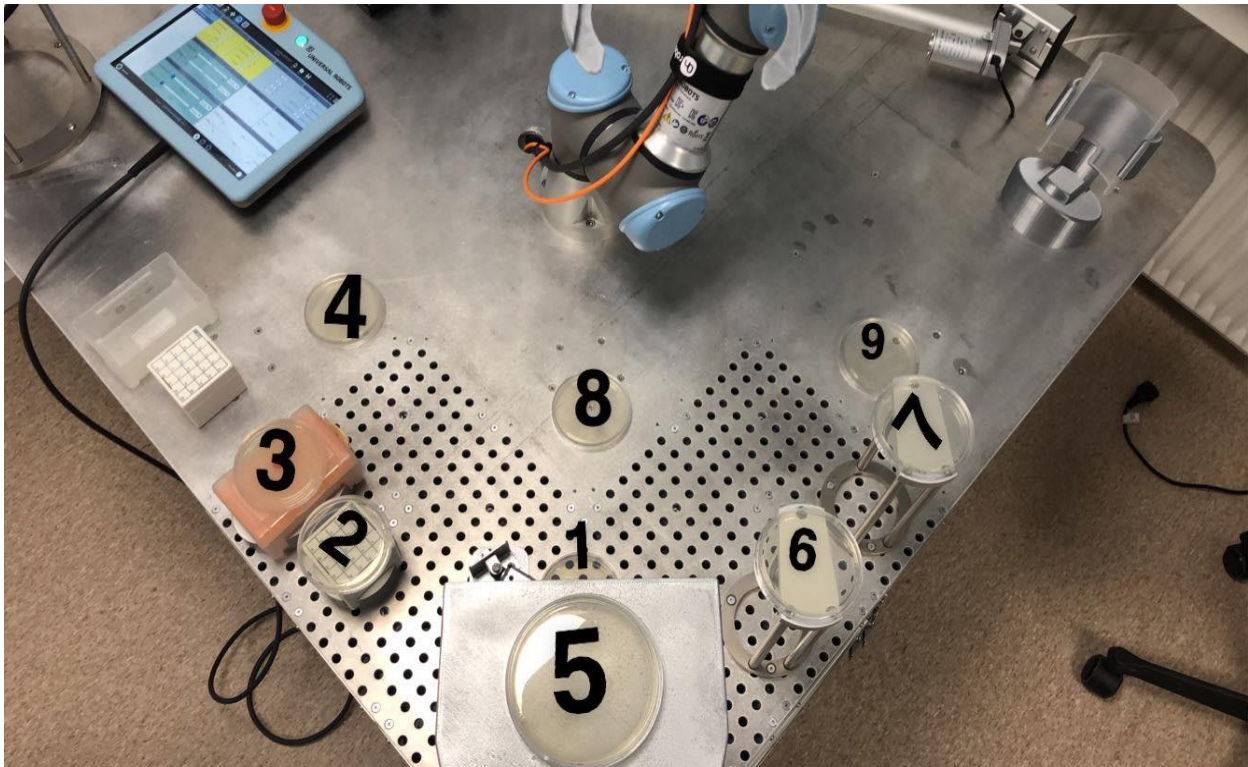
3.9 Konklusion

Det vurderes at AI-modellens korrekthed og specificitet er lav og derfor ikke kan bruges til identificering og tælling af de fire bakteriestammer *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis* og *Serratia* på UTI-agarplader.

4 Bilag

Bilag 1: Agarpladernes placering under kontrol af aseptisk miljø

Nedenstående ses et billede af agarpladernes placering under kontrol af aseptisk miljø



Bilag 2: Termometer placering i inkubator

Nedenstående ses et billede af placeringen af Fluke 53II termometer i Memmert INB 400 inkubator under kontrol af inkubator.



Bilag 3: Protokol til udarbejdelse af fryserør

Fremgangsmåde:

Podning af ON kultur:

1. Dagen før nedfrysning podes en kultur i nutrient broth.
2. Røret inkuberes ved 37°C og ryst i 18-24 timer.

Måling af OD:

3. Indstil spektrofotometeret til måling med bølgelængden 410 nm.
4. Fyld to engangskuvetter med nutrient broth (blindprøve) og nulstil spektrofotometeret.
5. Whirlmix ON kulturen grundig (puls mix), så bakteriesuspensionen bliver så homogen som muligt.
6. Fyld overnatskultur i en engangskuvette og fjern evt. luftbobler i kuvetten
7. Udskift forreste blindprøve med kuvetten med overnatskultur
8. Mål og noter absorbansen
9. Gentag punkt 4 til 8.
10. Hvis de to OD-målingerne ikke er signifikant forskellige, beregnes middelværdien, som derefter bruges til beregning af celler pr. mL vha. prognose i et excelprogram.

Baggrund for fortyndingerne:

- ON kulturen fortyndes, så der opnås en konc. på $1 \cdot 10^9$ eller $1 \cdot 10^8$

(Hvis der f.eks. opnås en konc. på $2,4 \cdot 10^9$ fortyndes med FV ned til 10^9 . Opnås en konc. på $2,4 \cdot 10^8$ fortyndes med FV ned til 10^8)

- Cellerne fortyndes efter nedenstående

	Ønskes	Laboratorie	Konc.
1	Celler fortyndet i FV	1,0 mL 10^9 + 9,0 mL FV	10^8
2	Celler fortyndet i FV	1,0 mL 10^8 + 9,0 mL FV	10^7
3	Celler fortyndet i FV	1,0 mL 10^7 + 9,0 mL FV	10^6
4	Celler fortyndet i LB	1,0 mL 10^6 + 9,0 mL LB	10^5
5	Celler i Kryorør til frys	200 μ L 10^5 + 800 μ L 20 % Glycerol	$2 \cdot 10^4$
6	Celler i kryorør efter optøning	Optø cellerne: Estimeret 50 % drab af $2 \cdot 10^4$	10^4
7	Celler i rør til udpladning	100 μ L af 10^4 + 900 μ L FV	10^3
8	Kolonier på pladen	100 μ L af en 10^3	10^2

Fortynding af ON kultur til frysning:

11. Whirlmix ON kulturen grundig (puls mix)
12. ON kulturen fortyndes i FV, så der opnås en konc. på 10^9 eller 10^8
 - a. Hvis konc. er 10^9 forsæt ved punkt 13
 - b. Hvis konc. er 10^8 forsæt ved punkt 15
13. Marker røret: 10^9 og whirlmix (puls mix)
14. Afpipettér 1,0 mL fra 10^9 til rør med 9,0 mL FV
15. Marker røret: 10^8 og whirlmix (puls mix)
16. Afpipettér 1,0 mL fra 10^8 til rør med 9,0 mL FV
17. Marker røret: 10^7 og whirlmix (puls mix)
18. Afpipettér 1,0 mL fra 10^7 til rør med 9,0 mL FV
19. Marker røret: 10^6 og whirlmix (puls mix)
20. Afpipettér 1,0 mL fra 10^6 til rør med 9,0 mL LB
21. Marker røret: 10^5 og whirlmix (puls mix)
22. I et steril 15 mL centrifugerør afpipettér 2,0 mL fra rør 10^5
23. Tilsæt 8,0 mL 20% glycerol.
24. Bland ved at vende røret 10 gange.
25. Næste punkt skal foregå i LAF - bænk
26. Fordel celleblandingen i kryorør med ca. 200 μ L i hver. Sørg hele tiden for at cellerne er i suspension.
Rødt låg: *S.aureus*

Blåt låg: *E.coli*

Gult låg: *E.faecalis*

Grønt låg: *Serratia*
27. Kryorørene placeres i en plastkasse ved -80°C

Bilag 4: Protokol for udpladning fra fryserør

Fremgangsmåde:

For at opnå et kimalt på mellem 50-100 kolonier på agarpladerne, skal følgende fortyndinger benyttes:

- For *E.coli*, *S.aureus*, *Serratia* og *E.faecalis*:
 - 50 µL fra fryserøret blandes med 950 µL FV i et steril eppendorfrør
 - 100 µL heraf udplades på agarplade
-
1. Agarpladerne der skal bruges, skal være helt tørre ellers tørres pladerne i LAF-bænk. Optimalt er pladerne støbt mindst dagen før
 2. Ét fryserør fra -80 °C tøs op på bordet i LAF bænken
 3. Whirlmix kort fryserøret
 4. Udtag fra fryserøret og bland med FV i en vial
 5. Resuspender
 6. Vialen placeres i holderen ved robot opstillingen
 7. Robotten skal startes inden for max. 1 time

Bilag 5: Protokol for billedbehandlingen

Vejledning til Label Studio

Indhold

- Start Label Studio programmet.....
- Håndter nye billeder
- Del billeder
- Fjern ligegyldige billeder
- Importer billeder.....
- Sådan sletter man et importeret billede

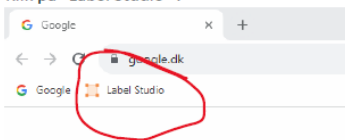
Start Label Studio programmet

Kontroller at det ikke allerede kører:

- Start en Chrome browser, hvis der ikke er en der kører :



- Klik på "Label Studio" :



- Hvis det virker er du i gang, HVIS der kommer en fejl som denne, så fortsæt nedenfor:



Der kan ikke oprettes forbindelse til dette website

localhost nægtede at oprette forbindelse.

Prøv at:

- Tjekke din forbindelse
- Tjekke din proxy og din firewall

ERR_CONNECTION_REFUSED

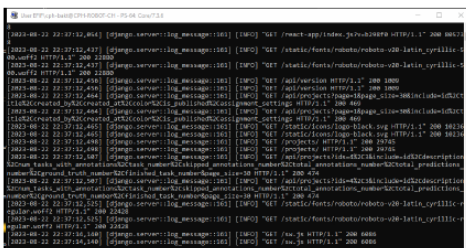
Genindlæs

Detaljer

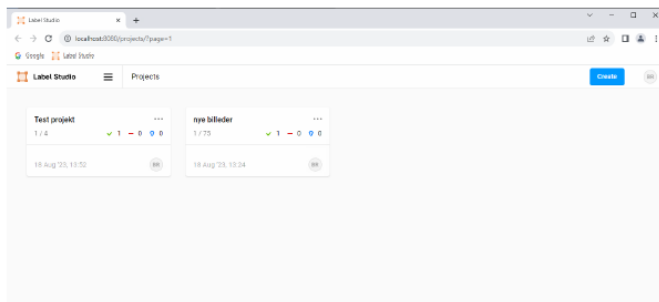
Start ved at klikke på ikonet på skrivebordet, hvis det ikke kører (se ovenfor)



- Der vil åbne et vindue med en masse tekst der ruller over.



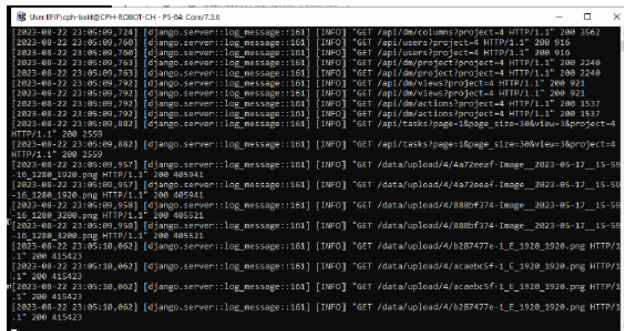
- Afvent at der starter en Browser af sig selv.



- Den er nu klar til at blive brugt

Stop Label Studio

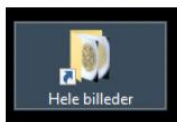
- Vælg vinduet med teksten der ligner denne:



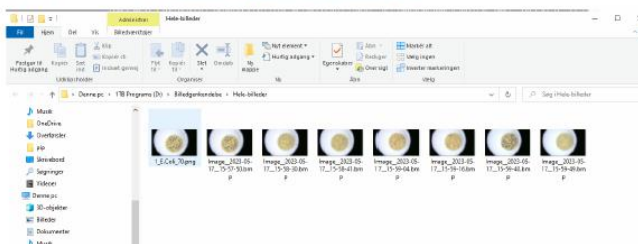
- Tryk Ctrl + c nogle gange til vinduet forsvinder, og der med lukker Label Studio

Håndter nye billeder

Klik på linket "Hele billeder"

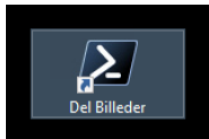


En stifter kommer frem og her skal nye billeder indsættes



Del billeder

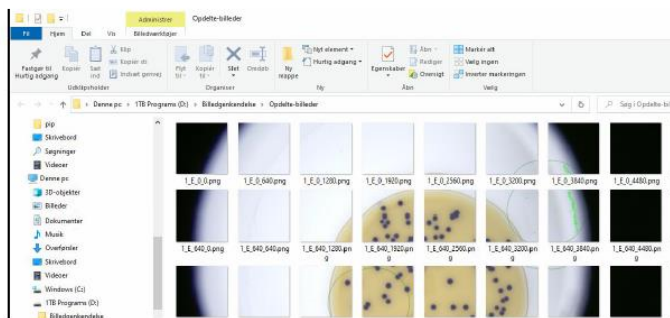
Klik på linket "Del billeder"



Der vil komme et vindue frem der skriver hvilke billeder der bliver opdelt, afvent vinduet forsvinder

```
User: EPI\cph-bakt@CPH-ROBOT-CH - PS-64 Core7.2.6
D:\Billedgenkendelse\Opdelte-billeder\1_E_Col1_70.png
D:\Billedgenkendelse\Opdelte-billeder\1_E_0.png
D:\Billedgenkendelse\Opdelte-billeder\1_E_0_640.png
D:\Billedgenkendelse\Opdelte-billeder\1_E_0_1280.png
D:\Billedgenkendelse\Opdelte-billeder\1_E_0_1920.png
D:\Billedgenkendelse\Opdelte-billeder\1_E_0_2560.png
D:\Billedgenkendelse\Opdelte-billeder\1_E_0_3200.png
D:\Billedgenkendelse\Opdelte-billeder\1_E_0_3840.png
D:\Billedgenkendelse\Opdelte-billeder\1_E_0_4480.png
D:\Billedgenkendelse\Opdelte-billeder\1_E_0_5120.png
D:\Billedgenkendelse\Opdelte-billeder\1_E_640_0.png
D:\Billedgenkendelse\Opdelte-billeder\1_E_640_640.png
D:\Billedgenkendelse\Opdelte-billeder\1_E_640_1280.png
D:\Billedgenkendelse\Opdelte-billeder\1_E_640_1920.png
D:\Billedgenkendelse\Opdelte-billeder\1_E_640_2560.png
D:\Billedgenkendelse\Opdelte-billeder\1_E_640_3200.png
D:\Billedgenkendelse\Opdelte-billeder\1_E_640_3840.png
D:\Billedgenkendelse\Opdelte-billeder\1_E_640_4480.png
D:\Billedgenkendelse\Opdelte-billeder\1_E_640_5120.png
D:\Billedgenkendelse\Opdelte-billeder\1_E_1280_0.png
D:\Billedgenkendelse\Opdelte-billeder\1_E_1280_640.png
```

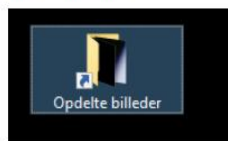
Der vil komme en stifinder frem der viser de delte billeder:



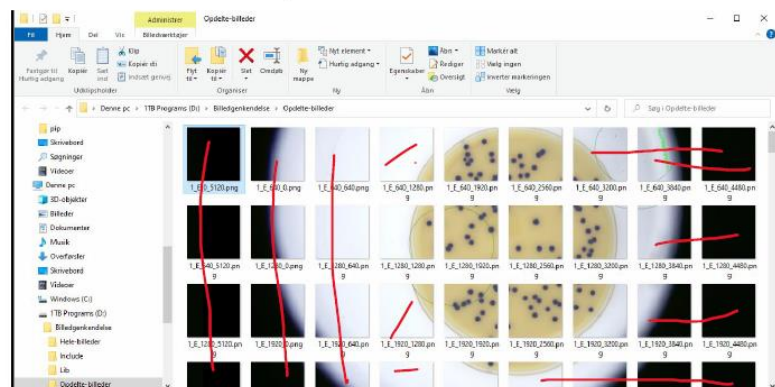
Den er nu klar til at blive importeret


Fjern ligegyldige billeder

Klik på "Opdelte billeder"



Der starter en stifinder til at kunne fjerne irrelevante billeder, blot ved at slette dem.



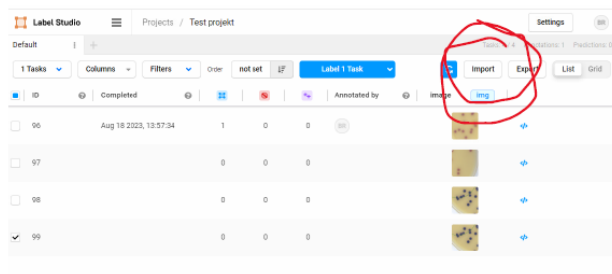
Dem der er markeret med  er ikke relevante og kan slettes

Importer billeder

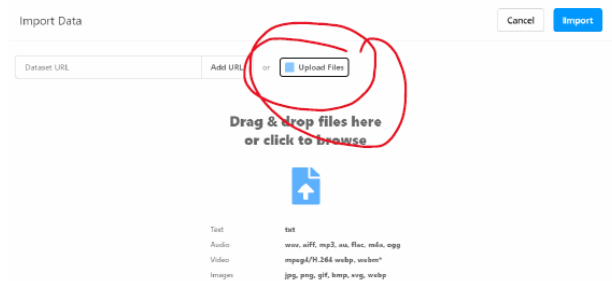
Under et projekt, eller mens man definerer et projekt, kan man importere billeder.

For at importere til et givent projekt :

Klik på **Import**:

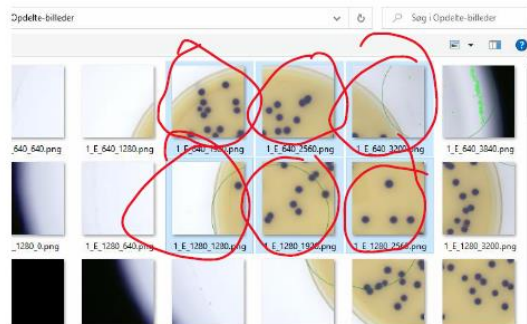


Klik på **"Upload Files"**:

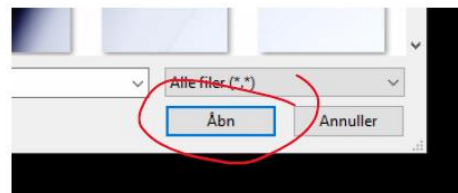


Hold CTRL nede og marker alle de billeder der skal importeres

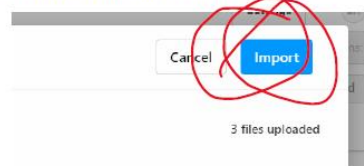
(Man kan sagtens importere de samme billeder flere gange, men det giver ikke mening i denne sammenhæng)



Klik på **"Åbn"**



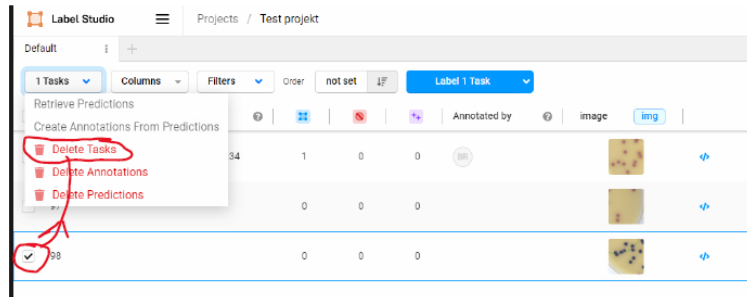
Afslut med at klikke på **"Import"**



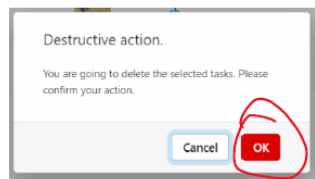
Så er billederne klar til annotering.

Sådan sletter man et importeret billede

Marker med at lave flueben i kassen ud for billedet.



Tryk på knappen "X Tasks" og vælg "Delete Tasks"



Hvis man mener det skal slettes, trykkes på "OK"

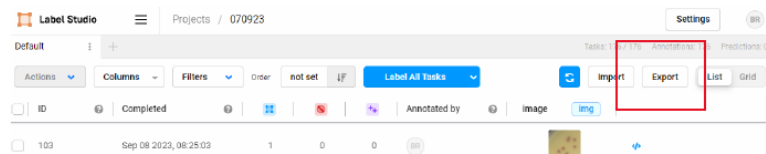
Bilag 6: Protokol for træning og kontrol af AI-modellen

Træn og test med nye billeder

- 1) Eksporter billeder og annotering i Label studio
- 2) Udpak billederne til de respektive biblioteker
- 3) Start træningen
- 4) Test med samme eller nyt billede

1. Eksporter billeder og annotering i Label studio

I Label Studio er der en Export knap



Rul ned og find YOLO

Popular TXT format used for object detection and polygon image segmentation tasks.

YOLO image segmentation object detection

Popular TXT format is created for each image file. Each txt file contains annotations for the corresponding image file, that is object class, object coordinates, height & width.

COCO

sequence labeling

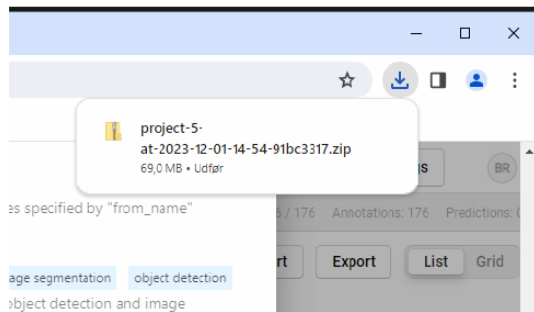
text tagging

named entity recognition

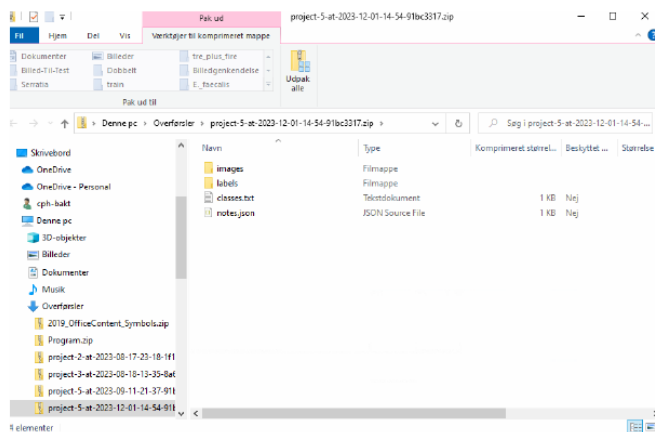
Vælg Export



Browseren vil nu hente alle billeder og txt til projektet, og i dette tilfælde vil det se sådan ud når den er færdig



Vælg den hentede zip fil og zip filen vil åbne i explorer



images indeholder de annoterede billeder

labels indeholder tilsvarende txt filer med annoteringsdetaljerne

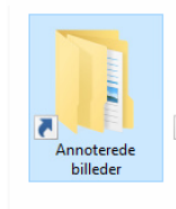
Vi skal bruge ovenstående åbnede zip fil om et øjeblik

2. Ud pak billederne til de respektive biblioteker

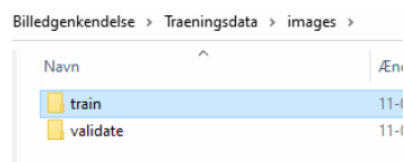
På skrivebordet er en folder (for at samle det lidt) som skal åbnes



Åben "Annoterede billeder"

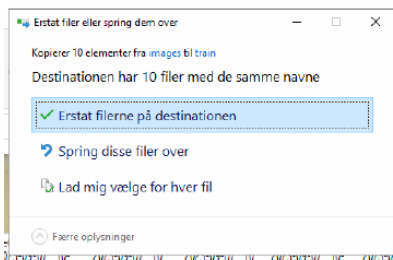


Her i er billederne til træning "train" og validering "validate" af det trænedede, som bruges i træningsprocessen.



Fordel billederne i **images** fra ovenstående zip fil, i "train" og "validate", ca. $\frac{3}{4}$ i "train" og $\frac{1}{4}$ i "validate" og noter hvilke, for eksempel 100 øverste (sorteret på navn) i "train" og nederste 30 i "validate"

Den vil formentlig bede om at tage stilling til om der skal overskrives, hvilket vi gerne vil.

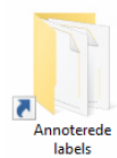


Jeg formoder ikke det kræver en vejledning at kopiere billederne, ellers må I sige til.

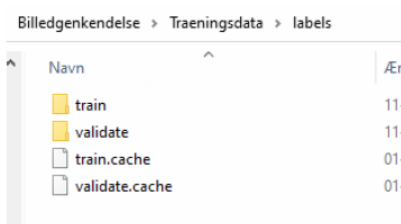


Luk den explorer der ikke er zip filen og find på skrivebordet igen.

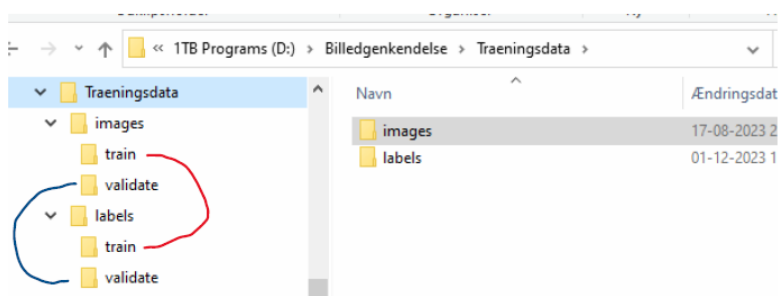
Nu skal vi gentage kopieringen af txt filerne til Annoterede labels – åben denne



Fra explorer'en med zip fil'en skal vi finde "labels" og fordele tilsvarende txt-filer til henholdsvis "train" og "validate"



Nu bør følgende biblioteker indeholde lige mange filer



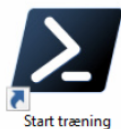
Alle explorer kan nu lukkes igen

3. Start træningen

Åben Billedgenkendelse på skrivebordet



Kør "Start træning"



Det tager lige nu ca. 15 minutter at gennemføre

```
User: EFF\qph-bokt@CPH-ROBOT-CH - PS-64 Core7339
10      -1  1      0      torch.nn.modules.upsampling.Upsample      [None, 2, 'nearest']
11      [-1, 0] 1      0      ultralytics.nn.modules.conv.Concat      [1]
12      -1  1      148224  ultralytics.nn.modules.block.C2f      [384, 128, 1]
13      -1  1      0      torch.nn.modules.upsampling.Upsample      [None, 2, 'nearest']
14      [-1, 4] 1      0      ultralytics.nn.modules.conv.Concat      [1]
15      -1  1      37248  ultralytics.nn.modules.block.C2f      [192, 64, 1]
16      -1  1      36992  ultralytics.nn.modules.conv.Conv      [64, 64, 3, 2]
17      [-1, 12] 1      0      ultralytics.nn.modules.conv.Concat      [1]
18      -1  1      123648  ultralytics.nn.modules.block.C2f      [192, 128, 1]
19      -1  1      147712  ultralytics.nn.modules.conv.Conv      [128, 128, 3, 2]
20      [-1, 0] 1      0      ultralytics.nn.modules.conv.Concat      [1]
21      -1  1      493856  ultralytics.nn.modules.block.C2f      [384, 256, 1]
22      [15, 18, 21] 1      897664  ultralytics.nn.modules.head.Detect      [80, [64, 128, 256]]
YOLOv8n summary: 225 layers, 3157280 parameters, 3157184 gradients, 8.9 GFLOPS

New https://pytorch.org/project/ultralytics/8.0.221 available. Update with 'pip install -U ultralytics'
ultralytics YOLOv8.0.208 Python-3.11.0 torch-2.0.1rcu117 CUDA:0 (NVIDIA RTX A5000, 24564MiB)
Engine/trainer: task=detect, mode=train, model=yolov8n.yaml, data=config.yaml, epochs=5, patience=300, batch=-1, imgs=6
46, save=True, save_period=1, cache=False, device=None, workers=12, project=None, name=train, exist_ok=True, pretrained=
```

Den skriver en grøn tekst når den er færdig

```
Speed: 0.2ms preprocess, 0.7ms inference, 0.0ms loss, 0.7ms postprocess
Results saved to runs\detect\train
Learn more at https://docs.ultralytics.com/modes/train
Den er nu færdig - tryk Enter for at lukke denne
```

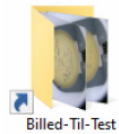
Tryk Enter, så lukker den og det er overstået.

4. Test billede

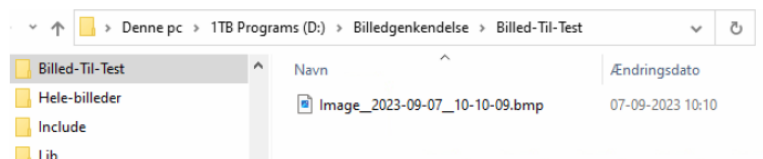
Åben Billedgenkendelse på skrivebordet



Åben "Billed-Til-Test"



Indsæt et vilkårligt billede (har lagt et til afprøvning test)



Note: Den til teste modellen på det **nyeste** billeder, så hvis der er mere end 1 billede i biblioteket, vil den bruge det billede med den nyeste "**Ændringsdato**" (se billedet ovenfor)

Luk explorer'en igen



Åben  igen

Der er to varianter at teste med, en **med** labels hvor der er detaljer i resultatbilledet.

Den anden variant er **uden** labels, så der er kun farvet box om de fundne elementer.

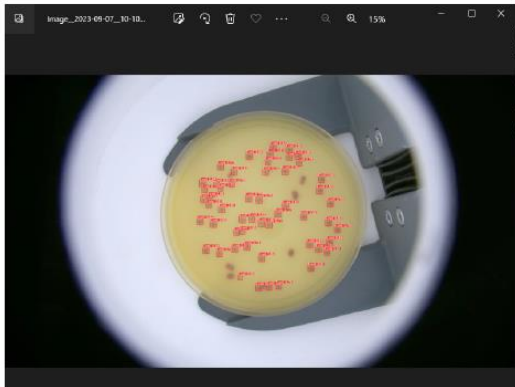


Test Nyeste billed
i Billed-Til-Test
med labels

Kør enten på

eller den uden labels

Når den er færdig vil den vise resultatbilledet



Luk ovenstående (eller minimer den)

Så kan du se resultat i tekst boksen

```
User: EPF\cph-bakt@CPH-ROBOT-CH - PS-64: Core/7.3.9
WARNING: imgsz=[520, 302] must be multiple of max stride 32, updating to [544, 304]
image 1/1 D:\Billedgenkendelse\Billed-Test\Image_2023-09-07_10-10-09.bmp 1768x3048 53 E.colis, 58.8ms
Speed: 38.0ms preprocess, 58.8ms inference, 4.0ms postprocess per image at shape (1, 3, 1768, 3048)
Results saved to runs\detect\predict9

Billed der testes D:/Billedgenkendelse/Billed-Test/Image_2023-09-07_10-10-09.bmp :
E.coli: 53
Kendte varianter fra modellen {0: 'E.coli', 1: 'E.faecalis', 2: 'S.aureus', 3: 'Serratia'}
Tryk Enter når du er klar
_
```

I ovenstående har den fundet 53 stk. E-coli.

Tryk Enter for at lukke den