

# Çemberler için Hough Dönüşümü yardımıyla Özişler Antibiyogram Önlenim Bölge Çapı Belirleme

## Automatic Antibiogram Inhibition Zone Diameter Determination Through Circular Hough Transform

Nurettin Şenyer, Çingiz Efendiye

Bilgisayar Mühendisliği Bölümü  
Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Kurupelit

nurettins@omu.edu.tr

Radyo-Haberleşme Mühendisliği Bölümü  
Azerbaycan Teknik Üniversitesi, Bakü

cefendi@omu.edu.tr

### Özetçe

Hastalığa neden olan mikroorganizmanın gideriminde kullanılacak antibiyotiklerin belirlenmesinde antibiyogram testi kullanılır. Bu testin en yaygın gerçekleştirilmesi olan disk yayılım yönteminde, antibiyotik emdirilmiş kağıt diskler test edilen mikroorganizmadan hazırlanan standart çözeltinin yayıldığı agar plak üzerine yerleştirilir. Zaman sonra antibiyotik mikroorganizmayla tepkimeyle, antibiyotik disk çevresinde dairesel biçimli yapı oluşur. Günümüzde, bu alanların değerlendirilmesi ve ölçülmesi laboratuvarlarda gözle kumpas kullanılarak gerçekleştirilir. Bu çalışmada, önlenim zonu ve disk çaplarını otomatik olarak ölçmek için uygun ön- ve son-işlemeyle çevrelenmiş Çemberler için Hough Dönüşümü temelli yeni bir yöntem önerilmiştir.

### Abstract

The analysis of antibiotics towards a microorganism responsible of an illness is evaluated by using the antibiogram test. In the diffusion method which is the most popular implementation of this test, several paper disks, each one impregnated with a different antibiotic, are spread all over a agar plate which is diffused standard cultivation prepared from test microorganism. After some time, the reaction produced by the antibiotics against the microorganism appear as circular areas of different texture that have grown around the antibiotic disks. Currently, the evaluation and measurement of these areas, called Inhibition Zones, are carried out by human visual inspection via caliper in the laboratories. In this study, a new segmentation and analysis strategy to automatically measure the inhibition zone and disk diameters in antibiograms is presented. It is based on the application of Circular Hough Transform surrounded appropriate pre- and post-processing stages.

### 1. Giriş

Hasta örneklerinden elde edilen mikroorganizmanın gideriminde en uygun antibiyotiklerin veya antibiyotik bileşiminin

belirlenmesinde Antibiyotik Duyarlılık Testleri (ADT) kullanılmaktadır [1, 2]. Bu amaçla geliştirilmiş birçok yöntem vardır: disk yayılım (diffusion), sulandırım temelli. Disk yayılım yöntemi, sulandırım temelli yöntemlere kıyasla daha kolay ve ucuzdur. Bu nedenle de rutin laboratuvar uygulamalarında sıklıkla kullanılmaktadır [1, 2, 3]. Disk yayılım yöntemi antibiyogram olarak da anılmaktadır. Bu yöntemde, belirli bir miktar antibiyotik emdirilmiş kağıt diskler kullanılır. Bu kağıt diskler, test edilen mikroorganizmadan hazırlanan standart çözeltinin yayıldığı agar plak üzerine yerleştirilir. Böylelikle diskteki antibiyotik, agar içerisine yayılır ve mikroorganizmaya etkili olduğu oranda üremeyi engeller. Bunun sonucunda, disk çevresinde bakterilerin üreyemediği dairesel bir arınmış bölge veya önlenim zonu (inhibisyon alanı) oluşur [2].

Uzman tarafından bu zon çapı, kumpas yardımıyla ölçülür [4]. Ölçülen zon çapı, her antibiyotik için farklı olabilen ve NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards) tarafından önerilmiş duyarlılık sınırıyla karşılaştırılır [5]. Antibiyotiklerin neden olduğu zon büyüklüğüne göre, mikroorganizmanın "duyarlı (S, sensible)", "orta (I, intermediate)" ve "dirençli (R, resistant)" şeklinde duyarlılık kategorisi belirlenir [4, 6, 7]. Hastadan alınan mikroorganizmanın duyarlılık kategorilendirme sonuçlarından yararlanarak duyarlı olduğu antibiyotik (ler) hekim tarafından uygulanacak tedavide yeğlenir.

Disk yayılım temelli ADT, ölçme tekniğinden ötürü insan etmenine bağlıdır [8]. Yanlış ölçülen zon çapı, mikroorganizmanın yanlış duyarlılık sınıflandırılmasıyla sonuçlanır. Bu ise hastaya yanlış tedavi uygulanmasını doğurur. Bu yüzden zon çaplarının ölçülmesindeki hassaslık ADT'nin en kritik aşamalarından biridir.

ADT'de mikroorganizmanın ekildiği kap içerisine konan antibiyotik emdirilmiş diskler ve benzer biçimde bu disklerin çevresinde oluşan zon dairesel biçimlidir ve zonlar arası etkileşim sonucunda girişimler oluşabilmekte ve yuvarlak biçimlilik bozulabilmektedir.

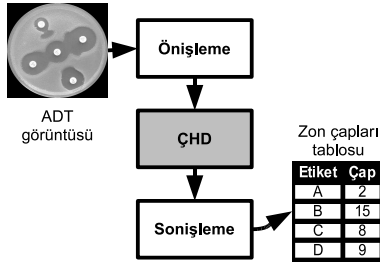
Wong ve arkadaşları [9], gürlütüsü Ortanca Filtreyle

giderilmiş ADT görüntülerinden, önlenim zonlarını nitel olarak değerlendirmede kenar algılamaya ( $5 \times 5$  Sobel işleci) ve görüntü iyileştirmeye dayalı bir yöntem önermişlerdir.

Bu çalışmada, görüntü işlemeye dayalı bir ADT yorumlama sistemi önerilmiştir. ADT görüntüsünde yer alan ölçeği, adeti ve konumu farklı çember yapılarını eksik bilgiye ve bir ölçüye kadar şekil bozulmasına karşın gürültü ve karmaşık arkaplan içerisinde çıkartabilmeyi otomatize edebilmek için merkezinde Çemberler için Hough Dönüşümünün (ÇHD [11]) yer aldığı, uygun ön- ve son-işlemlerle çevrelenmiş bir yöntem önerilmiştir. Bu yöntem yardımıyla çember parametreleri (disk ve zon çapı) görüntü içerisinde çıkartılıp bir tablo halinde kullanıcıya sunulmaktadır.

## 2. Yöntem

Önerilen yöntemin aşamaları Şekil 1’de verilmiş ve takip eden alt bölümlerde ayrıntılandırılmıştır.



Şekil 1: Önerilen algoritma

### 2.1. Önişleme

Görüntü gradÇHD algoritmasına verilmeden önce bazı önişlemelerin yapılması gerekmiştir. Renkli olarak gelen görüntüler siyah-beyaza çevrilmiştir.

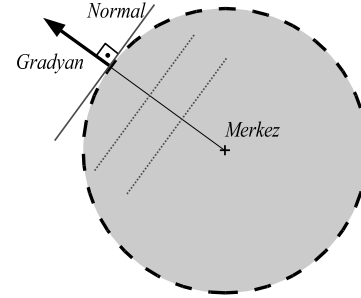
Algoritmanın çekirdeğini oluşturan Hough Dönüşümü (HD), giriş görüntüsünün boyutuna duyarlıdır. Boyutun büyümesiyle hesap süresi ve bellek tüketimi üstel olarak büyümekte ve rasgele yapıdaki gürültü de dikkate alınması durumuna gelmektedir [12]. Bu yüzden boyutları aşırı büyük olan resimler yeniden boyutlandırma ile küçültülmüştür (maksimum izin verilen boyut 500 pikseldir).

Algoritmanın başarımını arttırmak için ÇHD yerine gürültüye duyarlı [13] gradyan temelli ÇHD’nin kullanılmış olması gürültü giderim önişleme ayağının önemini arttırmaktadır. Resimlerdeki tuz-biber tarzı gürültüleri gidermede Ortaça Filtre (OF) kullanılmış ve komşuluk örüntüsü karesel seçilmiştir. Deneyisel çalışmalar antibiyogram görüntüleri için OF filtre boyutu için en uygun değer  $7 \times 7$  olduğunu göstermiştir.

### 2.2. Çemberler için Hough Dönüşümü

Örüntü tanıma yöntemleri görüntü içerisindeki örüntünün konum değiştirmiş, dönmüş ve ölçeklenmiş uyarlamalarını eksik bilgiye karşın özişler olarak gürültüden ve karmaşık arkaplandan çıkarmayı başarabilirler. Hough Dönüşümü (HD, Hough Transform [14]), karmaşık arkaplana rağmen gürültü, bozulma

ve kısmi kopukluklarla baş edebilen [12] özişler örüntü tanıma yöntemidir.



Şekil 2: gradÇHD kavramlar

Sayısal görüntülerden çembersel biçimli özelliklerin çıkarımında Çemberler için Hough Dönüşümü (ÇHD [11]) kullanılır. Standart ÇHD olarak bilinen bu yöntemde, giriş kenar görüntüsündeki kenar piksellerinin her biri parametre uzayında yarıçaplı bir çembere oy vererek toplama noktalarını doldururlar. Bu çalışmada başarımı arttırmak için başvurulacak Gradyan tabanlı ÇHD (kısaca gradÇHD [15]) ise "çember üzerindeki her hangi bir noktanın normaline dikme (gradyan), çemberin merkezinden çıkan ışın doğrultusunda olduğu" bilgisinden yararlanır (Şekil 2). Öte yandan çember içeren görüntünün gradyanında çember sınırlarında vektörler merkeze veya merkezden dışa doğrudur. Bu iki bilgi ışığında öncelikle görüntünün gradyanı alınır. Ardından gradyan vektör yönlerine uygun olarak olası çember merkezi adaylarına oylar dağıtılır. Gradyan görüntüdeki tüm noktalar için oylamanın ardından kanıt toplama uzayında yerel en büyükler belirlenir. Bu yerel en büyük koordinatlarının her biri için yarıçap histogram üretimine geçilir. Yarıçap histogramında, eşik değerinin üzerine çıkan yerel en büyükler belirlenerek algılanan çember parametresi olarak atanır.

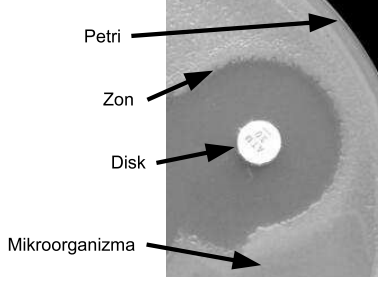
### 2.3. gradÇHD Uygulayımı

Önişlenmiş görüntü gradÇHD algoritmasına girdi olarak verilir. Algoritma parametrelerinin probleme özgü ince ayarının yapılması gerekmektedir. Bu, yöntemin başarımı yani sonuç üretme süresi ve sonuçların doğruluğu açısından önemlidir.

Görüntü içerisindeki çemberlerin yarıçap erimi hakkında küçük de olsa önbilginin olması, algoritmanın başarımını önemli oranda artırır [15]. Önerilen yöntemde, ADT görüntüsünde çıkarılması istenen çembersel yapılar da göz önüne alınarak ÇHD’nin bulacağı çemberlerin yarıçapıyla ilgili kestirimde bulunmak mümkündür. Bu bağlamda görüntü içerisindeki bulunacak çemberlerin yarıçapının alabileceği en küçük ve en büyük  $[r_{min}, r_{max}]$  değer aşağıdaki biçimde belirlenmiştir.

Bu yöntemde kullanılan petri kabı, diskler ve çevrelerinde oluşan zonlar çembersel yapılardır (Şekil 3). Bu çemberlerin alabilecekleri olası değer aralıkları bellidir. En çok 8 disk kullanılması durumunda  $90 - 100 \text{ mm}$  iç çapındaki petri kutuları, daha fazla sayıda disk kullanılması durumunda ise ya iki plakla

çalışılır ya da 140 – 150 mm iç çaplı petri kutuları kullanılır [1]. Bu çalışmadaki deneysel çalışmalarda  $disk_{sayisi} \leq 8$  adet disk kullanıldığından  $R_{petri} \in [90, 100]$  mm değer aralığına sahiptir.



Şekil 3: ADT görüntüsü kavramları

Diğer taraftan ADT görüntü boyutu kareseldir, böylelikle resim  $resimBoyut = genislik = yukseklik$  olduğundan ve petri kabı resmi kapladığından  $R_{petri-max} = resimBoyut$  (piksel) olur.

Pratikte kullanılan disk çapları ise  $R_{disk} \in [5, 8]$  mm aralığında ve ortalama 6.25 mm çaplıdır. Yukarıdaki parametreler ışığında antibiyotik diskinin  $R_{disk-min}$  (piksel olarak) değeri,

$$R_{disk-min} = \frac{R_{disk-min-mm}}{R_{petri-max-mm}} \times R_{petri} \quad (1)$$

burada  $R_{disk-min-mm} = 5$  mm,  $R_{petri-max-mm} = 100$  mm ve  $R_{petri} = resimBoyut$  (piksel olarak). Benzer biçimde  $R_{disk-max}$  (piksel olarak) değeri,

$$R_{disk-max} = \frac{R_{disk-max-mm}}{R_{petri-min-mm}} \times R_{petri} \quad (2)$$

burada  $R_{disk-max-mm} = 8$  mm ve  $R_{petri-min-mm} = 90$  mm.

Algoritmanın  $r_{min}$  (piksel olarak) parametresi,

$$r_{min} = 0.5 \times R_{disk-min} \quad (3)$$

burada 0.5 çarpanı çap-yarıçap dönüşümünü temsil eder. Görüntü içerisinde bulunacak en büyük çemberin boyutu ise zon çapının alabileceği en büyük değere bağlıdır. Önlenim zonlarını, disk büyüklüğünden ziyade içerdikleri antimikrobiyotik miktarı etkilemektedir. Besiyerinden oluşturulacak plakların biçimsel özellikleri de ortaya çıkacak önlenim zonlarının büyüklüğünü etkiler [1]. Zon çapının disk çapına oranı,

$$RzRd_{oran-max} = \frac{R_{zon-max}}{R_{disk-min}} \quad (4)$$

eşitliğiyle gösterilebilir. Test görüntüleri üzerinde yapılan deneysel incelemeler sonucunda bu oranın  $RzRd_{oran-max} \approx 4.5$  olduğu görülmüştür. Böylelikle algoritma parametresi olan  $r_{max}$  (piksel olarak),

$$r_{max} = 0.5 \times RzRd_{oran-max} \times R_{disk-max} \quad (5)$$

eşitliğiyle verilebilir.

Wong ve arkadaşları çalışmalarında [9]  $752 \times 582$  görüntü boyutu kullanmışlardır. Bu çalışmada işlem başarımlı süresini arttırmak adına görüntü boyutu daha düşük  $imgBoyut = 500$  (piksel olarak) seçilmiştir. Bu durumda  $R_{disk} \in [25, 44.4]$  ve  $r_{min} = 12.5$  ve  $r_{max} = 100$  olmaktadır.

## 2.4. Sonişleme

CHT algoritmasıyla üretilen çember parametrelerinin uzman tarafından yorumlanabilir kılınması için bazı kritik sonişleme adımlarına gereksinim duyulmuştur. Görüntü içerisindeki antibiyotik diskler düzgün biçimli olmasına karşın, önlenim zonları daha yoğun şekil bozuklukları içermektedir. gradCHD uygulayımında, merkez oyla/algılanın ardından yarıçap oylama histogramından çemberlerin algılanmasında kullanılan eşik değeri özellikle düşük seçilmiştir. Sonişleme aşamasında bu durum dikkate alındığında ortaya çıkan aynı merkezli ikiden fazla sayıdaki çemberler elenmesi gerekmiştir.

Sunum için antibiyotiklerin her birine birer etiket verilmiştir. Burada basit olarak büyük tek harften oluşan etiketler verilmektedir.

## 3. Sonuçlar

Algoritma Matlab(R) R2007b'de gerçekleştirilmiş ve Intel(R) Core(TM) 2 CPU, 2.4 GHz, 32 bit, 1 GB bellekli PC'de koşturulmuş ve farklı görüntüler üzerinde sınanmıştır. Şekil 4.a-d'de gradCHD algoritmasıyla önceki bölümde sözü edilen önışleme ve sonışlemelerin ardından elde edilen sonuçlar verilmiştir. Şekil 4.c ve .d'deki zonlardan aşırı buğulu olanlar bulunamamıştır. Bunların algılanması için daha fazla çabanın harcanması gerekmektedir. Algoritma tarafından algılanamayacak oranda zonların buğulu alınmasının sebepleri arasında, petri kabına yanlışlıkla birden fazla sayıda mikroorganizma ekilmiş olması veya antibiyotik diskinin üretim yanlışlığı sayılabilir. Birden fazla mikroorganizmanın yanlışlıkla ekilmesi durumunda zonda, diskteki antibiyotiğe organizmalardan birisi duyarlıdır diğeri ise dirençlidir. Böylelikle ne koyu ne parlak bir alan oluşmuştur. Bu durumda ADT'nin tekrarlanması önerilir [8].

Önerilen yöntemin başarımlı değerlendirmek için 33 farklı disk ve 22 önlenim bölgesi içeren 6 adet test görüntüsü kullanılmıştır. 19 önlenim bölgesi için önerilen yöntemle ve klasik olarak antibiyogram önlenim zonlarını ölçmede kullanılan altın standartla ölçüm sonuçları Şekil 5'de verilmiştir. Önerilen yöntemde oluşan ortalama hata  $\pm 0.77375$  mm ve standart sapma 0.786875 mm'dir.

Bu çalışmada önerilen yöntemin işlem süresi süresi  $1.6327 \pm 0.2167$  sn'dir. Wong ve arkadaşları geliştirilen yöntemin [9] sonuç üretme süresi 5 sn kadardır. Görüntünün bilgisayara aktarımının da bu süreye dahil olması ve geliştirilen ve sınamanın yapıldığı ortamın farklılık göstermesine karşın bu çalışmada önerilen yöntemin gerçek zamanlı çalışmak için uygun olduğu söylenebilir.

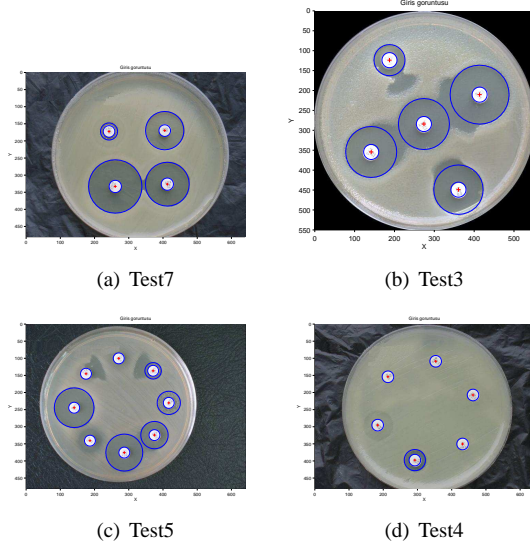
## 4. Tartışma

Görüntüye ve parametre seçimlerine bağlı olarak toplama dizisi farklı gürültü ve gürültü örüntüleri içerebilmektedir ve bu ise algoritma başarımını ciddi derecede etkilemektedir. Bu durumda bu türden yapıların süzgeçlenmesi gerekir. Uygulayimler ve yapılan araştırmalar da önışleme gereksinimi ve doğru seçimlerin başarımı arttırdığını doğrulamıştır.

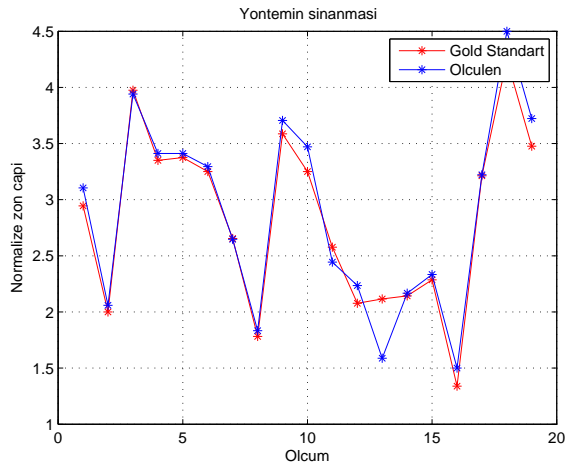
gradÇHD algoritması temelinde uygun önışleme ve sonışlemelerle ADT'deki her bir antibiyotiğe ilişkin disk ve zon çapları ölçölüp etiketlenebilmiştir. Önerilen yöntemle elde edilen hata değeri 3mm sınırının[9] altındadır.

Burada önerilen yöntem, ADT görüntüsündeki çembersel yapıları birbirinden ayırt eden özellikleri vurgulanarak veya kullanılarak başarımı daha da yükseltmek mümkün olabilir. Kullanılabilecek özellikler arasında disklerin görüntü içerisinde nispeten daha parlak tonda (örneğin beyaz) yer alması ve zonların disk merkezinde ve diskten daha büyük çapa sahip olmasını söylenebilir. Bu çalışmanın devamında yapılacak çalışmayla bu özellikleri dikkate alan bir yöntem geliştirilebilir.

Şekil 6.a-b'de test görüntülerinden birine ait diskler gösterilmiştir. Bu disklerin içerisine emdirilen antibiyotiğin türü disk üzerine işlenmiştir: CD 03 ve CTX 30. ADT'nin şu anki gerçekleştirilmesi basit etiket vermeyi kapsamaktadır. İleri de karakter tanıma algoritmaları da kullanılarak doğrudan disk üzerindeki etiketlerin tanınip, buna göre sonışlemenin güncellenmesi ve kullanıcı dostu hazırlanması mümkün olabilecektir.



Şekil 4: ADT sonuçları



Şekil 5: Önerilen yöntemle altın standart sonuçlarının karşılaştırması



(a) Sol-alt bölümdeki C ile (b) Sağ-alt bölümdeki D etiketlenen antibiyotik ile etiketlenen antibiyotik

Şekil 6: Antibiyotik etiketleri

Çalışılan mikroorganizma için söz konusu antibiyotiğe duyarlılık zon eşiği için hazır tablolar kullanılmaktadır. Bu tablolardan en yaygın olanı Kirby-Bauer zon yarıçap yorumlama çizeneğidir [1, 4]. Bu tabloların bilgisayar ortamına aktarılması ve yazılıma eklenmesiyle ADT işlemi, yazılımı kullanan uzmanın sadece mikroorganizma bilgisini seçmesine kadar indirgenebilir.

Burada prototip hazırlanmıştır, otomatize etiketleme ve tabloların da eklenmesiyle uygun yazılım ortamında algoritmanın gerçekleştirilmesiyle ADT'ni kullanıcıdan sadece mikroorganizma türü bilgisini okumaya kadar indiren bir donanıma dönüştürmekte olanaklı olabilecektir.

## 5. Kaynakça

- [1] Hakkı Bilgehan, *Klinik Mikrobiyolojik Tanı*, Barış Yayınları Fakülteler Kitapevi, 2002.

- [2] Şemsettin Ustaçelebi, Gönül Mutlu, Turgut Imir, Tevfik Cengiz, Emel Tumbay, and Ömer Mete, *Temel ve Klinik Mikrobiyoloji*, Güneş Kitabevi, 1999.
- [3] Patrick R. Murray, Ellen Jo Baron, James H. Jorgensen, Michael A. Pfaller, and Robert H. Tenen, Eds., *Manual of Clinical Microbiology*, vol. 1, ASM Press, 2003.
- [4] G.E. Kaiser, "Biol 230: Microbiology lab manual," *The Community College of Baltimore County, Catonsville Campus Division of Mathematics, Sciences, and Engineering*, 2006.
- [5] Deniz Gür, "Antibiyotik duyarlılık testlerinin standardizasyonu," *3. Antimikrobik Kemoterapi Günleri: Klinik-Laboratuvar Uygulamaları ve Yenilikler*, vol. 1, no. 31, pp. 58–63, 1997.
- [6] Jackie Reynolds, "Kirby-bauer (antibiotic sensitivity)," *Lab Procedures Manual, Richland College*, 2005.
- [7] G. Mauriello, G. Moschetti, F. Villani, G. Blaiotta, and S. Coppola, "Antibiotic resistance of coagulase-negative staphylococci isolated from artisanal naples-type salami," *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, vol. 51, pp. 19–24, 2000.
- [8] Ahmet Başustaoğlu, "Antibiyotik duyarlılık testlerinde kalite kontrolü," *3. Antimikrobik Kemoterapi Günleri: Klinik-Laboratuvar Uygulamaları ve Yenilikler*, vol. 1, no. 31, pp. 64–70, 1997.
- [9] S. Suntiwanakul K. Wong-ek, L. Boonchu and S. Sriboonsong, "The interpreting system for antimicrobial susceptibility analysis with image processing," *Proceedings of the Fifth IASTED International Conference, Biomedical Engineering, Innsbruck, Austria*, 2007.
- [10] David Felmingham and Derek F.J. Brown, "Instrumentation in antimicrobial susceptibility testing," *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, pp. 81–85, 2001.
- [11] R.O. Duda and P.E. Hart, "Use of the hough transform to detect lines and curves in pictures," in *CMetImAly77*, 1977, pp. 204–208.
- [12] Jiqiang Song and Michael R. Lyu, "A hough transform based line recognition method utilizing both parameter space and image space," *Pattern Recognition*, vol. 38, no. 4, pp. 539–552, 2005.
- [13] E.R. Davies, "The effect of noise on edge orientation computations," *Pattern Recogn. Lett.*, vol. 6, no. 5, pp. 5–322, 87.
- [14] P.V.C. Hough, "Methods and means for recognizing complex patterns," *U.S. Patent 3069654*, 1962.
- [15] Ali Ajdari Rad, Karim Faez, and Navid Qaragozlou, "Fast circle detection using gradient pair vectors," in *Digital Image Computing: Techniques and Applications*, 03, pp. 9–888.