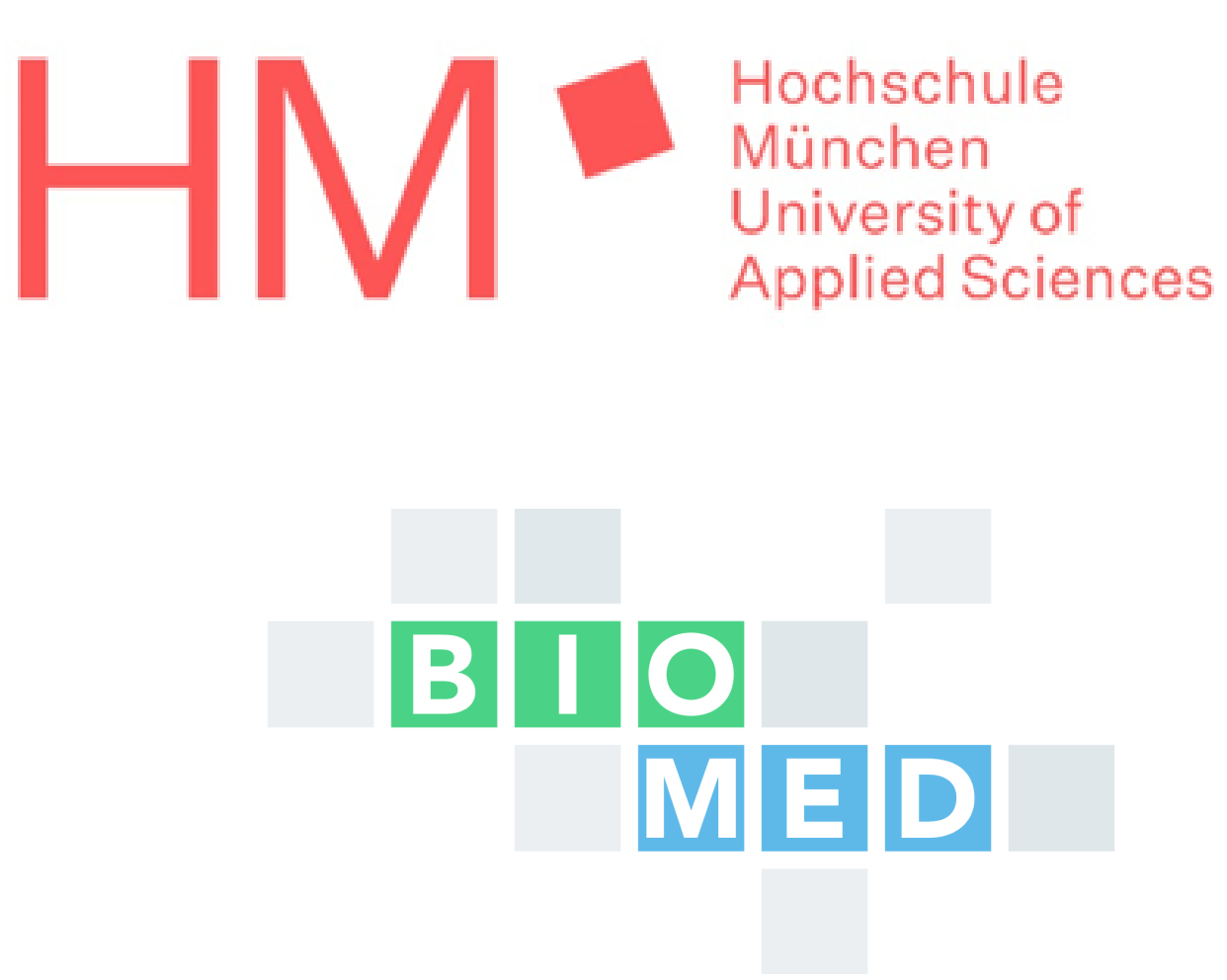


Automatisierte KBE-Zählung auf Agarplatten:

Ein Vergleich klassischer Bildverarbeitung und YOLOv8-Segmentierung



Rihem Chniti, Hochschule München | Fakultät für angewandte Naturwissenschaften und Mechatronik | BioMedLab
Betreuer: Prof. C. Hanshans; C. Scherzer

Einleitung

Die Zählung koloniebildender Einheiten ist eine etablierte Methode zur quantitativen Bestimmung lebensfähiger Mikroorganismen auf Agarplatten. In dieser Arbeit wurde sie verwendet, um die Überlebensfähigkeit von Escherichia coli (E. coli) nach einer 405 nm Bestrahlung zu bewerten. Bisher wird diese Zählung manuell durchgeführt, was zeitaufwendig, fehleranfällig und subjektiv sein kann [1].

Ziel dieser Arbeit ist die Entwicklung eines reproduzierbaren Bilderfassungsaufbaus sowie zweier automatisierter Workflows, die sowohl auf klassischen Bildverarbeitungsmethoden als auch auf Deep Learning basieren, um die Zählung von KBE zu automatisieren.



Fig. 1: Bilderfassungssystem

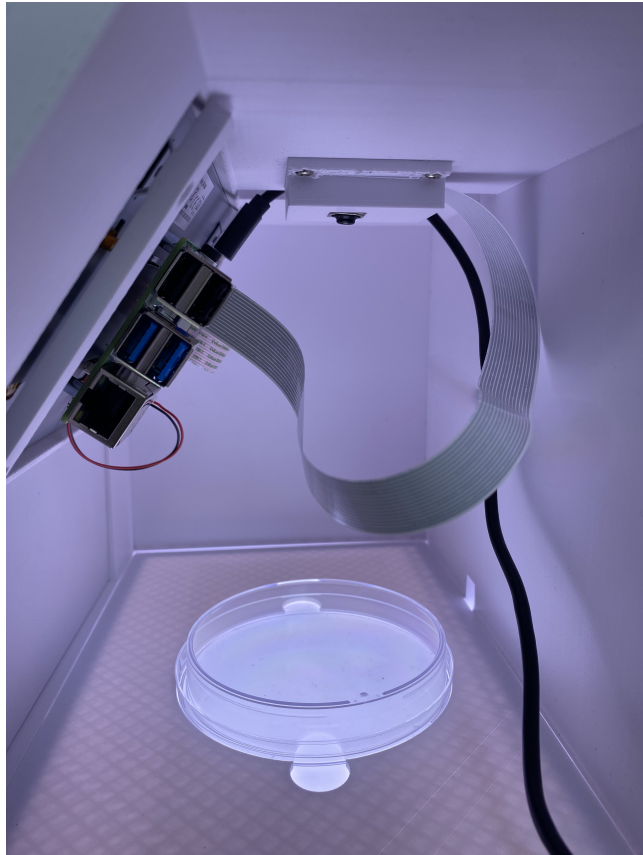


Fig. 2: Bilderfassungssystem von der Seite

Methoden

Die Agarplatten wurden mit einem geschlossenen Imaging-Setup aufgenommen. Anschließend wurde die Petrischale mittels Hough Circle Transform lokalisiert, auf die Agarplatte zugeschnitten und auf 1024×1024 Pixel skaliert. Die OpenCV-Pipeline basiert auf klassischer Segmentierung [1]. Zunächst wurde eine Pseudo-Flat-Field-Correction eingesetzt [2], um ungleichmäßige Beleuchtung zu reduzieren. Danach wurden Koloniekandidaten über ein intensitätsbasiertes Schwellenwertverfahren vom Hintergrund getrennt. Handschriftliche Beschriftungen wurden durch Masken entfernt. Der Rand der Platte wurde identifiziert und entfernt. Berührende Kolonien wurden mithilfe der Distanztransformation und einer Watershed-Segmentierung getrennt. Aus den finalen Konturen wurden Koloniezahlen berechnet.

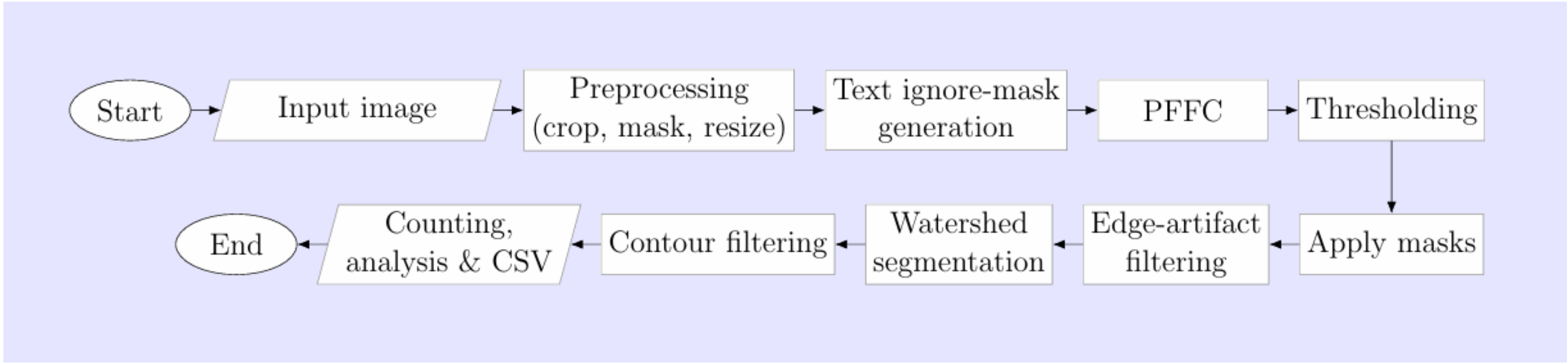


Fig. 3: OpenCV Workflow

Als zweiter Ansatz wurde eine YOLOv8-seg-Pipeline eingesetzt [3]. Das Modell kombiniert Objektdetektion mit Instanzsegmentierung und erzeugt dadurch separate Masken einzelner Kolonien. Es wurde mittels Transfer Learning auf 312 polygonannotierten Agarplattenbildern feinabgestimmt. Nach der Inferenz wurden Vorhersagen mit geringer Konfidenz und doppelte Detektionen gefiltert; die finalen Instanzmasken wurden anschließend gezählt.

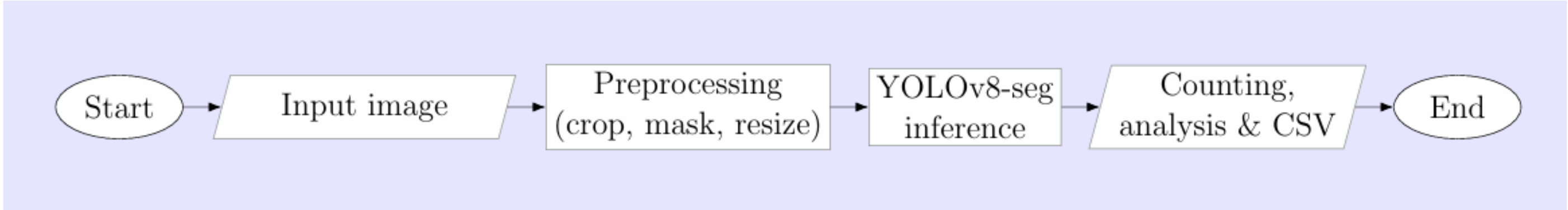


Fig. 4: YOLOv8-Segmentierung Workflow

Zur Evaluation beider Pipelines wurde ein Validierungsdatensatz von 59 Agarplatten Bildern verwendet. Die Bilder wurden in drei Dichtegruppen eingeteilt: niedrig (<30 Kolonien), mittel (30–150 Kolonien) und hoch (>150 Kolonien) [4]. Beide Pipelines zeigten eine hohe Übereinstimmung mit den manuellen Referenzzählungen über alle Koloniedichtegruppen hinweg. Insgesamt erreichte YOLOv8-seg mit einem MAE von 1,73 Kolonien pro Platte eine leicht bessere Zählgenauigkeit als OpenCV mit 1,93 Kolonien pro Platte.

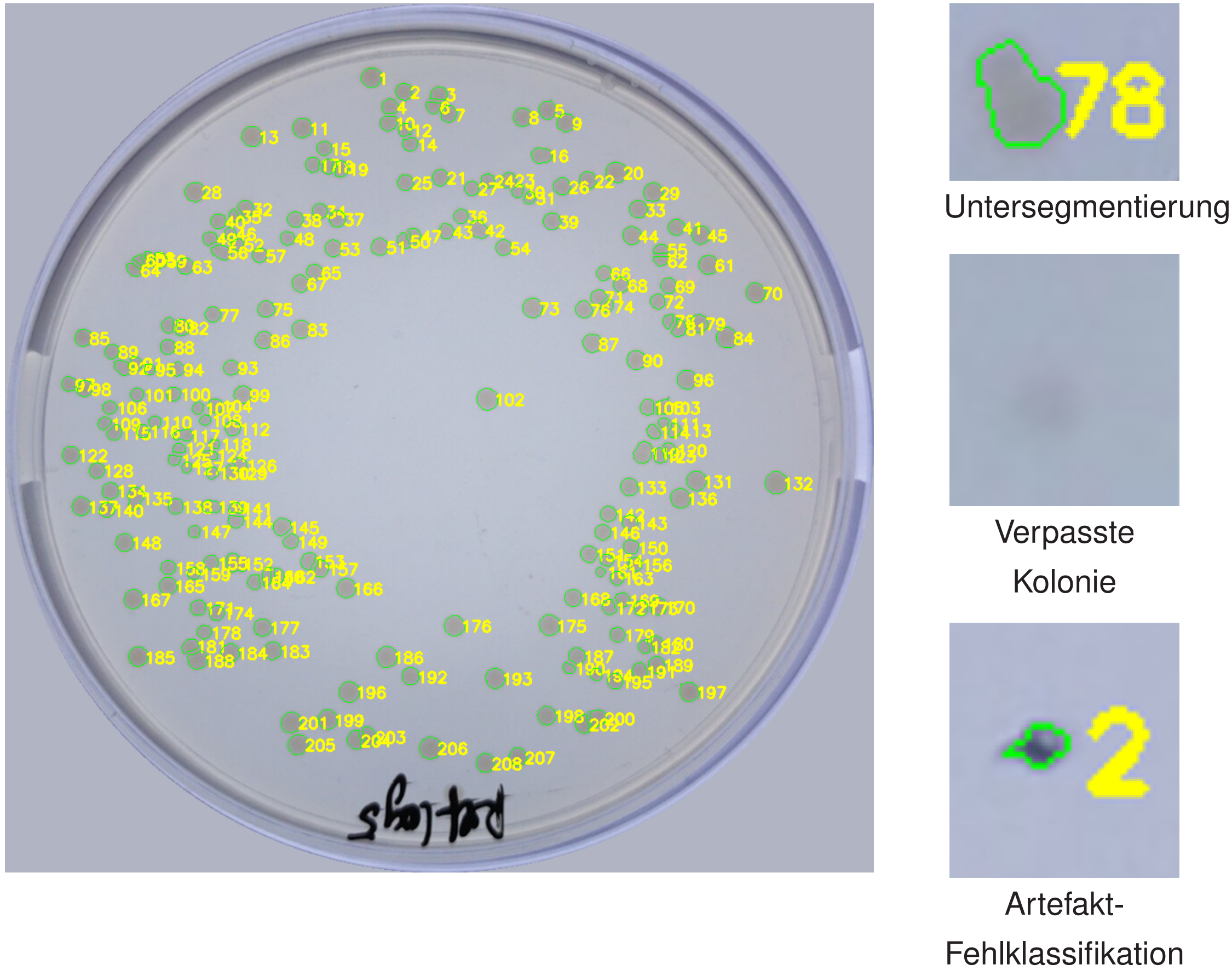


Fig. 6: Beispielhafte Ausgabe des finalen Auswertungsworkflows
Rechts: Typische Fehlerquellen: dicht liegende Kolonien, schwach kontrastierte Kolonien und Artefakte.

Objektbasierter Vergleich

Die Detektionen beider Pipelines wurden objektbasiert über ihre Schwerpunktkoordinaten verglichen. Der Vergleich zeigt, dass die meisten Kolonien von beiden Methoden erkannt wurden; lokale Unterschiede traten vor allem bei dicht liegenden Kolonien und Artefakten auf.

Ergebnisse

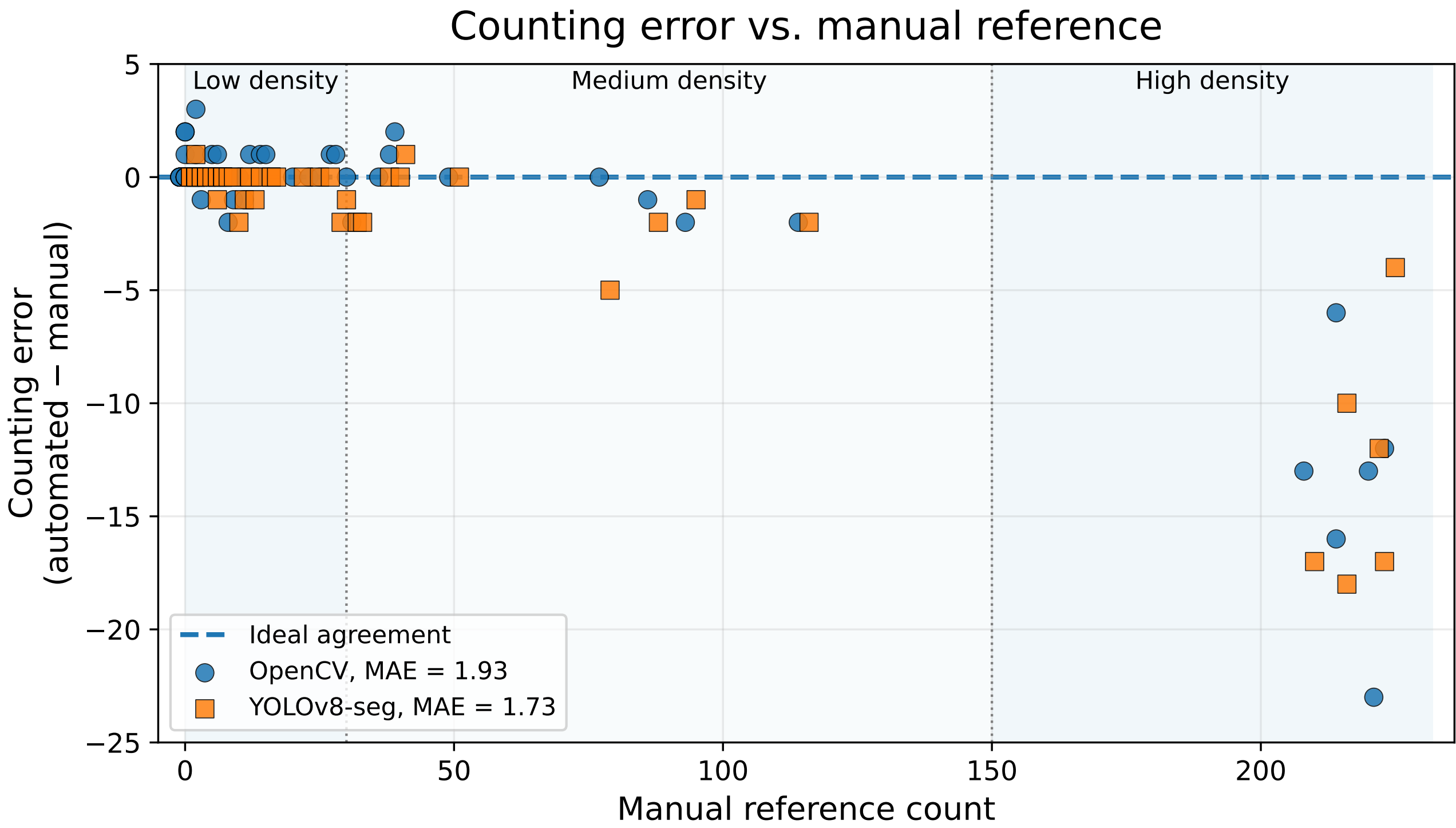


Fig. 5: Zählfehler von OpenCV und YOLOv8-seg im Vergleich zur manuellen Referenzzählung

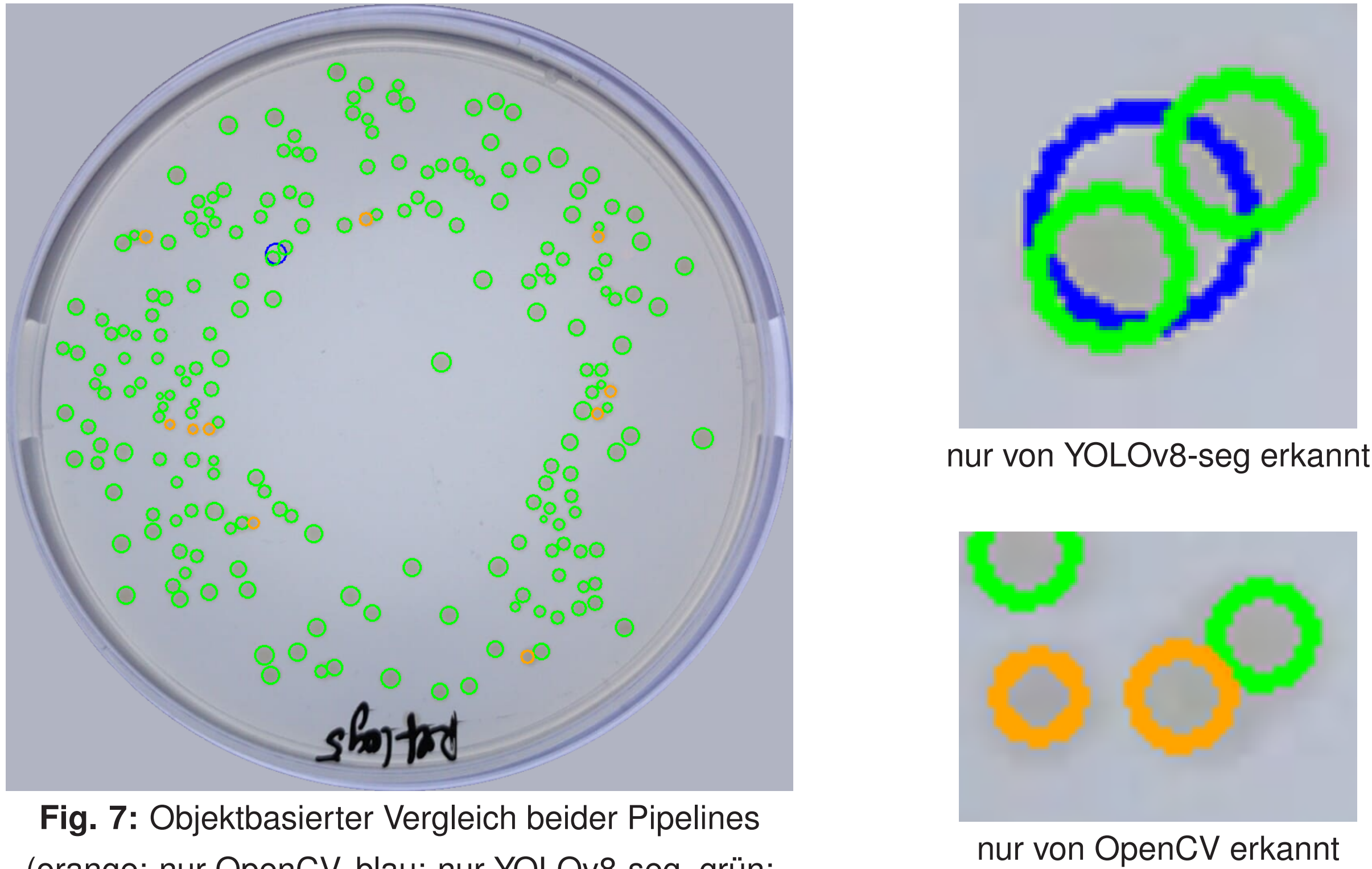


Fig. 7: Objektbasierter Vergleich beider Pipelines
(orange: nur OpenCV, blau: nur YOLOv8-seg, grün: von beiden erkannt)

Fazit

Der entwickelte Workflow ermöglicht eine standardisierte Bildaufnahme und automatisierte KBE-Zählung von Agarplatten.

YOLOv8-seg erreichte die bessere Zählgenauigkeit und war robuster gegenüber Artefakten. Die größte Einschränkung blieb hohe

Koloniedichte, da eng benachbarte Kolonien teilweise untersegmentiert wurden. Zukünftig sollten mehr dichte Koloniebereiche

aufgenommen, die Annotationen verbessert und robuste Methoden zur Trennung überlappender Kolonien getestet werden.

[1] J. Zhang et al., “A comprehensive review of image analysis methods for microorganism counting: From classical image processing to deep learning approaches,” *Artificial Intelligence Review*, vol. 55, no. 4, pp. 2875–2944, 2021.
[2] N. Dey, “Uneven illumination correction of digital images: A survey of the state-of-the-art,” *Optik*, vol. 183, pp. 483–495, 2019.
[3] Ultralytics, *Instance segmentation*, <https://docs.ultralytics.com/tasks/segment/>, Accessed: 2026-05-27.
[4] S. Majchrowska et al., “Assessing microbial colony counting: A deep learning approach with the agar image dataset,” *Neurocomputing*, vol. 630, p. 129 654, 2025.