

Çemberler için Hough Dönüşümü yardımıyla Özişler Antibiyogram Önlenim Bölge Çapı Belirleme

Automatic Antibigram 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 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, is 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 *dairese* 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 sınırlarıyla 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 kategorileme sonuçlarından yararlanarak duyarlı olduğu antibiyotik (ler) hekim tarafından uygulanacak tedavide yeğlenir.

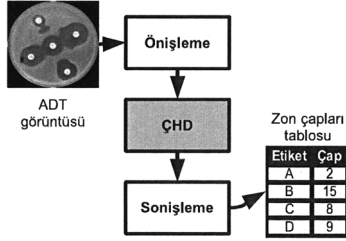
Disk yayılım temelli ADT, ölçme tekniğinden ötürü insan etmenine bağlıdır [8]. Yanlış ölçülen zon çapı, mikroorganizmanın yanlış duyarlılık sınıflandırılmasıyla sonuçlanır. Bu ise hastaya yanlış tedavi uygulanmasını doğurur. Bu yüzden zon çaplarının ölçülmesindeki hassaslık ADT'nin en kritik aşamalarından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

ADT'de mikroorganizmanın ekildiği kap içerisine konan antibiyotik emdirilmiş diskler ve benzer biçimde bu disklerin çevresinde oluşan zon dairesel biçimlidir. Zonlar arası etkileşim sonucunda girişimler oluşabilmekte ve yuvarlak biçimlilik bozulabilmektedir. Bu çalışmada ADT görüntüsünde yer alan ölççeği, adeti ve konumu farklı çember yapılarını eksik bil-

giye ve bir ölçüye kadar şekil bozulmasına karşın gürültü ve karmaşık arkaplan içerisinde çıkartabilmeyi otomatize edebilmek için merkezinde Çemberler için Hough Dönüşümünün (ÇHD [9]) 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

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

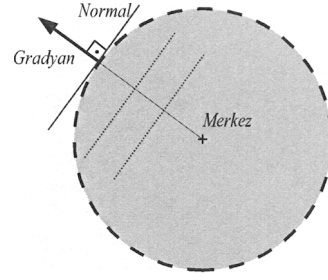
Algoritmanın çekirdeğini oluşturan HD, giriş görüntüsünün boyutuna duyarlıdır. Boyutun büyümesiyle hesap süresi ve bellek tüketimi üstel olarak büyümekte ve rasgele yapıdaki gürültü de dikkate alınması durumuna gelmektedir [10]. Bu yüzden boyutları aşırı büyük olan resimler yeniden boyutlandırılmaya küçültülmüştür (maksimum izin verilen boyut 500 pikseldir).

Algoritmanın başarımını arttırmak için ÇHD yerine gürültüye duyarlı [11] gradyan temelli ÇHD’nin kullanılması gürültü giderim önişleme ayağının önemini arttırmaktadır. Resimlerdeki tuz-biber tarzı gürültüler Ortanca Filtre (OF) kullanılarak giderilmiştir. Komşuluk örüntüsü karesel seçilmiştir. İncelemelerimiz çalıştığımız görüntüler için OF filtre boyutu için en uygun değer 7×7 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 (HT, Hough Transform [12]), karmaşık arkaplana rağmen gürültü, bozulma ve kısmi kopukluklarla baş edebilen [10] özişler örüntü tanıma yöntemidir.

Sayısal görüntülerden çembersel biçimli özelliklerin çıkarımında Çemberler için Hough Dönüşümü (ÇHD [9]) kullanılır. Standart ÇHD olarak bilinen bu yöntemde, giriş kenar görüntüsündeki kenar piksellerinin her biri parametre



Şekil 2: gradÇHD kavramlar

uzayında yarıçaplı bir çembere oy vererek toplama noktalarını doldururlar. Bu çalışmada başarıyı arttırmak için başvurulmuş Gradyan tabanlı ÇHD (kısaca gradÇHD [13]) ise "çember üzerindeki herhangi bir noktanın normaline dikme (gradyan), çemberin merkezinden çıkan ışın doğrultusunda olduğu" bilgisinden yararlanır (Şekil 2). Öte yandan çember içeren görüntünün gradyanı alındığında (değişim yönünü veren vektörler üretildiğinde), çember sınırlarında vektörlerin merkeze veya merkezden dışı doğru olduğu kolaylıkla görülebilmektedir. Bu iki bilgi kullanılarak 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 histogramı üretilir. Yarıçap histogramında, eşik değerinin üzerine çıkan yerel en büyükler belirlenerek algılanan çember parametresi olarak atanır.

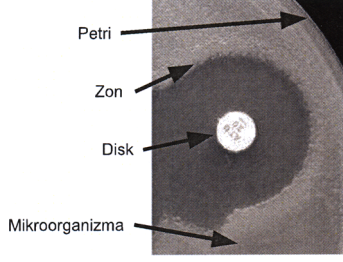
2.3. gradÇHD Uygulayımı

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 [13]. 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 yapıdır (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 $140 - 150 \text{ mm}$ iç çaplı petri kutuları kullanılır [1]. Bu çalışmadaki deneysel çalışmalarda $disk_{sayisi} \leq 8$ adet disk kullanıldığından $R_{petri} \in [90, 100] \text{ mm}$ değer aralığına sahiptir.

Diğer taraftan ADT görüntü boyutu kareseldir, böylelikle



Şekil 3: ADT görüntüsü kavramları

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]. Bu 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.

Görüntü boyutunun $img.boyut = 500$ (piksel olarak) olması durumunda $R_{disk} \in [55, 44.4]$ ve $r_{min} = 12.5$ ve $r_{max} = 100$ olur.

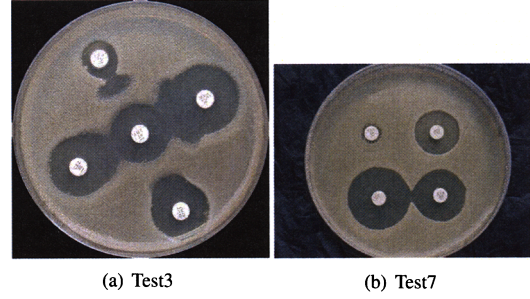
2.4. Sonişleme

CHT algoritmasıyla üretilen çember parametrelerinin uzman tarafından yorumlanabilir kılınması için bazı kritik sonişleme adımlarına gereksinim duyulmuştur. Öncelikle iç içe çemberlere izin verme parametresinin bilinçli olarak çok düşük seçilmesinin sonucu olarak ortaya çıkan aynı merkezli ikiden fazla sayıdaki çemberler elenmelidir.

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

3. Sonuçlar

gradCHD algoritmasının ADT amacıyla kullanımı için geliştirilen algoritma farklı görüntüler üzerinde sınanmıştır. Şekil 4.a-b'de üzerinde çalışılan deneme görüntülerinden 2 tanesi verilmiştir.



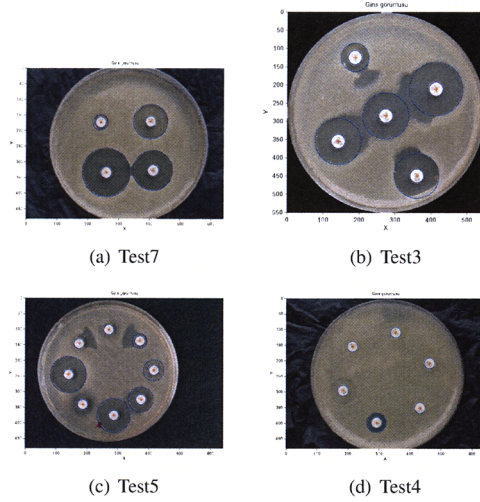
Şekil 4: ADT deneme görüntüleri

Şekil 5.a-d'de ise gradCHD algoritmasıyla önceki bölümde sözü edilen önışleme ve sonişlemelerin ardından elde edilen sonuçlar verilmiştir. Şekil 5.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.

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. Uygulaymlar ve yapılan araştırmalar da önışleme gereksinimi ve doğru seçimlerin başarımı artırdığını doğrulamıştır.

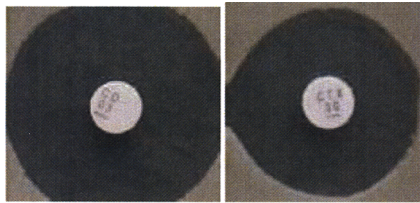
gradCHD algoritması temelinde uygun önışleme ve sonişlemelerle ADT'deki her bir antibiyotiğe ilişkin disk ve zon çapları ölçülüp etiketlenebilmiştir.



Şekil 5: ADT sonuçları

Burada önerilen yöntem, ADT görüntüsündeki çembersel yapıları birbirinden ayırt eden özellikleri vurgulanarak veya kullanılarak başarımları 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 antibiyotik 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 sonuçlemenin güncellenmesi ve kullanıcı dostu hazırlanması mümkün olabilecektir.



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

manın 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 İmir, 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," 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] John E. Gustafson, "Kirby-bauer antibiotic susceptibility testing," 2006.
- [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] 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.
- [10] 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.
- [11] E.R. Davies, "The effect of noise on edge orientation computations," *Pattern Recogn. Lett.*, vol. 6, no. 5, pp. 5–322, 87.
- [12] P.V.C. Hough, "Methods and means for recognizing complex patterns," 1962.
- [13] 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.