

**T.C.
MARMARA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**ESCHERICHIA COLI BAKTERİSİNİN GÖRÜNTÜ İŞLEME
TEKNİKLERİYLE BELİRLENMESİ**

Dilek TOK

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
MEKATRONİK ANABİLİM DALI**

I.DANIŞMAN

Yrd. Doç.Dr. A. Emin KUZUCUOĞLU

II. DANIŞMAN

Doç.Dr. Haluk KÜÇÜK

İSTANBUL 2009

T.C.
MARMARA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ESCHERICHIA COLI BAKTERİSİNİN GÖRÜNTÜ İŞLEME
TEKNİKLERİYLE BELİRLENMESİ

Dilek TOK
(1411003720060364)

YÜKSEK LİSANS TEZİ
MEKATRONİK ANABİLİM DALI

I.DANIŞMAN
Yrd.Doç.Dr. A. Emin KUZUCUOĞLU

II. DANIŞMAN
Doç.Dr. Haluk KÜÇÜK

İSTANBUL 2009

T.C.
MARMARA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KABUL VE ONAY BELGESİ

Dilek TOK'un "**ESCHERICHIA COLI Bakterisinin Görüntü İşleme Teknikleriyle Belirlenmesi**" isimli Lisansüstü Tez çalışması, M.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun 1 Haziran 2009 tarih ve B.30.2.MAR.0C1.00.00.SEK./2071 sayılı kararı ile oluşturulan jüri tarafından Mekatronik Anabilim Dalı Mekatronik Programında YÜKSEK LİSANS Tezi olarak kabul edilmiştir.

Danışman : Yrd.Doç.Dr.A. Emin KUZUCUOĞLU (Marmara Üniversitesi)

Üye : Yrd.Doç.Dr. Erbil AKBAY (Marmara Üniversitesi)

Üye : Yrd.Doç.Dr. Hasan Hüseyin ÇELİK (Marmara Üniversitesi)

Tezin Savunulduğu Tarih: 02.07.2009

ONAY

M.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun Tarih ve sayılı kararı ile Dilek TOK'un Mekatronik Anabilim Dalı Mekatronik Programında Y. Lisans (MSc.) derecesi alması onaylanmıştır.

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

ÖNSÖZ

Tezimin planlanmasında ve gerçekleştirilmesinde çok büyük emekleri olan, hoşgörülerini esirgemeyen, bilgilerinden ve tecrübelerinden yararlandığım değerli hocalarım Yrd.Doç. Dr. A. Emin KUZUCUOĞLU'na ve Doç.Dr. Haluk KÜÇÜK' e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Tezimin deney kısmındaki çalışmaları yürüten değerli hocam Prof. Dr. Meral BİRBİR'e teşekkür ederim.

Laboratuvar aşamasında bana her zaman destek olan Hüsniye HACIOĞLU'na, Emel ASLAN'a, Pınar YILMAZ'a ve Didem YAZI BERBER'e ve yardımlarını esirgemeyen tüm arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Yüksek lisans eğitimimde gerek ders gerek tez aşamasında bana yardımcı olan üniversite arkadaşlarıma teşekkürü bir borç bilirim.

Tüm hayatım boyunca bana her türlü imkânı ve yardımı sağlayan, ilgilerini eksik etmeyen annem Sevgi TOK'a, babam Ali Nazmi TOK'a ve kardeşlerim Duygu ve Burcu TOK'a sonsuz teşekkür ediyorum.

Tez sürecinde her zaman yanımda olan ve tezimin düzenleme konusunda bana yardımcı olan Yüksek Mühendis Aydın KAYA'ya teşekkürler.

Mayıs 2009

Dilek TOK

İÇİNDEKİLER

	<u>SAYFA</u>
ÖNSÖZ.....	i
İÇİNDEKİLER.....	ii
ÖZET.....	v
ABSTRACT.....	vi
KISALTMALAR.....	vii
ŞEKİL LİSTESİ.....	viii
TABLO LİSTESİ.....	x
BÖLÜM I. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
BÖLÜM II. GENEL BİLGİLER.....	3
II.1. LİTERATÜR TARAMASI VE İRDELENMESİ.....	3
II.2. GENEL BİLGİLER.....	7
II.2.1 Enterobacteriaceae Familyasının Genel Özellikleri.....	7
II.2.2 Enterobacteriaceae Familyası için Kullanılan Seçici-Ayrırtedici Besiyerleri.....	7
II.2.2.1 Endo agar (besi yeri).....	7
II.2.2.2 MacConkey besi yeri (enterik agar).....	7
II.2.2.3 EMB besi yeri.....	8
II.2.3 Enterobacteriaceae'nin Teşhisi.....	8
II.2.4 Escherichia coli ve Özellikleri.....	9
II.2.5 Toplam Bakteri Sayımı.....	9
II.2.5.1 Entrobacteraceae Sayımıyla İlgili Genel Bilgiler.....	11
II.3 ÇALIŞMADA KULLANILAN BESİ YERİ VE ÖZELLİKLERİ.....	12
II.4 ÇALIŞMADA KULLANILAN BAKTERİ ÇEŞİTLERİ.....	13

II.4.1 Enterobakter sakazakii(Cronobacter spp)	13
II.4.2 Enterobacter agglomerans	14
II.4.3 Enterobacter cloacae	14
II.4.4 Enterobacter amnigenus	14
BÖLÜM III: TEZ ÇALIŞMALARI	16
III.1. ÇALIŞMALAR	16
III.1.1 Sistemin Genel İşleyiş Adımları	16
III.1.2 Program Akış Şeması	17
III.1.3 Resimlerin Çekilmesinde Kullanılan Düzenek ve Özellikleri	18
III.1.4 Geliştirilen Yazılım	19
III.1.5 Görüntünün İşlenmeye Hazır Getirilmesi	30
III.1.6 Kolonilerin Ayırımında Kullanılacak Özellikleri Tanımlama	42
III.1.6.1 Alan Özelliği	44
III.1.6.2 Dolu Alan özelliği	44
III.1.6.3 Çevre Özelliği	45
III.1.6.4 Büyük Eksen Özelliği	46
III.1.6.5 Küçük Eksen Özelliği	47
III.1.6.6 Yuvarlaklık Özelliği	47
III.1.6.7 Eğrilik Özelliği	48
III.1.6.8 Katılık özelliği	49
III.1.6.9 Eksantriklik özelliği	49
III.1.6.10 Koloni Sayımı	50
BÖLÜM IV. SONUÇLAR VE TARTIŞMA	51
IV.1 DENEYSEL SONUÇLAR	51
IV.2 TARTIŞMA	52
BÖLÜM V. SON DEĞERLENDİRMELER ve ÖNERİLER	54
V.1. DEĞERLENDİRMELER	54
V.2.ÖNERİLER	54
KAYNAKLAR	56
EKLER	59

EK-A	59
EK-B	64
EK-C	71
EK-D	72
ÖZGEÇMİŞ	98

ÖZET

ESCHERICHIA COLI BAKTERİSİNİN GÖRÜNTÜ İŞLEME TEKNİKLERİYLE BELİRLENMESİ

Son zamanlarda tıp ve biyoloji alanındaki araştırmalarda, görüntü işleme hızlı ve güvenilir bir teknik olarak kendini ispatlamıştır. Mikrobiyoloji alanındaki çalışmalarda bakteri koloni sayımı önemli ve zaman alan bir işlemdir. Bakteri sayımı genellikle çıplak göze veya oldukça pahalı elektriksel alan ölçme yöntemi esaslı çalışan Coulter sayıcı makineleri ile gerçekleştirilmektedir. Bu çalışmada, *Escherichia coli* nin petrideki koloni morfolojisi üzerinden görüntü esaslı sayımı incelenmiştir. Deneysel çalışmada *Enterobacteriaceae* ailesinden 4 farklı bakteri Eosin-methylene blue agar (Merck, Darmstadt, Germany) içeren petri üzerine ekilmiştir. Ekilen bakteri petri görüntüleri dijitize edilerek *Escherichia coli* koloni özellikleri belirlenmiştir. Sınıflandırma kriterleri belirlendikten sonra, metod yeni petri görüntüleri üzerinde denenmiş ve başarılı sonuçlar elde edilmiştir.

Mayıs, 2009

Dilek, TOK

ABSTRACT

IMAGE BASED IDENTIFICATION OF ESCHERICHIA COLI BACTERIA

Image processing has proven to be a fast and reliable technique in medical and biological research recently. In microbiological studies bacterial colony counting is an important and time consuming task. Counting is usually accomplished by bare human eye or with very expensive Coulter counter machines using electrical sensing zone technique. In this work, image based counting of *Escherichia coli* through its colony morphology in plate has been studied. Four different bacteria from Enterobacteriaceae family has been incubated on a plate containing Eosin-methylene blue agar (Merck, Darmstadt, Germany) for the experimental work. The images of these has been taken and digitized to determine the colony characteristics of *Escherichia coli*. After determining the criteria for identification, the method has been tested on a new set of plate images yielding satisfactory results.

May, 2009

Dilek, TOK

KISALTMALAR

MATLAB	: Matrix Laboratory
°C	: Santigrat derece
E. coli	: Escherichia coli
EMB	: Eozin Metilen Mavisi

ŞEKİLLER

	<u>SAYFA NO</u>
Şekil III.1 Sistemin Genel İşleyişi	16
Şekil III.2 Program Akış Şeması	17
Şekil III.3 Düzenek Resmi	18
Şekil III.4 Program Ana Ekranı	19
Şekil III.5 Detaylı Escherichia Coli Arama Ekranı	20
Şekil III.6 Kesme İşlemi	20
Şekil III.7 Gri Görüntüye Çevirme	21
Şekil III.8 Kontrastı Artırma	21
Şekil III.9 Kenar Belirleme	22
Şekil III.10 Filtreleme	22
Şekil III.11 Tersini Alma	23
Şekil III.12 Kenar Gürültü Temizleme	23
Şekil III.13 Escherichia Coli Sayısı	24
Şekil III.14 Escherichia Coli Özellik Verileri Ekranı	24
Şekil III.15 Escherichia Coli Çevre Verileri	25
Şekil III.16 Escherichia Coli Alan Verileri	25
Şekil III.17 Escherichia Coli Yuvarlaklık Verileri	26
Şekil III.18 Escherichia Coli Eğrilik Verileri	27
Şekil III.19 Escherichia Coli Eksantriklik Verileri	28
Şekil III.20 Escherichia Coli Katılık Verileri	29
Şekil III.21 Escherichia Coli Hızlı Arama Ekranı	29
Şekil III.22 Hızlı Escherichia Coli Arama Sonuçları	30
Şekil III.23 Görüntünün İşlenmeye Hazır Getirilmesi için İşlem Basamakları..	30
Şekil III.24 Fotoğraf Makinesiyle Çekilen Renkli jpg Biçimli Resim	31
Şekil III.25 Petrinin Resim İçerisinden Çıkartılması	32
Şekil III.26 Kesilmiş Görüntü Çıktısı	32

Şekil III.27 Gri Seviyeye Dönüştürme	33
Şekil III.28 Gri Seviyeye Dönüştürülen Petri Resmi	33
Şekil III.29 Konstratı Artıran Kod Yapısı	34
Şekil III.30 Konstratı Artırılmış Petri Resmi.....	34
Şekil III.31 Siyah – Beyaz Forma Dönüştürme	35
Şekil III.32 Siyah-Beyaza Dönüştürülmüş Petri Resmi.....	35
Şekil III.33 Filtreleme Kod Yapısı.....	36
Şekil III.34 Filtrelenmiş Petri Resmi	36
Şekil III.35 Ters Alınmış Resim	37
Şekil III.36 Petri İçindeki Küçük Alanların Yok Eden Kod Yapısı.....	38
Şekil III.37 Temizlenmiş Petri Resmi	38
Şekil III.38 Resmin Kenarlarına Değen Nesnelerin Yok Eden Kod Yapısı....	38
Şekil III.39 Kenarları Temizlenmiş Petri Resmi.....	39
Şekil III.40 Resimdeki Kolonilerin Etiketlenmesi	39
Şekil III.41 Kolonilerin Etiketlenmiş Görüntü.....	40
Şekil III.42 Resimdeki Kolonilerin RGB'ye Dönüştüren Kod Yapısı.....	40
Şekil III.43 RGB'ye Dönüştürülmüş Görüntü.....	41
Şekil III.44 Resimdeki Kolonilerin Sınırlarını Çizen Kod Yapısı.....	41
Şekil III.45 Koloni Sınırları Çizilmiş Görüntü.....	42
Şekil III.46 Alan Değerlerinin Hesaplanması.....	44
Şekil III.47 Dolu Alan Değerlerinin Hesaplanması.....	44
Şekil III.48 Çevre Değerlerinin Hesaplanması.....	45
Şekil III.49 Büyük Eksen Değerlerinin Hesaplanması.....	46
Şekil III.50 Küçük Eksen Değerlerinin Hesaplanması.....	47
Şekil III.51 Yuvarlaklık Değerlerinin Hesaplanması	47
Şekil III.52 Eğrilik Değerlerinin Hesaplanması	48
Şekil III.53 Katılık Değerlerinin Hesaplanması	49
Şekil III.54 Eksantriklik Değerlerinin Hesaplanması	49
Şekil III.55 Sayılan Kolonilerin Alan Değer Sonuçları.....	50

TABLÖLAR

SAYFA NO

Tablo II.1 Enterobacteriaceae Türlerinin Test Özellikleri	9
Tablo III.1 Escherichia Coli Çevre Sonuçları	25
Tablo III.2 Escherichia Coli Alan Sonuçları	26
Tablo III.3 Escherichia Coli Yuvarlaklık Sonuçları	26
Tablo III.4 Escherichia Coli Eğrilik Sonuçları	27
Tablo III.5 Escherichia Coli Eksantriklik Sonuçları	28
Tablo III.6 Escherichia Coli Katılık Sonuçları	29
Tablo III.7 Hücre Özellik Seti	43
Tablo III.8 Koloni Alan Kriter Aralıkları	44
Tablo III.9 Koloni Dolu Alan Kriter Aralıkları	45
Tablo III.10 Koloni Çevre Kriter Aralıkları	45
Tablo III.11 Koloni Büyük Eksen Kriter Aralıkları	46
Tablo III.12 Koloni Küçük Eksen Kriter Aralıkları	47
Tablo III.13 Koloni Yuvarlaklık Kriter Aralıkları	48
Tablo III.14 Koloni Eğrilik Kriter Aralıkları	48
Tablo III.15 Koloni Katılık Kriter Aralıkları	49
Tablo III.16 Koloni Eksantriklik Kriter Aralıklar	50
Tablo IV.1 Escherichia coli'nin uzman sayımı ile program sayımının karşılaştırılması.....	52

BÖLÜM I

GİRİŞ VE AMAÇ

Görüntü işleme günümüzde ilerleyen teknolojiyle birlikte gelişmekte ve yaygın olarak kullanılmaya başlanmıştır. Bu gelişmelerle, her alanda karşımıza çıkan problemlere görüntü işleme ile çözüm aranmaktadır. Görüntü işleme teknolojileri tıp, güvenlik, üretim, eğitim, bilim alanlarında başarılı sonuçlar ortaya koymaktadır.

Görüntü işleme alanındaki zorluklardan biri işlenecek görüntünün sağlıklı bir şekilde elde edilebilmesidir. Elde edilen görüntüyü gerek çalışılan programın sağlamış olduğu hazır fonksiyonlarla gerek kendi geliştirdiğimiz algoritmalarla işleyerek aranan sonuca ulaşmak hedeflenir. Bu çalışmalar için çeşitli programlama dilleri geliştirilmiştir.

MATrix LABoratory (MATLAB) sağladığı kolaylık ve imkânlarla görüntü işleme alanındaki çalışmalarda en çok tercih edilen uygulama ortamlarından biri olmuştur. MATLAB Image Processing Toolbox'ında her tür uygulamaya yönelik hazır matematiksel algoritmaları olduğu gibi programcı gerek duyduğu fonksiyonu kendisi de gerçekleştirebilmektedir. MATLAB Image Processing Toolbox 'ında işlenecek resim, ortama alındığında matris olarak algılanır. Ve uygulanacak algoritmalar matris üzerinde uygulanır.

MATLAB'da kod yazılabileceği gibi işlemlerin simülasyonları hazırlanarak birçok uygulamanın test yapılma imkânı da vardır. Donanımsal araçlar bağlanarak gerçek zamanlı işlemlerin de sonuçlarına ulaşılabilir.

Tıp(Biyoloji) alanındaki çalışmalarda da görüntü işleme teknikleri verilerin, sonuca ulaşmasında hem hızlı hem güvenilir sonuçlar ortaya koymaktadır. Biyoloji biliminin kollarından olan mikrobiyolojide bakteri sayımı önemli yer kaplamaktadır [1] .

Mikrobiyoloji alanındaki akademik çalışmalarda, gıda alanında, kozmetik alanında, bakteri sayımı önemli ve zaman alıcıdır [2] . Bu tür çalışmalardaki toplam bakteri sayımı BioCounter adında yüksek maliyetli makinalar ile yapılabildiği gibi

insan gücüyle çeşitli yöntem ve testler uygulanarak da sayım yapılabilmektedir. Özellikle suların ve gıdaların mikrobiyolojik kontrolünde bakılan parametreler oldukça fazladır. Bunlara örnek; *Bacillus cereus* sayımı, toplam koliform sayımı, *Escherichia coli*, küf ve maya sayımı, lipolitik bakteri sayımı, mezofolik anaerob bakteri aranması, psikrofilik bakteri sayımını verebiliriz [1]. Uluslararası ticarete çoğu zaman "toplam bakteri" ya da "toplam canlı bakteri" olarak tanımlanan aslında toplam aerobik mezofilik bakteri sayısıdır [3].

İnsan sağlığı açısından en önemli bakteri ailesi Enterobacteriaceae ailesidir. *Escherichia coli*'de Enterobacteriaceae ailesinin içinde yer alan bir türdür. Bu bakterinin etken olduğu infeksiyonlar gelişmekte olan ve özellikle üçüncü dünya ülkeleri toplumlarında en sık rastlanan hastalıkların başında gelir [4,5].

Yeryüzünde tüketime sunulan bütün gıda maddeleri ele alındığında, sterilizasyon amacıyla ısı işlem uygulanan sebze konserveleri ve salça ile uzun ömürlü olarak tanımlanan içme sütü gibi son derece az sayıda gıda maddesi steril kabul edilir. Bu gibi gıdaların dışında kalanlarda belirli sayılarda mikroorganizma bulunması doğaldır. Fakat genel bir gıda hijyeni yaklaşımı ile gıdalarda patojen mikroorganizma bulunmasına izin verilmez. Bu çerçevede steril olmayan gıdalarda bulunmasına izin verilenler sadece saprofit karakterli ve gıdada bulunması doğal olan mikroorganizmalardır. Bunlar arasında toplam mezofil aerob bakteri sayısı gıdalarda mikrobiyolojik kalitenin belirlenmesinde yaygın şekilde başvurulan kriterdir [6].

Bu çalışmada *Escherichia coli*'yi diğer bakterilerden ayırt edip, petrideki toplam *Escherichia coli* bakterisinin koloni sayısının bulunması hedeflenmiştir. Bu sayede zamandan tasarruf edilecektir. İnsan gücü gereksinimi en aza indirilmiş ve yapılması gerekli biyokimyasal testlerin maliyeti azaltılmış olacaktır.

BÖLÜM II

GENEL BİLGİLER

II.1. LİTERATÜR TARAMASI VE İRDELENMESİ

Li Xiaojuan, Chen Cunshei, Yv Ziyi 2007 yılında [7] yaptıkları çalışmada novel bakterilerin mikroskopik görüntülerinden morfolojik özelliklerinin çıkarılarak sınıflandırılmasını yapmak istemişlerdir. Mikroskopik görüntülerde bakterilerin kenarlarının belirlenmesi, gürültülerin temizlenmesi, birbirine benzeyen nesnelere en iyi şekilde ayırt edilmesi için uygun algoritmalar yazılması amaçlanmıştır. Görüntülerden orjinal özelliklerin boyutlarının çıkarılabilmesi için Principal Component Analysis (PCA) kullanılmıştır ve bakterilerin sınıflandırılmasında back propagation(BP) ağ yapısı kullanılmıştır. Bulunan sonuçlar NMRC veritabanıyla karşılaştırılarak yöntemin güvenilir ve hızlı sonuçlar verdiğini gözlemlemişlerdir

Sigal Trattner, Hayit Greenspan, Gabi Tepper, Shimon Abboud (2004) [8] tarafından yapılan çalışmadaki amaç; görüntü işleme teknikleri ile istatistiksel modelleme teknikleri kullanılarak mikrobiyoloji veri tabanında bakteriyofajların otomatik seçecek araç kutusunu geliştirmektir. Tanımlanması ve örneklerin profillerinin çıkartılması örneğin *Staphylococcus* bakterisinde olduğu gibi bakteriyofaj tipi metodlar kullanılmıştır. Böylece insan gücü kullanımı en aza indirilmiş, veri tutarlılığı ve zaman tasarrufu sağlanılmıştır. Bu çalışmada oluşturulan istatistiksel method ile otomatik, nesnel ve güçlü data analizi yapılabilmektedir.

Hio Chon Ngiap, Ian A Watson, Ruikang K Wang, Glenn Ward 1997 yılında [9] yaptıkları çalışmada koloni sayımının görüntü işleme sistemleriyle en iyi şekilde bulunabilme imkanlarını araştırmışlardır. Tarihte mikrobiyoloji alanının gelişim hızı yavaştır. Günümüzde görüntü işleme tekniklerinin gelişmesiyle örnek analizleri yapılırken oluşabilecek insan hataları en aza indirilmeye ve veri elde edinimi hızlı hale getirilmeye çalışılmaktadır. Örneğin ticari üretimlerde petri içerisindeki agar kültürüne ekilmiş bakterilerin koloni sayımını yapabilen makineler mevcuttur.

OPTIMAS (ticari olarak geliştirilmiş genel görüntü işleme uygulamaları için yazılım paketi) kullanılarak Escherichia coli sayımında büyük gelişmeler kaydedilmiştir. Bu sistem ile çeşitli uygulamalara etkili çözümler sunulmuştur.

Manuel Guillermo Forero, Filip Sroubek, Gabriel Cristóbal (1996) [10] tarafından yürütülen çalışmada tüberküloz bakterisinin şekil ve renk tabanlı özelliklerine bakılarak tanımlanması amaçlanmıştır. Erken teşhis ile kontrol altına alınabilen tüberküloz ve mikobakteriler ciddi hastalıklardır. Tükürük görüntü analizlerinde basil bulabilmek için çeşitli teknikler kullanılır. Bununla birlikte tükürük analizinde zaman kaybı, insan gücünden oluşabilecek hata oranı yüksektir. Görüntü işleme teknikleri örneklerin manuel görüntülemesini geliştirmek için iyi bir yapıdır. Bu makalenin konusunu olan yeni otomatik odaklanma algoritması ve yeni basil bulma tekniğindeki amaç tükürük örneklerinin analizinin yüksek kesinlik oranının artırılması ve zaman tüketiminin en aza indirilmesidir. Bu teknik sabit şekil tabanlı renk kanalları üzerinden basit kenarbelirleme yöntemlerinin birlikte kullanılması tabanlıdır. Bazı özellikler basillerden hazırlanmış örneklerin incelenmesiyle belirlenmiştir. ROC analiz yapısı kullanılarak elde edilen sınıflama sonuçları değerlendirilirken kümeleme tekniği kullanılmıştır.

Robert L. Parry, Taiwai Chin, Patricia K. Donahoe (1991) [11] çalışmalarında bilgisayar yardımıyla petri kabındaki hücre koloni sayımını gerçekleştirmek istemişlerdir. Birbirine çok yakın hücrelerin sayımının çok zor olduğu üzerinde durulmuştur. Işık mikroskobuyla hücre kolonilerinin sayımı bıktırıcı bir işlemdir. Diğer taraftan katı Çift kör (genellikle tıbbi deneylerde kullanılan bir yöntemdir, hem denek grubu hem de uygulama grubu gerçek ilaç ile plasebo(etkisiz) ilacın hangisi olduğunu bilmez) olmadıkça koloni sayımı zor olacaktır. Burada sunulan bilgisayar yazılım uygulamasıyla kesin, tekrarlanabilir, hücre koloni sayımı kullanıcı önyargısını minimum seviyeye indirerek yapılabilmesidir. Bu uygulama Apple IICX bilgisayar sistemi ile görüntü yazılımı ve Apple Scan tabanlıdır. Koloniler 24 petri kaliteli tarama yapabilmek için uygun şekilde hazırlanmıştır. Tarananlar görüntüye transfer edildikten sonra her koloni iyi bir şekilde sayılmıştır. Sayımda ışık mikroskobu sayesinde başarıya ulaşılmıştır.

J. Marotz, C. Lübbert ve W. Eisenbeiß (2001) [12] çalışmalarında petri kabındaki koloni sayımını otomatik olarak verimli bir şekilde yapabilen sistemle birlikte yazılım yapmayı amaçlamışlardır. İçme suyunun kalitesini ortaya koymak için mikrobiyoloji alanında geleneksel yöntem olan suyun içerisindeki koloni sayısıdır. Bu yorucu sayma işlemi geleneksel metodlarda manual olarak yapılmaktadır. Petrilerin görüntüsünden elde edilen dijital görüntüler kullanılarak bilgisayar tabanlı yapılan sayımlar ortaya konulmaktadır. Bu method yüksek özellikli ve etkili nesne tanımlama algoritması sayesinde yüksek doğrulukla çalışmaktadır. Bu süreç iç kontrol içermektedir böylece görüntüler seriler halinde değerlendirilmesi otomatik olarak sistem tarafından yapılabilmektedir. Görüntünün elde edilmesinde flatbed tarayıcı veya CCD kameralar kullanılabilir. Laboratuvardaki standart hazırlanma sürecindeki örnekler uygun algoritmaya göre değerlendirilmektedir. Koloni sayımı ve kalitesindeki nesnel gelişmeler bu methodun güvenilirliğini amaçlanmıştır. Petri içindeki nesnelere bulmada uzmanlaşmış algoritmayla yüksek performans ve etkili çözüm elde edilmiştir. Bu çalışma toplam 150 petri üzerinde yapılmış olup petriler 3 farklı kişi tarafından manuel olarak sayılmıştır. Aynı petriler oluşturulan sistemle de sayılmıştır. Bu sistem %90 oranında başarı sağlamıştır.

Chengcui Zhang, Wei-Bang Chen, Wen-Lin Liu ve Chi-Bang Chen (2008) [13] çalışmalarında otomatik bakteri koloni sayım sistemini yapmayı amaçlamışlardır. Bakteri koloni sayımı biyomedikal alanında sıkça kullanılan önemli bir araçtır. Ancak bakteri koloni sayımı düşük veri, zaman kaybı, laboratuvar çalışmasının uzun sürmesi, petri kabındaki yüzlerce, milyonlarca koloninin var olmasıyla oldukça zor bir süreçtir ve bu süreç iyi eğitilmiş sistemler tarafından gerçekleştirilir. Bu çalışmada bilim adamları tamamen otomatik, uygun maliyetli bakteri koloni sayımını gerçekleştirmek istemişlerdir. Bu çalışmadaki method da kromatik (siyah ve beyaz dışındaki tüm renkler) ve akromatik (siyah-beyaz renkler) görüntülerin işlenebilmesidir ve ortamın renkli ve temiz olması durumunda sistemin çalışabilir olmasıdır. Ayrıca görüntülerin tümü standart bir dijital fotoğraf makinesiyle de çekil gereklidir. Sistemdeki tüm işlemler petri kabındaki koloni sayımı, koloni identifikasyonu, birleşmiş kolonilerin ayırt edilmesi ve son olarak da

tutarlı, kesin sayım sonuçlarının rapor edilmesidir. Bu çalışmada sunulan sayıcı hem umut verici hem tekrarlanabilir sonuçlar ortaya koymuştur. Aynı zamanda sistem laboratuvar çalışmalarındaki süreci kısaltmada verimli olmuştur. Bu çalışmada kromatik ve akromatik görüntüler de bile bakteri koloni sayımında, bölgesel koloni sayımında, kümelenmiş kolonilerin sayımında verimli sonuçlar alınmıştır. İlk olarak sunulan yöntemin her türlü petri şeklinde çalışabilir. İkincisi işlenecek görüntülerin elde edilebilmesi için standart bir fotoğraf makinesi kullanılabilir. Sunulan methodun üçüncü katkısı renkli veya temiz ortamda kromatik veya akromatik görüntülerin üzerinde de çalışabilmektedir. Bu çalışmanın en gözalcısı kısmı kolonilerin ortamdaki kabarcık, çizik gibi gürültülerden net bir şekilde ayırt edebilmektedir. Bazı yuvarlak şekilli ve görüntüsü aynı koloniye benzeyen nesnelere gerçek kolonilerden ayırt etmek uzman kişi tarafından oldukça zordur. Bu durum koloni izolasyonunu zorlaştırır. Bu çalışmada renkli ve temiz ortamda elde edilen görüntülerde yüksek verimle çalıştığı gözlemlenmiştir. Ayrıca bu çalışmada sunulan sayıcı insan müdahalesine gerek kalmadan sayma işlemi otomatik olarak gerçekleşmektedir. Bu çalışmanın devamı olarak da önümüzdeki çalışmada koloni yapısına bakılarak hangi çeşit bakteri olduğuna karar verilmesi amaçlanmıştır.

Günümüzde koloni sayımını yapan cihazlarda bulunmaktadır. Bu cihazlar, ekilen petri kabının hazırlanan düzeneğe yerleştirilir. Toplam koloni sayımı düzeneğin yazılımının bilgisayara yüklenmesi sayesinde program çalıştırılarak sonuçlar kullanıcıya sunulmaktadır [14]. Bu çalışmada ise bu işleme ek olarak koloni sayımının yanında koloni Enterobacteriaceae familyasından olan *Escherichia coli* bakterisinin kolonilerinin bulunup sayısının elde edilmesidir.

II.2. GENEL BİLGİLER

II.2.1. Enterobacteriaceae Familyasının Genel Özellikleri

Bu familyanın genel özellikleri; Gram (-),Basil, Sporsuz, peritriş kirpikli, hareketli ve hareketsiz özellik taşırlar. MacConkey agarda iyi ürerler. Selektif besi yeri, içindeki kristal viyole, Gram (+) bakterilerin üremesini önler. pH indikatörü olarak nötral red bulunur. Laktozu fermente edebilme özelliğinin belirlenmesinde kullanılır. Lac (+)'ler pH'ı düşürüp kolonileri pembe-kırmızı yapar; Lac (-)'ler renksiz ve şeffaf kalır. Fakültatif anaerob (aerob) – oksijeni tercih ederler ama oksijen olmazsa da fermentasyon yapabilirler. Üreme için basit maddelere ihtiyaç duyarlar. Şekerleri çeşitli son ürünlere yıkar. Glukoz'dan anaerob fermentasyonla asit ve gaz oluştururlar. DNA (G + C) oranı %39-59 arasında değişir. Karbon dioksitsiz ortamda iyi ürerler. Çevrede çok yaygın olanları vardır. Bağırsak, genitüriner sistem (GU) ve solunum sisteminde yaygın bulunurlar. Bazıları sadece insanda infeksiyon yapar. Örnek *Salmonella typhi* insanda tifo etkenidir. Antibiyotik direnci ileri derecededir [15].

II.2.2. Enterobacteriaceae Familyası için Kullanılan Seçici-Ayırtedici Besiyerleri

II.2.2.1 Endo agar (besi yeri): Laktozu kullanma özelliklerine göre Gram (-) basilleri ayırd edici özellikte bir besi yeridir. Laktoz fermentasyonu sonucu oluşan asetaldehit besi yerinde bulunan bazik fuksin, sodyum sülfid bileşimini ayırır ve fuksinin rengi kırmızı olarak ortaya çıkar. Örnek lac (+) *E. coli* kolonisi ve çevresinde parlak kırmızı-mor röfle gözlenir, laktozu fermente edemeyen *Salmonella* renksiz görülür.

II.2.2.2. MacConkey besi yeri (enterik agar): Koliform basilleri üretmek ve laktozu fermente edenler ile etmeyenleri ayırt etmek için kullanılır. Selektif besi yeridir. İçindeki kristal viyole ve safra tuzları Gram (+) bakterilerin üremesini önler. Nötral red indikatörü lac (+)'lerin etkisiyle, pH düştüğü zaman kolonileri pembe yapar. Laktozu fermente edemeyen *Salmonella* renksiz/şeffaf iken, *E. coli* kolonisi pembe gül kırmızısı renginde görülür.

II.2.2.3. EMB(Eozin Metilen Mavisi) besi yeri: İçindeki metilen mavisi Gram (+) bakterileri inhibe eder. Seçici besi yeridir. Eosin boyası pH değişikliklerine hassastır. Asit ortamda renksizden, siyaha döner. İçinde laktoz ve sükroz vardır. Glukoz içermez.

II.2.3 Enterobacteriaceae'nin Teşhisi

Genel olarak hijyen indeksi olarak kabul edilmekle beraber, ulusal ya da uluslararası standartlar ve tüzüklerde belirli gıda maddeleri için konulmuş limit değerleri yoktur. Bu nedenle gıda mikrobiyolojisinde özel istek üzerine yapılan analizler arasında yer alır. Analiz genellikle dökme ya da yayma kültürel sayım yöntemi ile yapılır ve çift tabaka yöntemi önerilir. Bu gün için Enterobacteriaceae grubunun teşhisinde kullanılan tek besiyeri Violet Red Bile Dextrose (VRBD) Agar olup, standart Violet Red Bile (VRB) Agardan farkı bileşiminde laktoz yerine glikoz olmasıdır. Buna bağlı olarak glikozu kullanan tüm familya üyeleri bu besi yerinde koyu kırmızı ve etrafında kırmızımsı presipitat zonu oluşturur. Enterobacteriaceae familyası üyesi olmayan bakteriler ise renksiz koloni yaparlar [22].

Escherichia coli, *Klebsiella*, *Enterobacter* Enterobacteriaceae familyasının kendi aralarındaki teşhisi için IMViC testi yapılır. IMViC testi yanında bakterilerin tanımlanmasının kesinlik kazanması için çeşitli testler yapılır. Bunlar Indole testi (reaksiyonu), Methyl red testi, Voges-Proskauer testi, Citrate (sitrat) kullanımınıdır [16].

1. Indole testi (reaksiyonu): Bakteriler triptofanaz enzimi etkisiyle triptofanı, indol'e yıkar (+pirüvik asit+amonyak).
2. Methyl red testi: Bakteriler glukozdan asit oluşturur.
3. Voges-Proskauer testi: Bakterilerin glukozdan oluşturduğu asetilmetilkarbinolü teşhis eder.
4. Citrate (sitrat) kullanımı: Bakteriler sitrati karbon kaynağı olarak kullanır. Sitrat (+) ise pH bazik olur. Bromtimol indikatörü yeşilden maviye dönüşür. [15]

Tablo II.1 Enterobacteriaceae Türlerinin Test Özellikleri

Organizma	İndol	Metil Red	Voges-Proskauer	Sitrat
<i>E. coli</i>	+	+	-	-
<i>E. aerogenes</i>	-	-	+	+
<i>Shigella</i>	-	+	-	-
<i>Salmonella</i>	-	+	-	+
<i>Klebsiella</i>	-	-	+	+

II.2.4 *Escherichia Coli* ve Özellikleri

Escherichia coli çoğu hareketli ve laktoz pozitif bakterilerdir. Büyük oranda sindirim sistemi florasında bulunur ve bağırsaklardaki gram negatif aerobik bakterilerin en büyük kısmını oluştururlar. *Escherichia coli* hastane ortamında güç yaşayan bir bakteri olduğundan, bu bakteriye bağlı hastane infeksiyonlarının çoğu endojendir. *Escherichia coli* bağırsak florasından köken almaktadır ve konak direncinin düşmesine bağlı olarak oluşur. *Escherichia coli* hastane infeksiyonlarında önemli bir etkidir. Üriner sistem infeksiyonlarında (ÜSİ) en sık rastlanan etkidir ve nozokomiyal sepsislerin yaklaşık %15' den sorumludur [17,18]. Ayrıca bebeklerde ishale sebep olarak gelişmekte olan ülkelerin başlıca halk sağlığı problemini oluşturmaktadır. *Escherichia coli* kadınlarda başlıca idrar yolu infeksiyonlarının sebebidir. Enteropatojenik *E. coli* sıklıkla genel ateş ile ilgilidir [19].

Escherichia coli'nin neden olduğu diğer infeksiyonlar arasında cerrahi alan infeksiyonları, intraabdominal apseler, peritonit ve pnömoni sayılabilir. İmmün kompromize hastalarda primer bakteriyemi tablosuyla karşımıza çıkabilirler. İmmün kompetan hastalarda ise *Escherichia Coli* infeksiyonları sekonder bakteriyemi nedeni olabilirler. Ve hastane kökenli *Escherichia coli*'lerde direnç problemi giderek büyümektedir. Beyin cerrahisi girişimlerine bağlı ve bir hastane infeksiyonu olarak ortaya çıkan gram negatif basil menenjitlerinden en sık izole edilen bakterilerdir [20,21].

II.2.5 Toplam Bakteri Sayımı

Uluslararası ticarete "toplam bakteri" ya da "toplam canlı bakteri" olarak tanımlanan aslında toplam aerobik mezofilik bakteri sayısıdır. Bakterilerin gelişme

isteklerine göre farklı sıcaklık, oksidasyon/redüksiyon potansiyeli, asitlik, gelişme için özel besin maddelerine gereksinimleri vb. gibi faktörler dikkate alındığında gıda, klinik, çevresel vb. bir örnekte gerçekte ne kadar toplam canlı bakteri olduğunu saptamanın uygulamada bir önemi yoktur. Fakat gıdaların mikrobiyolojik analizinde ise en önemli olan mezofil ve aerob sınırlarda gelişen bakterilerdir. Bunun nedeni gıdalarda bulunabilen bakterilerin büyük bir çoğunluğunun aerobik - mezofilik olarak tanımlanan sınırlar içinde gelişebilmesi, özel besin maddelerine gereksinim göstermemesi, gıdaların çok büyük bir çoğunluğunda olduğu gibi nötr - hafif asit ortamlarda gelişebilmesidir. Bu çerçevede nötr pH'lı ve çoğu bakterinin gelişebileceği düzeyde yeterli besin maddesi içeren ancak, hiç bir inhibitör içermeyen bir genel besiyerinde mezofil ve aerob inkübasyon koşullarında gelişebilen bakteriler gıdalarda en çok rastlanan saprofit ve patojen bakterilerdir. Bu aşamada bunların cins ve türlerinin bilinmesinden daha önemli olan bunların toplam sayısıdır. Bununla birlikte toplam aerobik mezofilik bakteri olarak değerlendirilen sayının içinde patojenlerin de bulunabileceğinden dolayı aranması ve/veya sayılması ayrıca yapılmalıdır.

Toplam aerobik mezofilik bakteri sayımı ile gıda hammaddeleri, yardımcı maddeleri, ambalaj materyalleri, genel olarak işletme koşulları, işleme sonrası depolama ve taşıma koşulları hakkında bilgi edinilerek bunların asgari standartlara uyup uymadığı belirlenebilir, buna göre gıdada bozulmanın başlaması ve raf ömrü saptanabilir [3].

Toplam aerob mezofil bakteri sayımı gıdalar için kolay ve ucuz olarak belirlenebilen ve yaygın olarak kullanılan bir kalite standardıdır. Buna göre toplam aerob mezofil bakteri sayımı için genel amaçlı bir katı besi yerinde 28-30 °C'de ve 48 saat süren aerobik inkübasyon koşullarında gelişen koloniler sayılarak gıdadaki toplam aerob mezofil bakteri sayısı belirlenir [22].

Toplam aerob psikrofil bakteri sayımında genel besiyerleri (plate count agar, plate count skimilk agar, nutrient agar, tyryptic soy) agar kullanılarak ve aerobik koşullarda ancak 10 °C'de 7 gün inkübasyon süresi ile belirlenir. Psikrofil bakterilerin sayımında ise analiz yapılacak sıcaklık analiz raporunda belirtilmelidir [22].

Sayımlarda en yaygın kullanılan besi yeri Plate Count Agar besiyeridir. Plate Count Agar gerek mezofillerin gerek psikrofillerin gerek termofillerin sayımı için kullanılabilir. Tyryptic Soy(CASO; Casein-peptone Soymeal-peptone) Agar; (Merck 1.05458), Nutrient Agar (Merck 1.05458) besiyerleri de bakteri sayımı için kullanılabilir. Özel amaçlı bakteri gruplarının sayımı için Plate Count Agar besiyerine farklı maddeler ilave edilebilir. Örneğin süt ürünlerinde toplam aerob mezofil bakteri sayımı için Plate Count Agar besiyerine %1 oranında süt tozu ilave edilirken, deniz bakterilerinin sayımı için besiyeri deniz suyu ile hazırlanır [22].

Bakterilerin besiyerlerine ekim işlemlerinde yaygın olarak standart yayma plak yöntemi, dökme plak yöntemi kullanılabilir. Psikrofillerin sayımında petrilere ekimde termal şok nedeni ile meydana gelebilecek hasarlara karşı dökme sıcaklığının 45⁰C'yi geçmemesine dikkat edilmelidir [22].

II.2.5.1 Entrobacteraceae Sayımıyla İlgili Genel Bilgiler

Gıdalarda toplam entrobacteraceae sayımı standart olarak katı besiyerinde dökme ya da yayma yöntemi ile yapılır ve buna bağlı olarak yabancı kaynaklarda "aerobic plate count; APC" ve "aerobic mesophilic count; AMC" olarak anılır [3].

Gıdalarda bulunan istenmeyen mikroorganizmaların sayım yöntemi gıdanın çeşidine göre mikroorganizmanın ne denli istenmediğine ve gıdada bulunması olası sayısına göre değişir. Örneğin gıda maddesi sıvı ise doğrudan analize alınabilmekle beraber, katı gıdalarda analiz öncesi bir homojenizasyon işlemi zorunludur. Patojen bakteriler belirli bir hacim ya da ağırlıkta var/yok testi ile aranırken, saprofitler sayılır [22].

Var/yok testlerinde genel yaklaşım 25 gr ya da 25 ml gıdada mikroorganizma varlığının belirlenmesidir. *Salmonella*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* gibi primer patojenler bu yöntemle aranır. Ulusal ve uluslar arası standartların büyük çoğunluğu bu şekilde düzenlenmiş iken, gıda sanayii kendi yaklaşımı ile gıda analizi yapabilir. Gıdaların mikrobiyolojik analizlerinde *Escherichia coli* genel olarak 1 gr ya da 1 ml gıdada bulunmamalıdır. Buna karşı içme ve kullanma sularında genel olarak 100 ml su örneğinde koliform grup bakteriler ve dolayısıyla *Escherichia coli* bulunmasına izin verilmez [22].

Var/yok testlerinde bir diğer yaklaşım biyolojik stabilite testidir. Konserve sebze, et ve balıklar, salça, meyve suyu, reçeller gibi gıdalarda depolama sürecinde gelişebilecek mikroorganizma aranır [22].

Gıdaların mikrobiyolojik analizinde en önemli hususlardan birisi de amaca uygun besiyeri seçimidir. Doğru seçilmeyen, hazırlanmayan, kullanılmayan besiyeri ile yanlış sonuçlar alınacağı kuşkusuzdur [22].

II.3 Çalışmada Kullanılan Besi Yeri ve Özellikleri

Besiyerleri (besi ortamı, ortam, vasat, kültür ortamı, kültür vasatı, kültür besiyeri) mikroorganizmaların geliştirilmesi için formüle edilmiş ortamlardır. Bunlar, mikroorganizmaların geliştirilmesi, izolasyon, tanımlama, sayım, duyarlılık testleri, sterilite testleri, klinik örneklerin incelenmesi, gıda, su ve çevre kontrolleri, biyolojik ürünlerin elde edilmesi, antibiyotik ve vitamin analizleri, endüstriyel analizler vb. gibi çok farklı amaçlara yönelik olabilir [3].

Bu çalışmada kullanılan besiyeri olarak Eozin Metilen Mavisi (EMB) Agar (Merck), Nutrient Broth Besiyeri ve FTS besiyeri kullanılmıştır.

Eozin Metilen Mavisi (EMB) Agar (Merck)

Pepton	10,0 g
Dipotasyum hidrojen fosfat	2,0 g
Laktoz	5,0 g
Sükroz	5,0 g
Eosin Y	0,4 g
Metilen mavisi	0,07 g
Agar-Agar	13,5 g
Distile su	1000,0 ml

Otoklavda 121⁰C' de 15 dakika steril edilmiştir.

Nutrient Broth Besiyeri

NaCl.....	250 g
MgSO ₄ .7H ₂ O.....	2 g
KCl.....	2 g
Sodyum sitrat.....	3 g

Maya özütü.....5 g
Agar.....20 g
Distile su.....1000 g
pH 7.0

121 °C'de otoklavda 15 dk. steril edilmiştir.

% 0.85 Fizyolojik Tuzlu Su Çözeltisi

NaCl (sodyum klorür) 8,5 g
Distile su 1000 ml

Bu çalışmada eozin metilen blue (EMB) agar (Merck, Darmstadt, Germany) üzerine plağa yayma yöntemi ile ekim yapılmış, 15 petrinin görüntüleri kullanılmıştır. Deneyde kullanılacak kültürler nutrient broth (Merck, Darmstadt, Germany) besiyerinde 37°C'da 24 saat inkübe edilerek üretilmiştir. Logaritmik üreme sürelerinin sonundaki kültürlerin yoğunlukları, McFarland 0.5 bulanıklık sabiti ve ardından fizyolojik tuzlu su içerisinde seri seyreltmeler kullanılarak 10^5 olarak ayarlanmışlardır. Çalışmada kullanılmak üzere görüntülenecek petrilere sırasıyla hiç seyreltme yapılmadan (örnek seyreltmesi 10^0), 1/100 seyreltme (örnek seyreltmesi 10^{-2}) ile ve 1/10.000 seyreltme (örnek seyreltmesi 10^{-4}) ile ekimler yapılmıştır. Her örneğin her bir seyreltmesi için bu işlem ikişer defa tekrarlanmıştır.

II.4. Çalışmada Kullanılan Bakteri Çeşitleri

Bu çalışmada Enterobacteriaceae ailesinden, *Enterobacter sakazakii*, *Enterobacter agglomerans*, *Enterobacter cloacae*, *Enterobacter amnigenus* bakteri çeşitleri eozin metilen blue agar besi yerine 10^{-4} , 10^{-2} , 10^0 miktarlarında seyreltilerek ekilmiştir.

II.4.1. *Enterobacter sakazakii* (*Cronobacter spp*)

İnsanlarda, hayvan bağırsaklarında ve çevrede bulunan, çok sayıda bakteri türüne sahip olan Enterobacteriaceae familyasında yer alan bir bakteridir. Mikroorganizmanın, özellikle bebeklerde menenjit veya enteritis gibi hastalıklarla ilişkili olduğu tespit edilmiştir. Rapor edilen birkaç salgında, hastalığı kapalı bebeklerin %20'den - >%50' lere varan oranlara kadarının öldüğü açıklanmıştır.

Hayatta kalanlar için süregelen sorunlar nörolojik rahatsızlıklarla sonuçlanabilir. Yetişkinlerde ise hastalığın daha hafif geçtiği görülür. *Enterobacter sakazakii* 'nin doğal yaşam ortamı iyi bilinmemektedir. Bakteri, sağlıklı insanların bağırsağında ara ara görülen bir misafir gibi ortaya çıkabilir ve çevrede olduğu kadar hayvan bağırsağında da bulunabilir.

Enterobacter sakazakii bütün yaş gruplarında hastalığa sebebiyet verir. Rapor edilen vakalar içerisindeki yaş dağılımından, bebeklerin (1 yaşından küçük çocuklar) diğerlerinden özellikle daha fazla risk altında oldukları sonucuna varılmıştır. Bebekler arasında *Enterobacter sakazakii* enfeksiyon riskini en çok taşıyanlar; ilk 28 günlük olanlar ve düşük kiloda doğan bebekler ya da immün sisteminde zayıflık olanlardır. Aynı zamanda HIV-pozitif annelerin bebekleri de risk altındadır, çünkü bu bebekler özellikle mama tüketme ihtiyacındadır ve bu nedenle de enfeksiyona karşı daha hassastırlar. Bu durumda olan ve düşük kiloda doğan bebekler bazı gelişmekte olan ülkeler için dikkate değer bir sorundur, zira bu ülkelerde böyle bebeklerin oranı gelişmiş ülkelere göre daha yüksektir [23].

II.4.2. *Enterobacter agglomerans*

Enterobacter agglomerans genelde *Erwinia herbicola lathyri* olarak bilinen Enterobacteriaceae familyasında yer alan bir bakteridir. Bu bakteri çeşidi toprak, su, insan ve hayvan dışkısında doğal olarak bulunur. *Enterobacter agglomerans* insanlarda idrar yolu, üst solunum yolu, yara, yanık, menenjit ve sepsis enfeksiyonları yapabilir [22].

II.4.3. *Enterobacter cloacae*

Negatif, basiller olup tek tek duran aerob bakterilerdir. Kolonileri, kanlı agarda beyaz, mukoid olabilen koloniler yapar. Flagella'ları ile hareket eder. Küçük bir kapsülü vardır. Multipl antibiyotiklere direnç gösterirler. Üst (pyelonefrit) ve alt (sistit) üriner sistem enfeksiyonlarına neden olur. El yıkama alışkanlığının olmamasına bağlı olarak horizontal bulaşma sık görülür [24].

II.4.4. *Enterobacter amnigenus*

Enterobacter amnigenus belirsiz patojen bir bakteridir. Bir enterobacter amnigenus enfeksiyonlu bir hastanın incelenmesi, bu mikroorganizmanın neden olduğu patolojinin gözden geçirilmesini önemlidir [25]. *Enterobacter amnigenus*

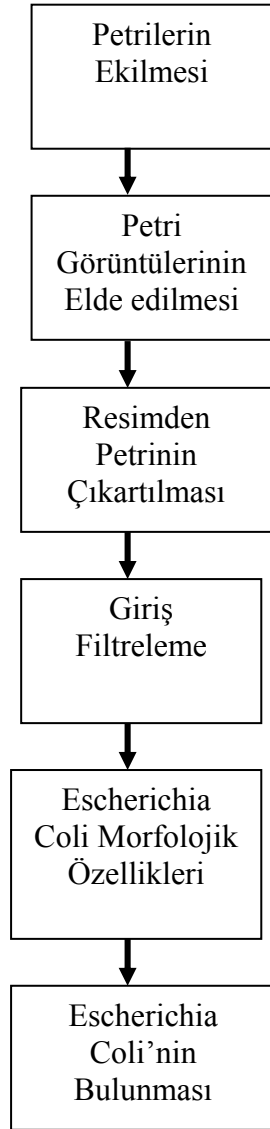
musluk suyundan, çevre suyundan veya topraktan izole edilebilir. Ve *Enterobacter amnigenus* insanda hastalık yapan fırsatçı bir bakteridir [26].

BÖLÜM III

III.1.ÇALIŞMALAR

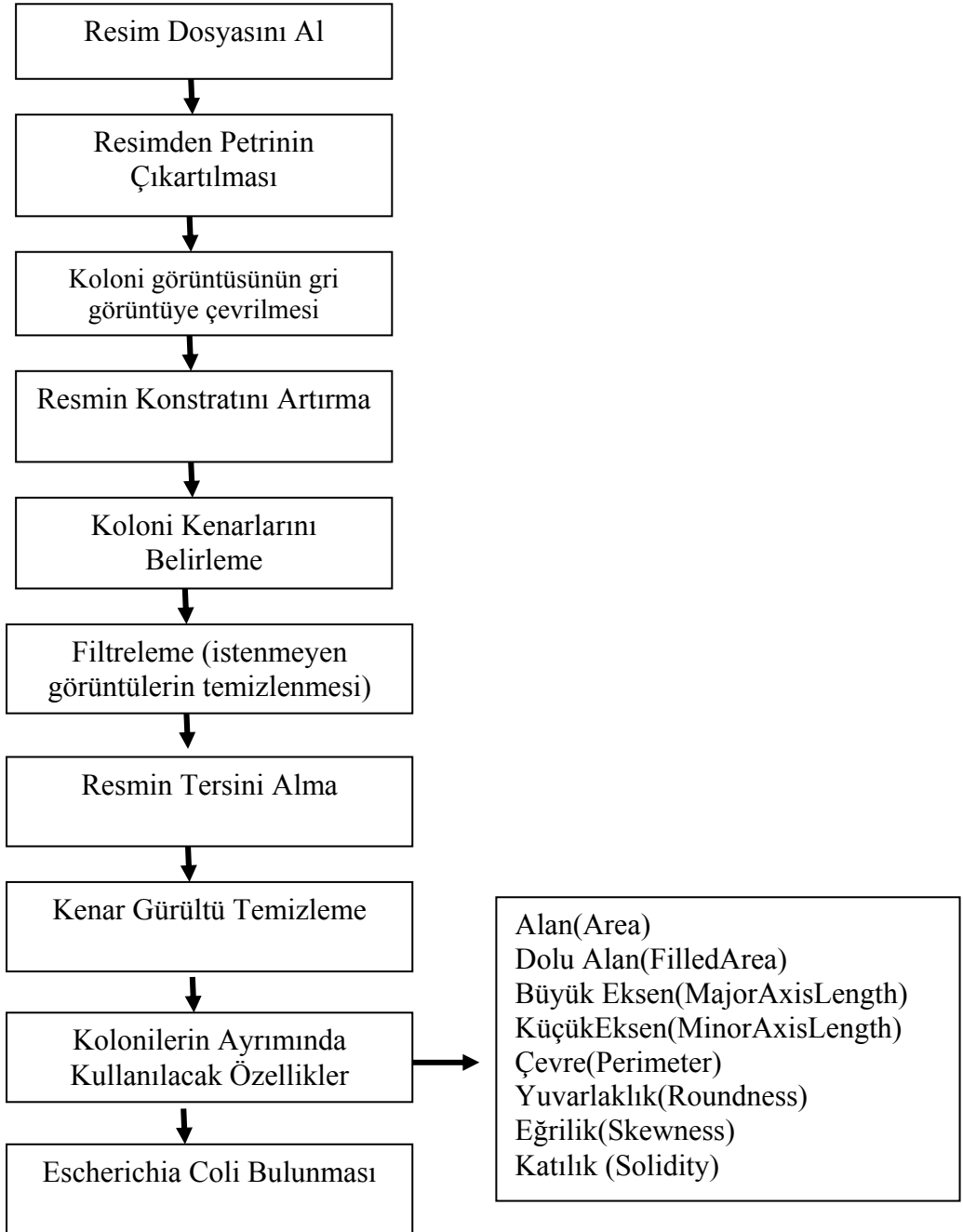
Bu bölümde sistemin genel işleyişi, resimlerin çekilmesinde kullanılan tesisatın özellikleri, programın genel görünümü ve işleyişi, görüntünün işlenmeye hazır getirilmesi, kolonilerin ayırımında kullanılacak özellikleri tanımlanması ele alınmıştır.

III.1.1 Sistemin Genel İşleyiş Adımları



Şekil III.1 Sistemin Genel İşleyişi

III.1.2 Program Akış Şeması



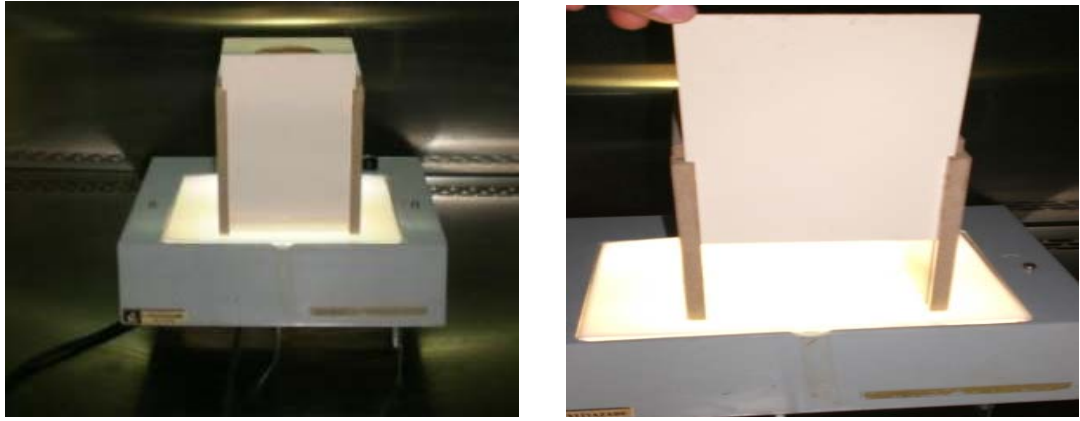
Şekil III.2 Program Akış Şeması

Sistem genel işleyişi aşamaları **şekil III.1** ve program akış şeması **şekil III.2** incelendiğinde, öncelikle petri görüntülerinin istenmeyen gürültülerden temizlenmesi için filtreleme işlemleri uygulanır. Filtreden geçirilen görüntülerde yer alan kolonilerin özellikleri belirlenir. Belirlenen özelliklerin kriter aralığı kolonilerin maksimum değerleri ve minimum değerleri baz alınarak belirlenir. Koloniler bu

kriter aralığına sokularak petride toplam koloni sayısı ve *Escherichia Coli* bakterisinin kolonileri bulunarak işaretlenir.

III.1.3. Resimlerin Çekilmesinde Kullanılan Düzenek ve Özellikleri

Petrilerin resmi, dört tarafı kapalı bir kutu, alttan ışık veren bir cihaz kullanılarak çekilmiştir. Resimler çekilirken hepsi aynı standartlarda çekilmiştir. Hazırlanan düzenekte petriyer üstten ve alttan hiç ışık almayan kutunun içine yerleştirilmiştir. Kutu tahtadan yapılmış olup üst ve yan tarafları kapalı olup ışığı geçirmemektedir. Işık sadece alttan verilmiştir. Düzenekte ışık olarak florans ışığı kullanılmıştır. Düzenekğin resmi **şekil III.3**'de görülmektedir.



Şekil III.3 Düzenek Resmi

Bu çalışmada fotoğrafların elde edilmesinde Sony DSC H9 fotoğraf makinası kullanılmıştır. Resimler çekilirken Sony DSC H9 model fotoğraf makinesinin etkin sensör çözünürlük özelliği 8.1 megapiksel, flaş özelliği kapalı, çekim modu özelliği dijital fotoğraf modu, poz modu özelliği otomatik, görüntü sabitleyici özelliği optik ayarlanarak kullanılmıştır.

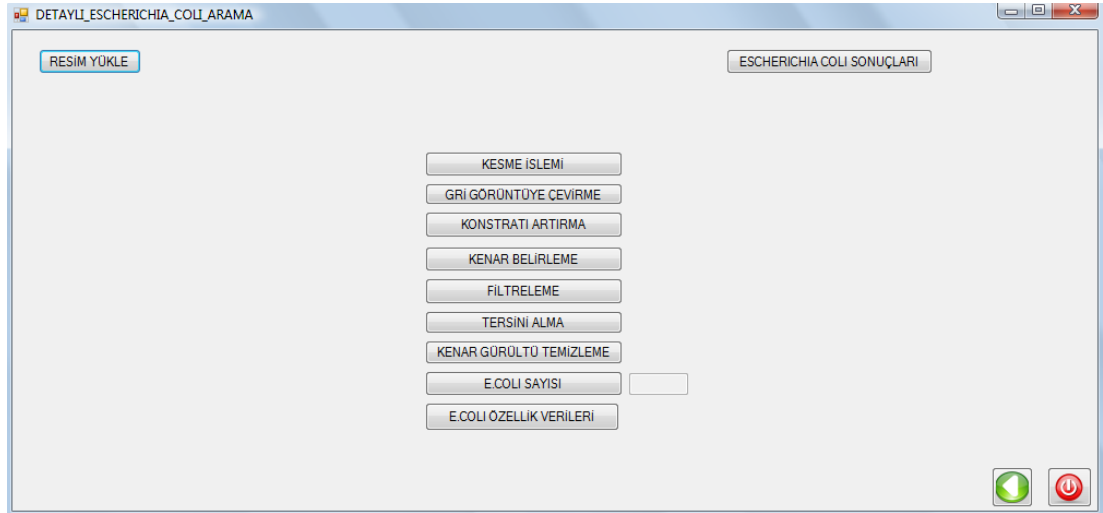
II.1.4. Geliştirilen Yazılım



Şekil III.4 Program Ana Ekranı

Programın genel görünümü **şekil III.4**'de görülmektedir. **Şekil III.4**'de ifade edilen program arayüzü C#'da hazırlanmıştır. Hazırlanan program iki farklı amaca hizmet etmektedir. Bunlar DETAYLI ESCHERICHIA COLI ARAMA ve HIZLI ESCHERICHIA COLI ARAMA olarak iki kısımda gerçekleşmektedir. Programın Detaylı Escherichia Coli Arama kısmında, petrinin hangi işlemlerden geçtiği görülmektedir. Detaylı Escherichia Coli Arama kısmında daha çok görüntü işleme işlemlerinin ayrıntılarına yer verilmiştir. Biyologların görüntü işleme araçlarına ihtiyaç duymayıp direkt sonuçlarla ilgilendikleri için programın Hızlı Escherichia Coli Arama kısmı hazırlanmıştır. Programın Hızlı Escherichia Coli Arama kısmında, petrideki *Escherichia Coli* sayısını vermektedir ve petri üzerinde *Escherichia coli*'leri işaretlemektedir.

Şekil III.5'de görüldüğü gibi görüntünün geçtiği tüm işlem basamakları ayrıntılı bir şekilde çalışmaktadır. RESİM YÜKLE butonuyla resim yüklendikten sonra kullanıcı ister aşama aşama gidebilir veya direk olarak resme seçtiği işlemi uygulayabilir. Seçilen işlemin sonuçları ESCHERICHIA COLI SONUÇLARI bölümünde görülmektedir.



Şekil III.5 Detaylı Escherichia Coli Arama Ekranı

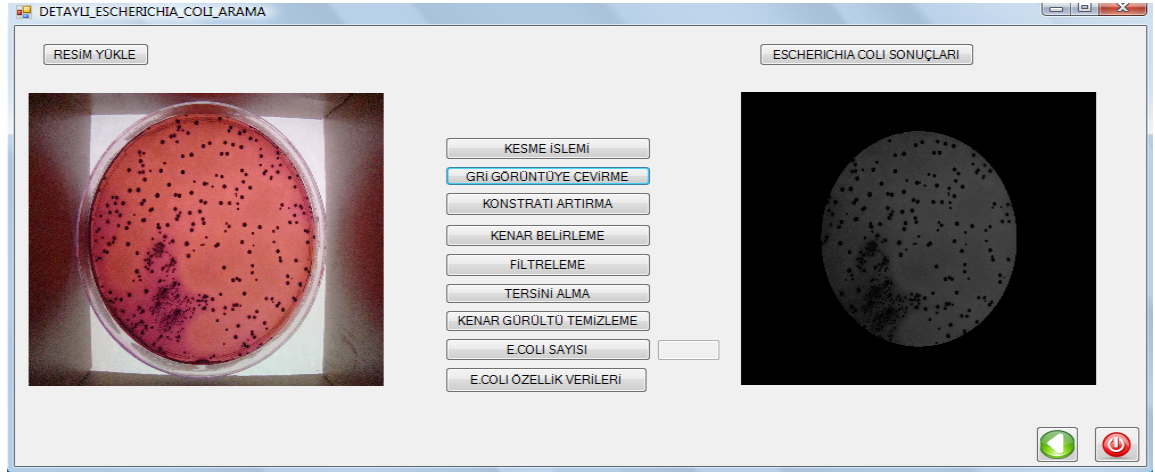
Resme kesme işlemi uygulandıktan sonra elde edilen petri görüntüsü **şekil III.6'**da görülmektedir.

Görüntüden petrinin işlenecek kısmı çıkartılmaktadır. Petri çıkarılmayıp tüm resim işlenmeye sokulduğunda petri dışındaki yerlerde program tarafından işlenmesinden dolayı hatalı sonuçlar ortaya çıkmıştır. Bu durum hatalara sebebiyet vermesinden dolayı petriden işlenecek kısım çıkarılmıştır.



Şekil III.6 Kesme İşlemi

Bir sonraki aşamada elde edilen görüntünün üzerinde işlemlerin uygulanabilmesi için gri görüntüye çevrilir ve program çalıştırıldığında **şekil III.7'**deki sonuç elde edilir.



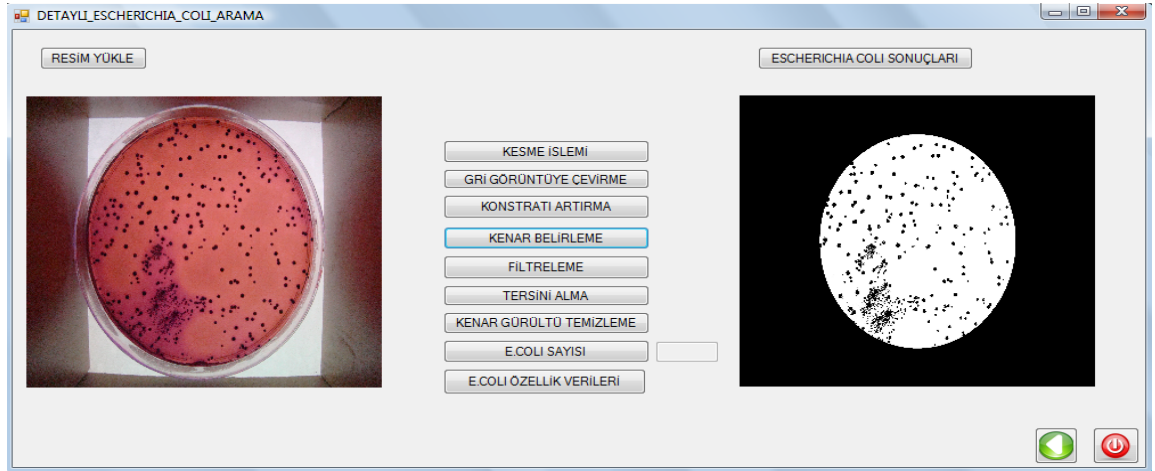
Şekil III.7 Gri Görüntüye Çevirme

Resme parlaklık veya bulanıklık katarak arka plan ile resim üzerinde yer alan nesnelere arasında belirgin bir fark yaratılmasına yardımcı olmuştur. Bu işlem sayesinde nesnelere arka plandan ayrılmış ve nesne kaybı da önlenmiş olur. Bu işlem sonucu elde edilen petri görüntüsü **şekil III.8**'de görülmektedir.



Şekil III.8 Konstratı Artırma

Kenar belirleme işleminde petri içerisindeki koloniler işaretlenir. Bu işlem sonucunda elde edilen görüntü **şekil III.9**'da görülmektedir.



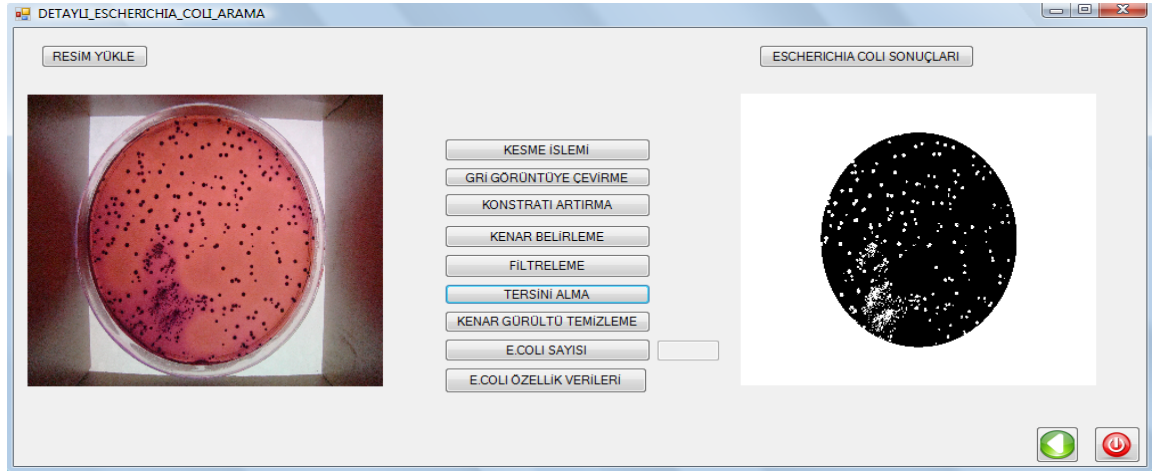
Şekil III.9 Kenar Belirleme

Filtreleme işleminde görüntüde istenmeyen gürültülerin temizlenmesi amaçlanmıştır. Filtreleme işleminde median filtre kullanılmıştır. Filtreleme işlemi uygulandıktan sonra program sonucu **şekil III.10**'daki gibi elde edilmiştir.



Şekil III.10 Filtreleme

Kolonilerin özelliklerinin tanımlanabilmesi için görüntünün tersinin alınması gereklidir. Tersini alma işleminin sonucu **şekil III.11**'de görülmektedir.



Şekil III.11 Tersini Alma

Petrinin kenarlarına temas eden koloni ve petrinin kenarlarındaki gürültülerin görüntüden temizlenmesi gereklidir. Bu işlemden geçirilmiş petrinin görüntüsü Şekil III.12’de görülmektedir.



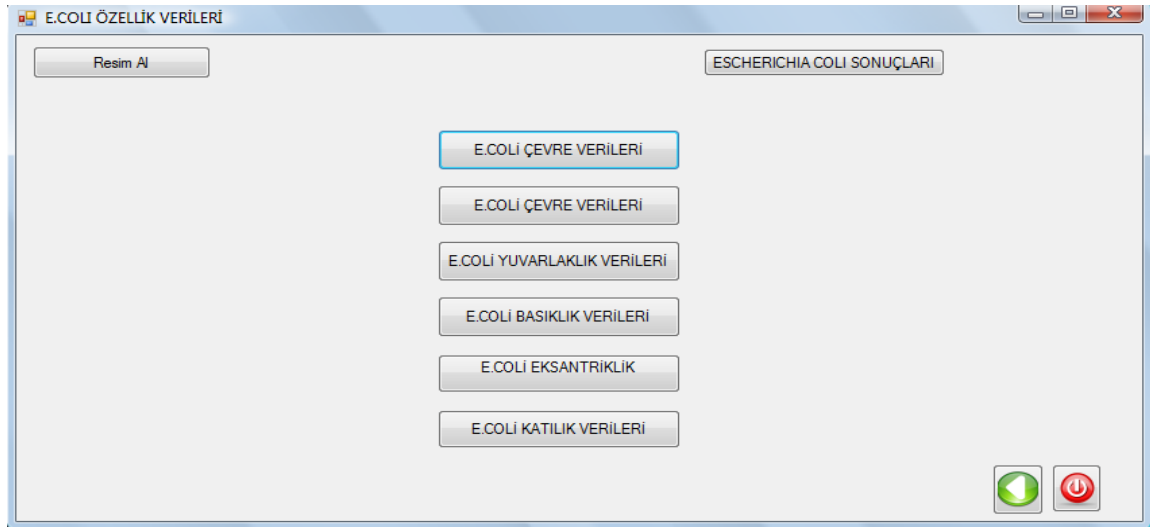
Şekil III.12 Kenar Gürültü Temizleme

Petri çeşitli işlemlerden geçtikten sonra içerisindeki *Escherichia Coli* sayısının bulunmasını sağlar. E.COLI SAYISI sonuçları şekil III.13’de görülmektedir.



Şekil III.13 Escherichia Coli Sayısı

Programın son kısmında *Escherichia coli*'nin özelliklerinin sonuçlarını ortaya koymak için programda E.COLI ÖZELLİK VERİLERİ butonuyla **şekil III.14**'deki arayüz kullanıcının karşısına gelmektedir. Bu arayüzde kullanıcı istediği koloni verilerine erişebilir.



Şekil III.14 Escherichia Coli Özellik Verileri Ekranı

E. COLI ÇEVRE VERİLERİ butonuna tıklandığında **şekil III.15**'deki sonuçlar elde edilmektedir. Petrilerin yoğun olması durumunda kolonilerin verilerini görmek güçleştiğinden veriler bir excel belgesine aktarılır, kullanıcı istediğinde bu verilere erişebilir. **Şekil III.15**'de kolonilerin çevre bilgileri görülmektedir. Çevre verileri net görülemediğinden sonuçlar **tablo III.1**'de görülmektedir.



Şekil III.15 Escherichia Coli Çevre Verileri

Tablo III.1. Escherichia Coli Çevre Sonuçları

78	59	113	107	63	94	99	70	60
66	72	69	116	108	113	99	72	99
97	112	72	113	103	114	104	110	108
107	99	80	66	73	95	110	108	104
80	77	75	78	73	110	97	101	101
85	112	106	88	115	75	100	93	90
75	76	103	114	71	67	73	80	93
88	116	103	96	72	61	54	106	105
60	83	111	112	100	109	89	109	
71	115	77	99	106	109	98	87	

E. COLI ALAN VERİLERİ butonuna tıklandığında elde edilen sonuçlar **şekil III.16**'da görülmektedir. Alan verileri **tablo III.2**'de görülmektedir.



Şekil III.16 Escherichia Coli Alan Verileri

Tablo III.2. Escherichia Coli Alan Sonuçları

446	265	959	866	310	653	739	368	270
331	366	363	952	848	945	724	398	735
660	912	402	938	803	947	779	888	896
843	738	481	332	414	684	914	878	787
484	445	422	464	400	893	698	764	758
541	926	849	582	958	438	731	644	610
433	371	804	968	377	342	416	483	655
589	990	797	687	403	293	231	839	835
287	495	913	949	749	877	601	895	
379	971	453	736	841	889	724	565	

E. COLI YUVARLAKLIK VERİLERİ butonuna tıklandığında **şekil III.17**'deki sonuçlar elde edilmektedir. Kolonilerin yuvarlaklık değerleri **tablo III.3**'de görülmektedir.



Şekil III.17 Escherichia Coli Yuvarlaklık Verileri

Tablo III.3 Escherichia Coli Yuvarlaklık Sonuçları

0.75	0.89	0.96	0.85	0.82	0.82	0.83	0.8	0.82
0.81	0.8	0.84	0.71	0.77	0.82	0.85	0.84	0.91
0.7	0.78	0.88	0.85	0.8	0.8	0.78	0.83	0.84
0.76	0.86	0.89	0.81	0.84	0.9	0.88	0.89	0.77
0.81	0.78	0.9	0.88	0.77	0.77	0.73	0.8	0.89
0.91	0.83	0.93	0.75	0.87	0.72	0.87	0.84	0.8
0.74	0.9	0.76	0.82	0.85	0.77	0.72	0.8	0.81
0.75	0.72	0.81	0.81	0.76	0.85	0.81	0.84	0.87
0.81	0.85	0.82	0.83	0.85	0.87	1	0.77	
0.8	0.77	0.84	0.88	0.8	0.75	0.78	0.86	

E. COLI EĞRİLİK VERİLERİ butonuna tıklandığında **şekil III.18**'deki sonuç elde edilmektedir. Kolonilerin Eğrilik değerleri **tablo III.4**'de görülmektedir.



Şekil III.18 Escherichia Coli Eğrilik Verileri

Tablo III.4 Escherichia Coli Eğrilik Sonuçları

0.9	0.9	0.9	0.9	0.9	0.9	0.96	0.94	0.95
0.93	0.93	0.93	0.93	0.93	0.93	0.87	0.93	0.97
0.89	0.89	0.89	0.89	0.89	0.89	0.98	0.95	0.93
0.99	0.99	0.99	0.99	0.99	0.99	0.91	0.85	0.96
0.96	0.96	0.96	0.96	0.96	0.96	0.9	0.96	0.91
0.96	0.96	0.96	0.96	0.96	0.96	0.98	0.97	0.95
0.94	0.94	0.94	0.94	0.94	0.94	0.93	0.91	0.93
0.95	0.95	0.95	0.95	0.95	0.95	0.96	0.97	0.96
0.95	0.95	0.95	0.95	0.95	0.95	0.93	0.99	
0.88	0.88	0.88	0.88	0.88	0.88	0.9	0.96	

E. COLI EKSANTRİKLİK butonuna tıklandığında **şekil III.19**'daki sonuçlar elde edilmektedir. **Tablo III.5**'de kolonilerin eksantriklik değerleri görülmektedir.

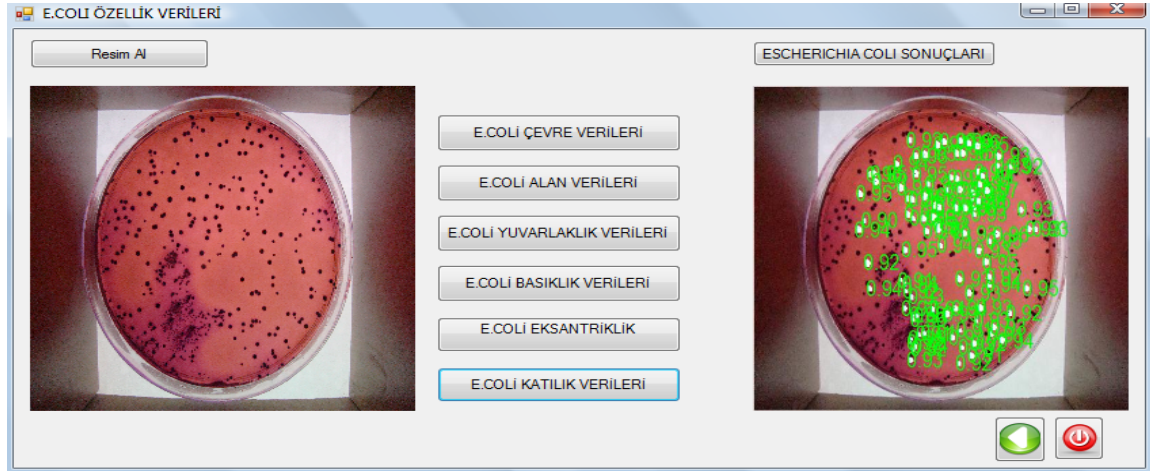


Şekil III.19 Escherichia Coli Eksantriklik Verileri

Tablo III.5 Escherichia Coli Eksantriklik Sonuçları

0.21	0.18	0.59	0.37	0.33	0.45	0.27	0.35	0.32
0.22	0.25	0.48	0.3	0.45	0.37	0.49	0.36	0.24
0.41	0.24	0.32	0.36	0.18	0.46	0.18	0.32	0.36
0.45	0.54	0.55	0.24	0.42	0.17	0.4	0.53	0.27
0.31	0.32	0.51	0.22	0.49	0.29	0.44	0.3	0.42
0.41	0.31	0.54	0.32	0.45	0.29	0.2	0.25	0.3
0.43	0.37	0.51	0.22	0.16	0.34	0.36	0.42	0.38
0.22	0.39	0.27	0.37	0.31	0.3	0.27	0.26	0.29
0.33	0.5	0.17	0.33	0.22	0.33	0.36	0.14	
0.28	0.5	0.36	0.48	0.3	0.48	0.44	0.27	

E. COLI KATILIK VERİLERİ butonuna tıkladığında şekil III.20'deki sonuçlar elde edilmektedir. Kolonilerin katılık değerleri tablo III.6'de görülmektedir.

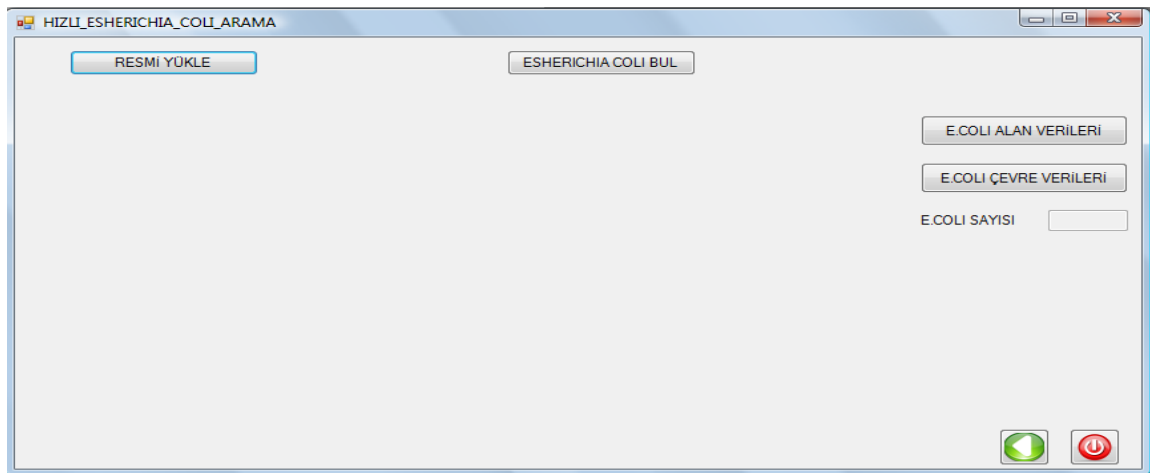


Şekil III.20 Escherichia Coli Katılık Verileri

Tablo III.6 Escherichia Coli Katılık Sonuçları

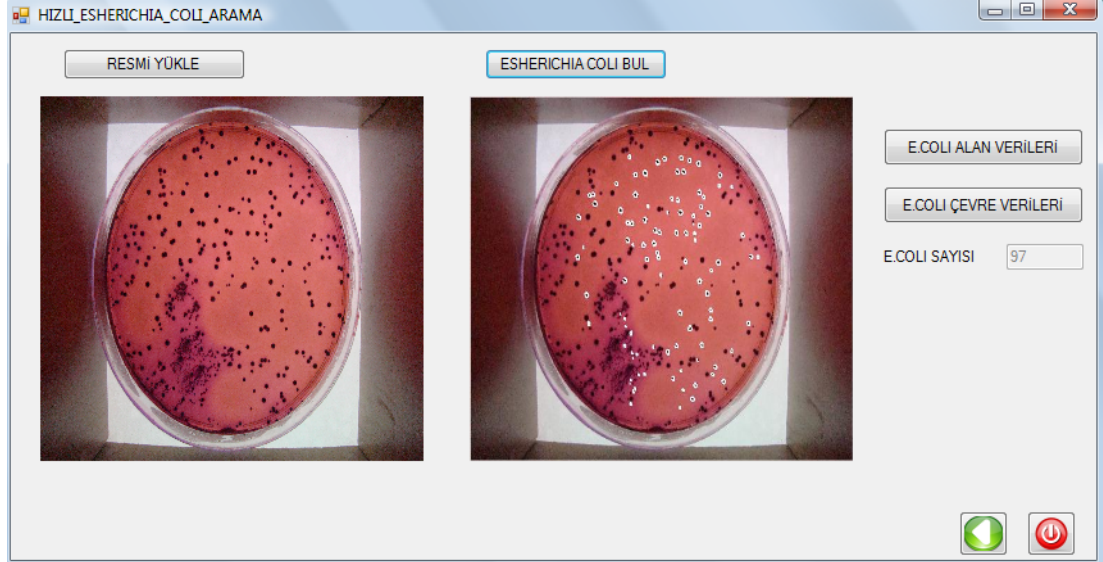
0.94	0.91	0.95	0.91	0.94	0.93	0.95	0.93	0.95
0.95	0.95	0.93	0.91	0.92	0.94	0.93	0.93	0.97
0.9	0.92	0.96	0.96	0.95	0.95	0.93	0.95	0.94
0.92	0.94	0.96	0.95	0.95	0.96	0.95	0.93	0.92
0.94	0.92	0.95	0.96	0.94	0.95	0.93	0.93	0.95
0.96	0.96	0.96	0.91	0.94	0.93	0.96	0.96	0.91
0.95	0.96	0.92	0.94	0.95	0.94	0.91	0.95	0.93
0.92	0.92	0.95	0.94	0.93	0.92	0.95	0.94	0.96
0.94	0.92	0.96	0.95	0.92	0.96	0.95	0.93	
0.94	0.93	0.94	0.94	0.93	0.91	0.92	0.94	

Programın HIZLI ESHRICHIA COLI ARAMA bölümü biyologların kısa sürede işlemleri yaparak sonuçlara oluşmasını sağlamaktadır. Bu sayede biyologlar zaman kaybetmeden işlemlerini gerçekleştirip sonuçları görebilmektedir. HIZLI ESHRICHIA COLI ARAMA butonuna basılarak şekil III.21'deki sonuçlar elde edilir.



Şekil III.21 Escherichia Coli Hızlı Arama Ekranı

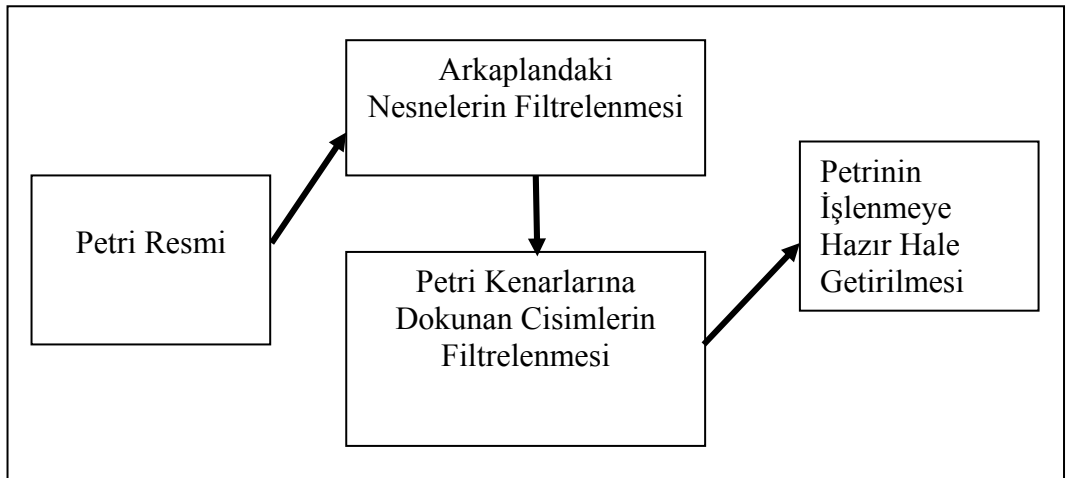
Bu arayüzde ESHERICHIA COLI BUL butonuyla petri içerinde *esherichia coli* kolonileri bulunur ve sayısı ekrana yazdırılır. Program çalıştırıldığında **Şekil III.22**'deki sonuçlar elde edilir.



Şekil III.22 Hızlı Escherichia Coli Arama Sonuçları

III.1.5. Görüntünün İşlenmeye Hazır Getirilmesi

Bu aşamada matlab görüntü işleme araç kutusu fonksiyonları kullanılarak işlemeye alınan petri resminde yer alan istenmeyen görüntüler yok edilmeye çalışılmıştır. İstenmeyen görüntülerin yok edilmesinin ardından resim içinde yer alan koloniler arka plandan ayrılıp özellik tanılama için hazır hale getirilmiştir. **Şekil III.23**'de giriş filtresinin akış şeması görülmektedir.

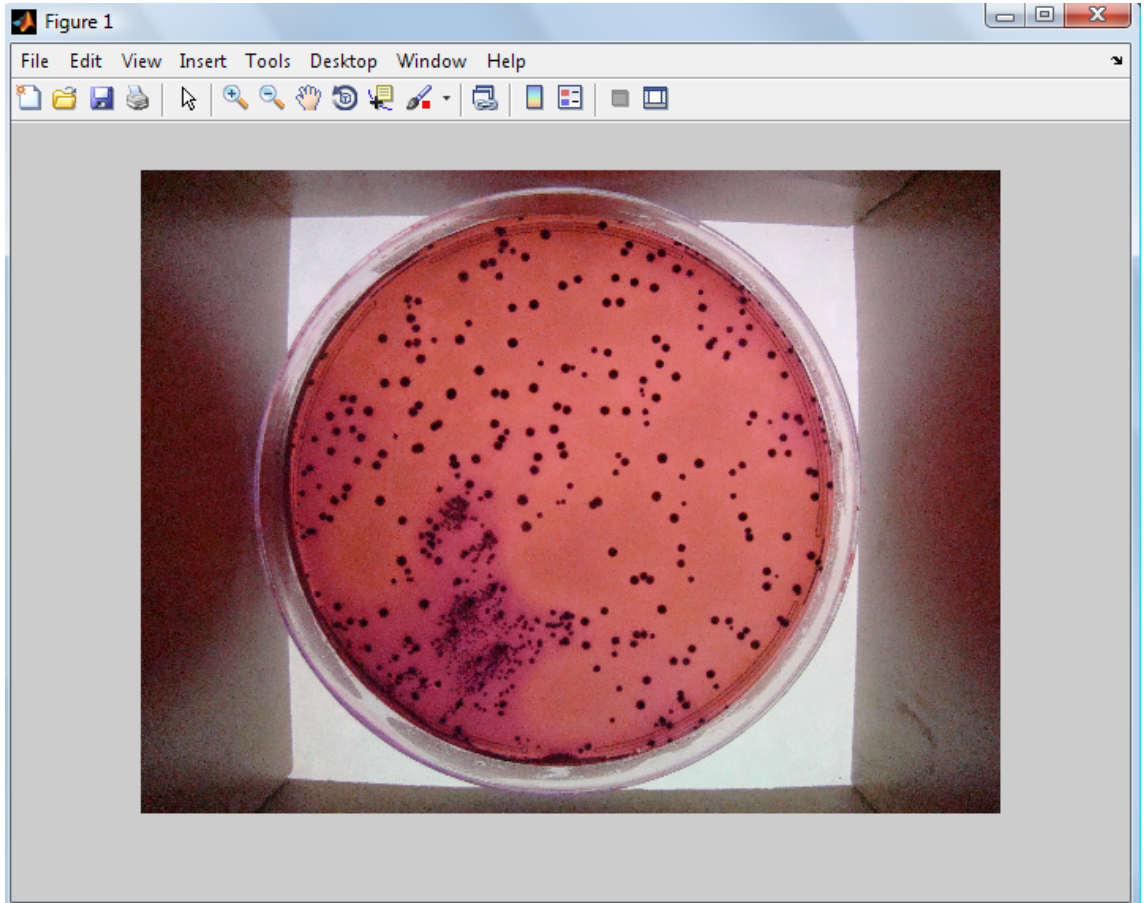


Şekil III.23 Görüntünün İşlenmeye Hazır Getirilmesi İçin İşlem Basamakları

Görüntünün işlenmeye hazır getirilmesi için aşağıdaki işlem basamakları sırasıyla uygulanır.

- **İşlenecek Resmin Programa Alınması**

Çekilen fotoğraf renkli olarak jpeg formatında programa alınır. Alınan görüntü örneği **şekil III.24**'de görülmektedir.



Şekil III.24 Fotoğraf Makinesiyle Çekilen Renkli Jpg Biçimli Resim

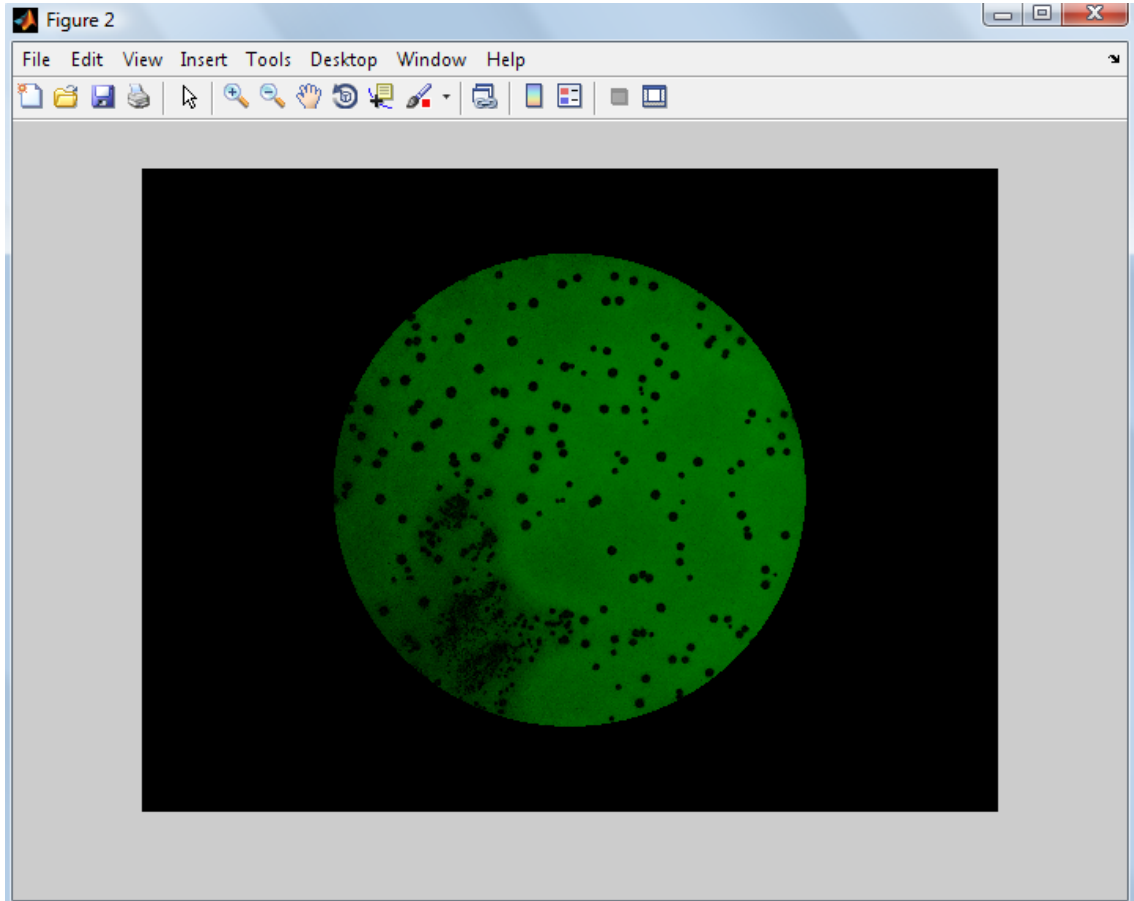
- **Görüntüden Petrinin Çıkartılması**

Renkli formda alınan görüntünün çok büyük olmasından dolayı programın çalışma süresini uzatmaktadır. Aynı zamanda kenarlarda istenmeyen gürültülerin oluşmasına sebebiyet vermektedir. Bundan dolayı petri kabı program tarafından işlenecek kısımlar resimden çıkartılarak ve **şekil III.26**'daki sonuç elde edilmektedir. Bu işlemin algoritması, elde edilen görüntünün x ve y koordinatlarının orta noktası bulunmaktadır. Bu koordinatlar dairenin merkezi olarak atanır ve yarıçap belirlenir. Merkezi ve yarıçapı belli daire çizilirken yarıçapın içinde kalan kısım orijinal haliyle

bırakılır, yarıçapın dışında kalan kısım ise siyah'a çevrilir. Bu işlem için yapılmasını sağlayan kod **Şekil III.25**'de görülmektedir.

```
[w h]=size(im);  
x=w/2;  
y=h/2;  
r=900;  
for i=1:w  
    for j=1:h  
        uzaklik=abs(sqrt(((x-i)^2)+(y-j)^2));  
        if uzaklik<r  
            im(i,j)=im(i,j);  
        else  
            im(i,j)=0;  
        end  
    end  
end
```

Şekil III.25 Petrinin Resim İçerisinden Çıkartılması



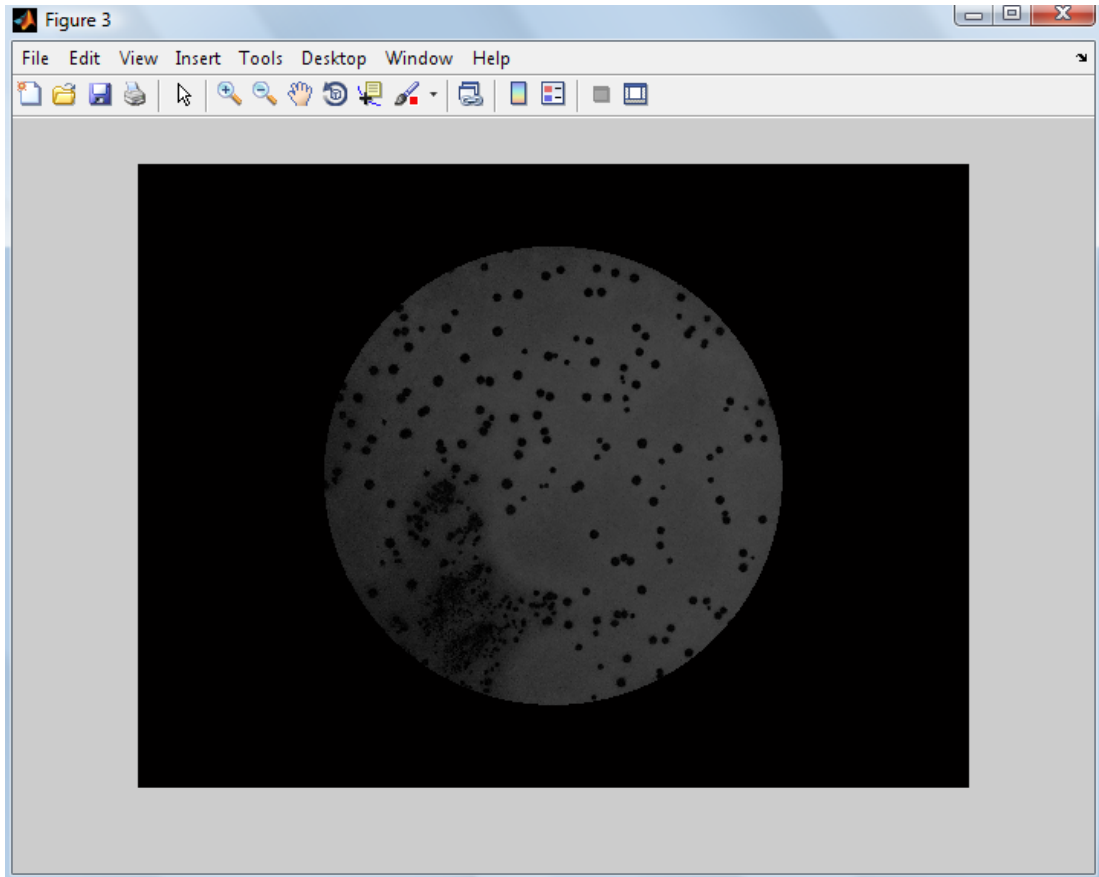
Şekil III.26 Kesilmiş Görüntü Çıktısı

- **Koloni görüntüsünün gri görüntüye çevrilmesi**

Her pikselin R, G, B değerleri vardır. Bu değerlerin yüksek çözünürlükte olmasından dolayı resmin işlenmesi oldukça uzun zaman almaktadır. Görüntü gri seviyeye dönüştürüldüğünde bu süre kısaltılmaktadır. Bu nedenle renkli formda alınan görüntü gri seviyeli forma dönüştürülür. Bu işlemi gerçekleştirmek için matlab görüntü işleme araç kutusunun *rgb2gray* fonksiyonu kullanılır. **Şekil III.27**'de *rgb2gray* fonksiyonunun nasıl kullanıldığı görülmektedir. Bu fonksiyon üç farklı renk olan kırmızı, yeşil, mavi karışımını 0–255 arası gri seviye bir renge yerleştirir. Üç boyutlu renk uzayından tek boyutlu gri renk uzayına geçilmiş olur. Gri seviye şekline dönüştürülen petri görüntüsü **şekil III.28**'de görülmektedir.

```
I1=rgb2gray(im)  
imshow(I1)
```

Şekil III.27 Gri Seviyeye Dönüştürme



Şekil III.28 Gri Seviyeye Dönüştürülen Petri Resmi

▪ Parlaklığı Artırma

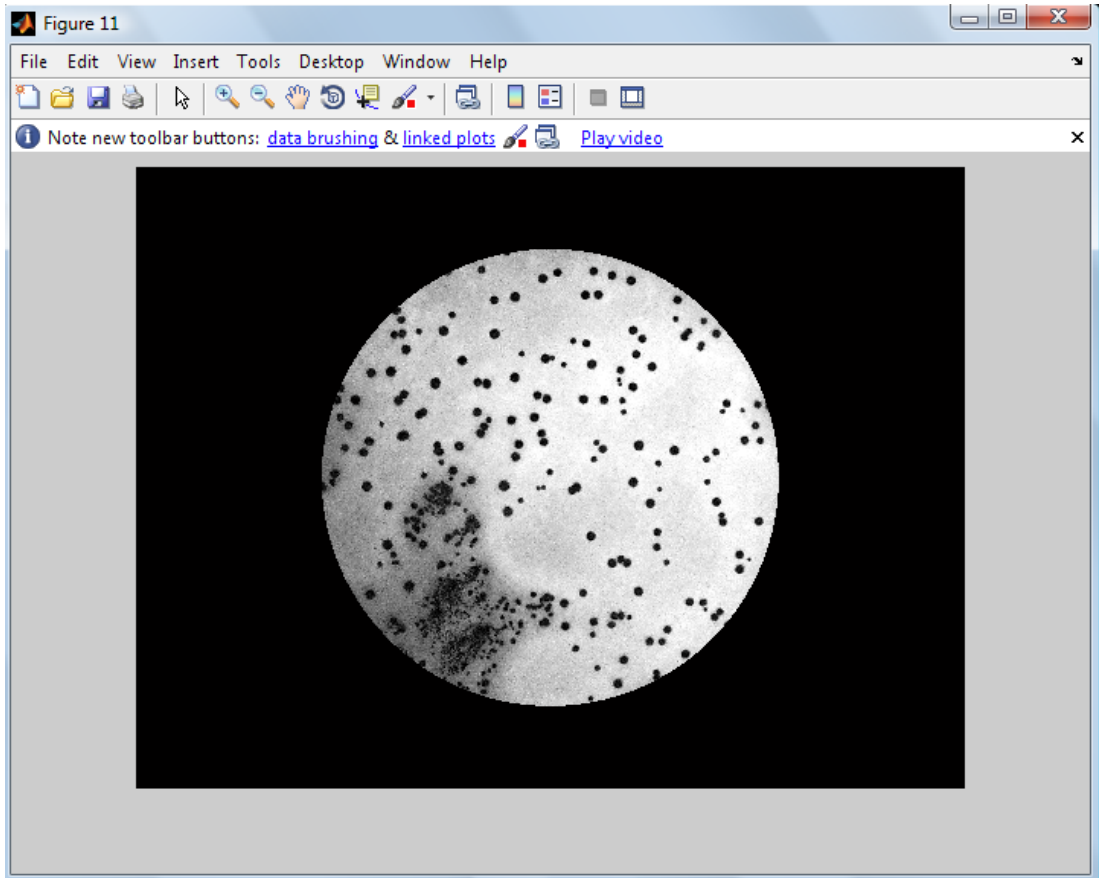
Resme parlaklık veya bulanıklık katarak arka plan ile resim üzerinde yer alan nesnelere arasında belirgin bir fark yaratılmasına yardımcı olmuştur. Bu işlem sayesinde nesnelere arka plandan ayrılmış ve koloni kaybı da önlenmiş olur. Bu işlem sonucu elde edilen petri görüntüsü şekil 30’da görülmektedir [27]. Bu işlem resim yoğunluk değerlerini veya renk haritasını ayarlar. Orijinal resimdeki yoğunluk değerlerini yeni değerlere dönüştürürken orijinal resmin az ve çok yoğunluk değerlerine göre yeniden yapılandırır. Bu da resimde kontrast artışı sağlar [28].

Arkaplan ve gürültüyü yok etmek için **şekil III.29**’deki kod yapısı kullanılır.

```
I3 = imadjust(I1);  
figure(4)  
imshow(I3)
```

Şekil III.29 Kontrast Artıran Kod Yapısı

Şekil III.30’da filtreleme işleminden geçirilmiş petri sonucu görülmektedir.



Şekil III.30. Kontrastı Artırılmış Petri Resmi

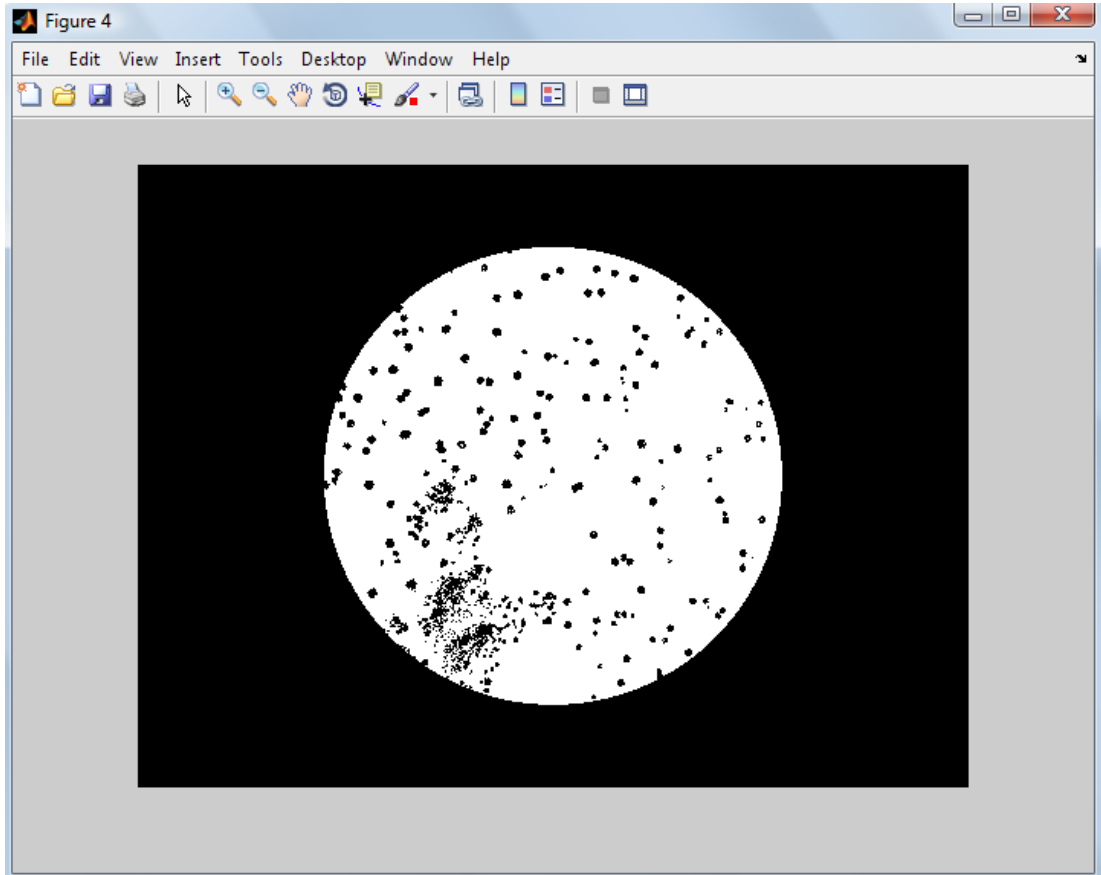
▪ Kenar Belirleme

Görüntü üzerindeki nesnelerin arka plandan ayırmak programın kendi belirlemiş olduğu eşik değerine göre koloniler 0, arkaplan 1'e eşitlenecektir [29].

Bu işlem için matlab görüntü işleme araçlarından *im2bw* fonksiyonu kullanılır. Resmin siyah-beyaz forma dönüştürülürken *threshold* adı verilen eşik değerinin belirlenmesi gerekir. *Threshold* değeri, *graythresh* komutu ile belirlenir. Bu eşik değeri 0 – 1 arası değerler alır. Resimde bu değerin altındakiler siyah, üstündekiler ise beyaz olarak ifade edilir. Siyah olanlar 0 ile beyaz olanlar ise 1 ile ifade edilir Bu değer manüel olarak ta verilebilir. *Threshold*, *im2bw* komutlarının kullanımı **şekil III.31**'de, fonksiyonların çalışması sonucundaki resim görüntüsü **şekil III.32**'de verilmiştir.

```
BW=im2bw(I2,graythresh(I2))  
a= graythresh(I2)  
a=0.1804
```

Şekil III.31 Siyah – Beyaz Forma Dönüştürme



Şekil III.32 Siyah-Beyaza Dönüştürülmüş Petri Resmi

▪ Filtreleme İşlemi

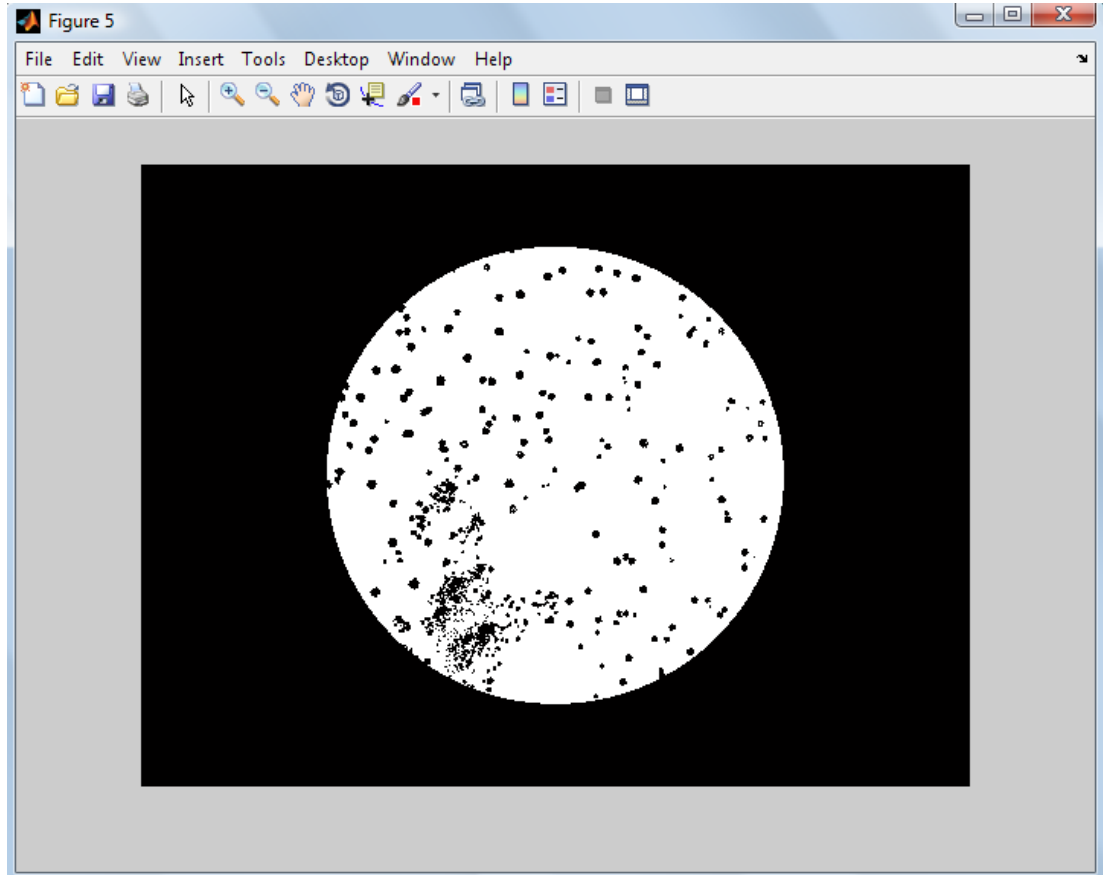
Görüntüde istenmeyen küçük gürültüler, küçük boyuttaki koloni yapısıyla birbirine benzerlik göstermektedir. Bu ince gürültülerin yani kolonilerden daha küçük boyuttaki piksel değerlerinin temizlenmesi için filtre kullanılması uygundur. Bu işlem için *medfilt2* komutu kullanılmıştır.*medfilt2* komutu siyah-beyaz resimler üzerinde çalıştırılabildiği için resim siyah-beyaza çevrildikten sonra bu komut uygulanmıştır.

İstenmeyen gürültüyü yok etmek için **şekil III.33**'deki kod yapısı kullanılır.

```
K=medfilt2(I1);  
imshow(K)
```

Şekil III.33 Filtreleme Kod Yapısı

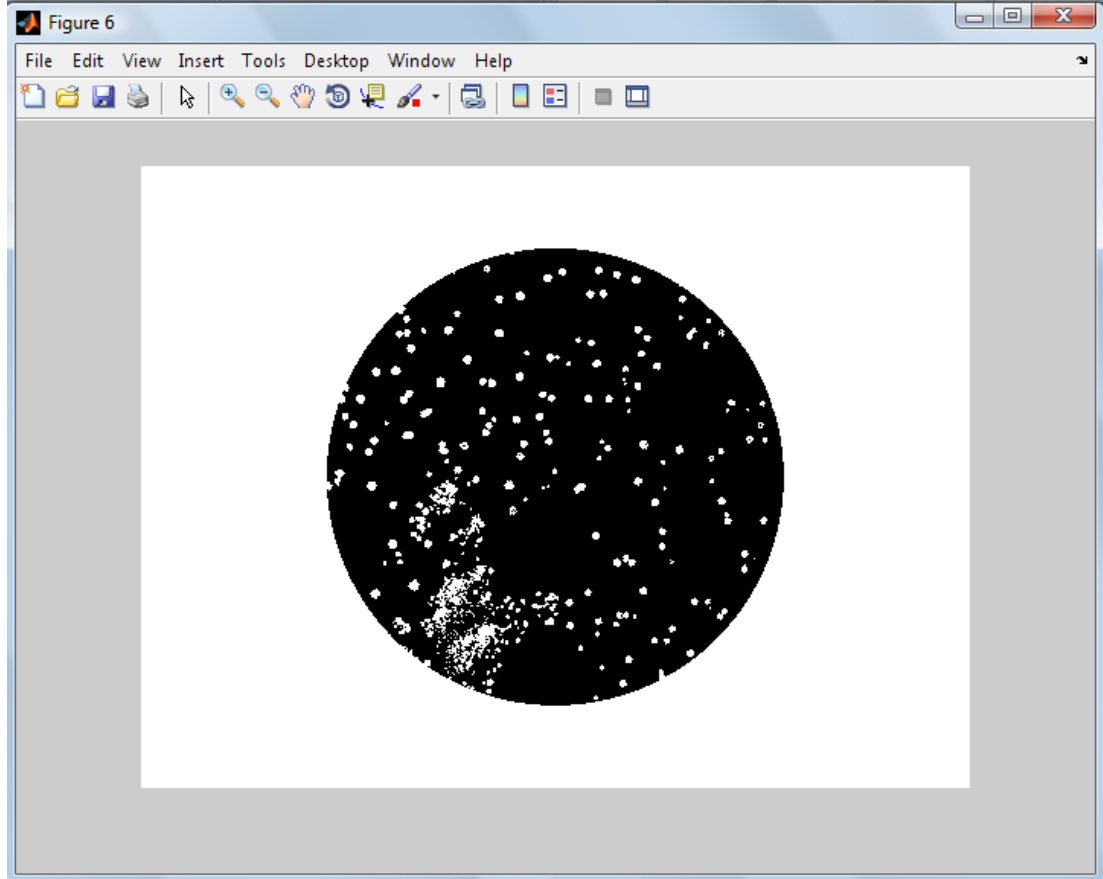
Filtreleme işleminden geçirilmiş petri görüntüsü **şekil III.34.**'de görülmektedir.



Şekil III.34 Filtrelenmiş Petri Resmi

- **Tersini Alma**

Görüntünün işlenebilmesi için tersinin alınması gereklidir. Bu durum da nesnelerin 1, arka planın 0 değerini almasıyla gerçekleşmektedir. Bu işlemin sonucu **şekil III.35’de** gösterilmektedir.



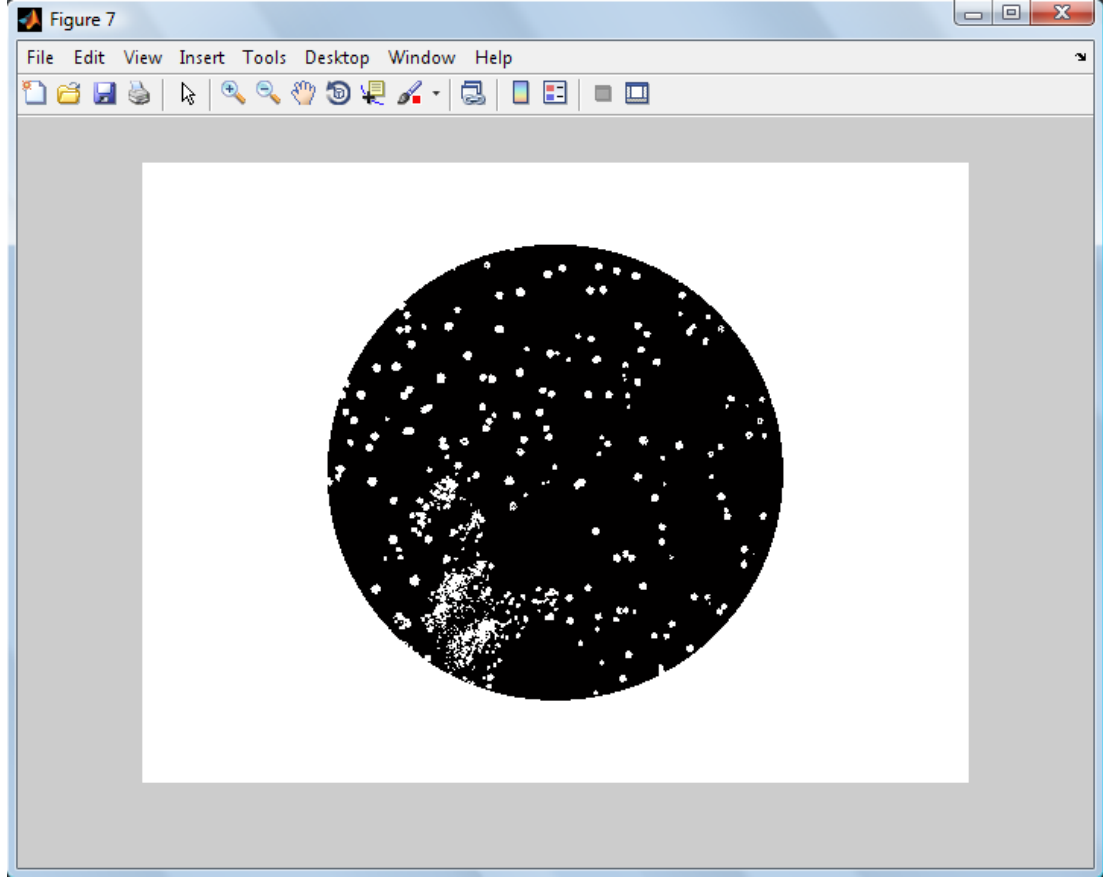
Şekil III.35 Tersini Alınmış Resim

- **Küçük Alanların Temizlenmesi**

Küçük piksel değerine sahip gürültüler `medfilt2` komutuyla temizlenmesine rağmen hala istenmeyen küçük alanlar kalabilir. Bu boyuttaki alanları temizlemek için görüntü işleme araç kutusunda yer alan `bwareaopen` fonksiyonu kullanılır. Komutla birlikte verilen değer ve altında kalan değerlere sahip nesneler resimden temizlenmiş olacaktır. Bu program için değer 10 seçilmiştir. Bunun nedeni aradığımız *Escherichia Coli* bakterisinin kolonilerinin resimden temizlenmesinin engellenmesidir. Bu fonksiyonun kullanımı **şekil III.36’da** ifade edilmiştir. Fonksiyonun çalışması sonucundaki resim görüntüsü **şekil III.37’de** verilmiştir.

```
BW=bwareaopen(BW,10);
```

Şekil III.36 Petri İçindeki Küçük Alanları Yok Eden Kod Yapısı



Şekil III.37 Temizlenmiş Petri Resmi

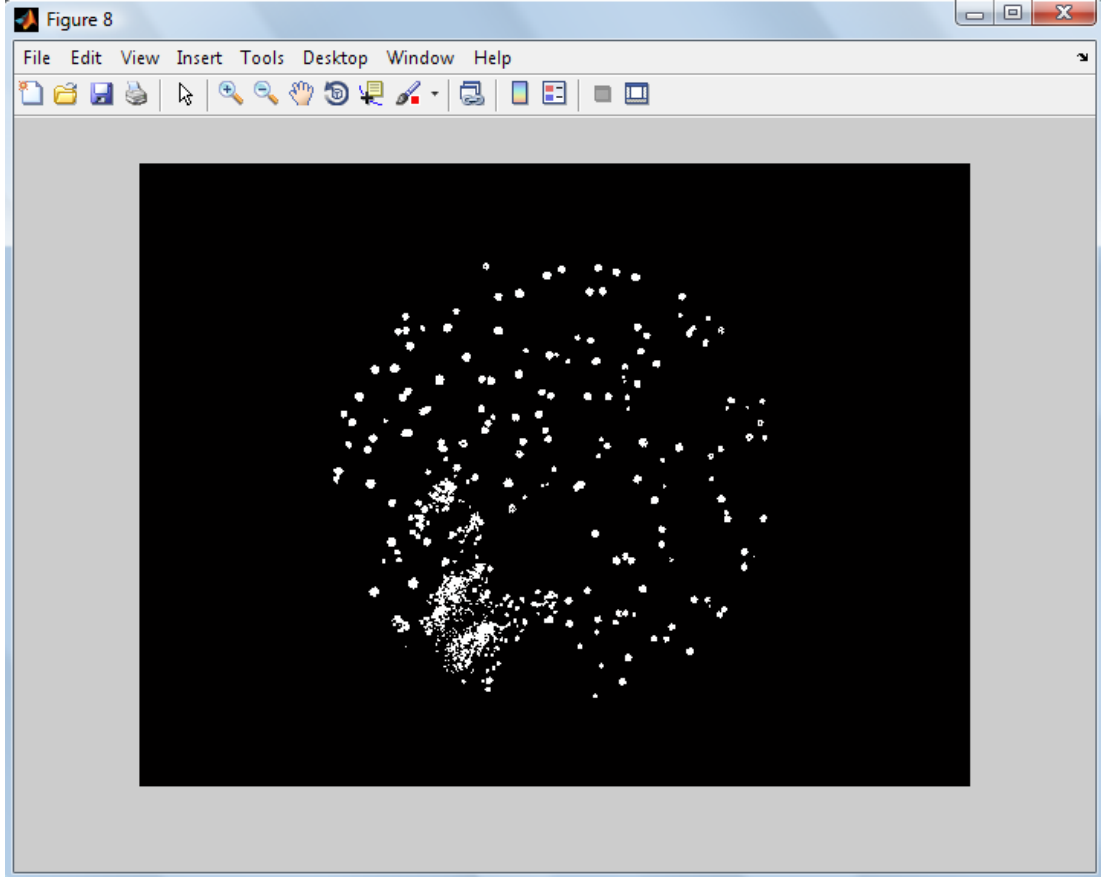
- **Petri Kenarlarının Temizlenmesi**

Bu işlemden sonra petrinin kenarlarına temas eden istenmeyen gürültülerin resimden silinmesi için matlab görüntü işleme araç kutusu fonksiyonu olan *imclearborder* fonksiyonu kullanılır. Bu fonksiyon kendisine atanan değere göre işlem yapar. Bu progmda 8 değeri atanmış olup, bu değer ve altındaki değerlerde alana sahip nesnelerin temizlenmesini sağlar. **Şekil III.38**'de bu fonksiyonun kullanımı görülmektedir.

```
BW=imclearborder(BW,8);
```

Şekil III.38. Resmin Kenarlarına Değeri Nesneleri Yok Eden Kod Yapısı

Resmin kenarlarına değen nesnelerin silinmesi ve küçük alanların yok edilmesinin ardından resim görüntümüz **şekil III.39**'daki görünümünü alır. Bu durumda resimdeki koloniler etiketlenebilir.



Şekil III.39 Kenarları Temizlenmiş Petri Resmi

- **Kolonilerin Etiketlenmesi**

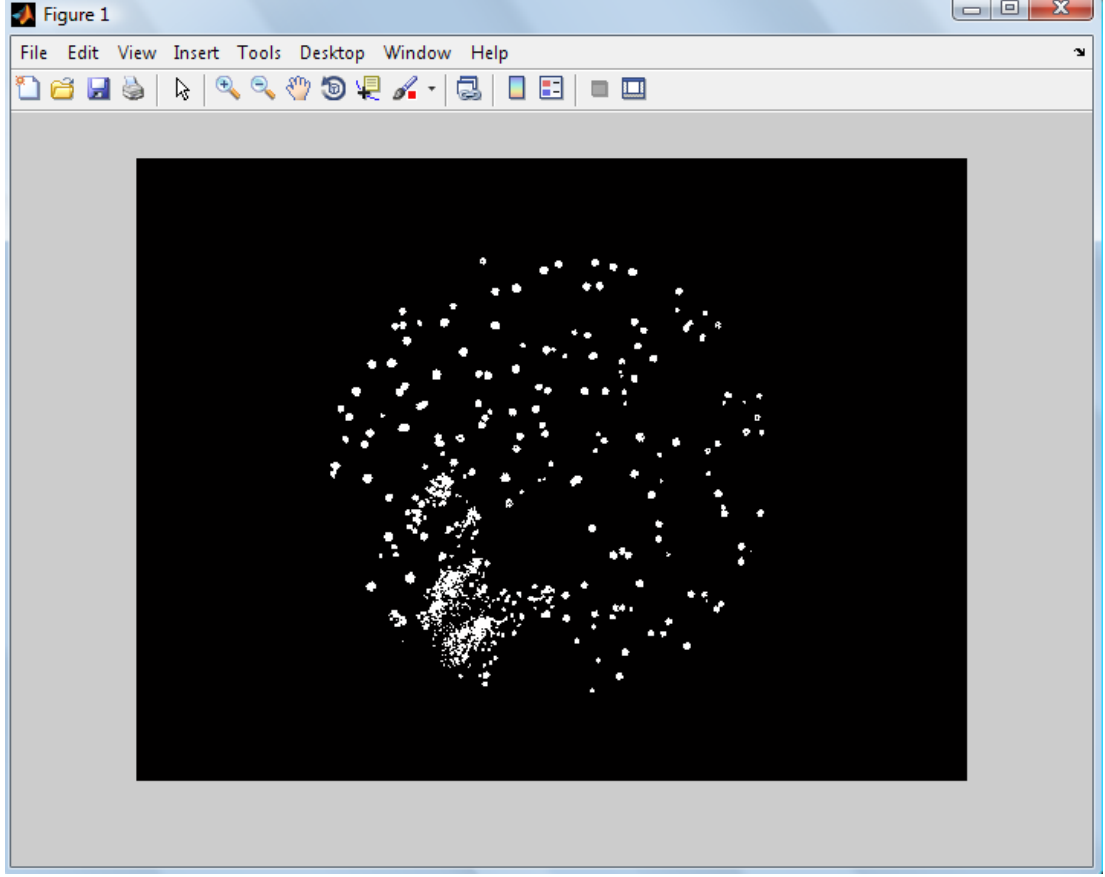
Siyah-Beyaz formdaki görüntü üzerinde bulunan koloniler etiketlenir. Her bir alanın etiketlenmesi için matlab *bwlabel* fonksiyonu kullanılır.

Bwlabel fonksiyonu birbirine dokunan beyaz özelliğine sahip pikselleri etiketler. Birbirlerine 8 yönlü değen kolonileri etiketlemektedir. **Şekil III.40**'da *labeled* değişkeni, bw matrisi ile aynı boyutlu olan fakat kolonilerin etiklendiği matrisi ifade ederken; *numObjects* değişkeni ise etiketlenen koloni sayısını ifade eder.

```
[labeled,numObjects]= bwlabel(bw,8);
```

Şekil III.40 Resimdeki Kolonilerin Etiketlenmesi

Şekil III.41'de kolonilerin etiketlenmiş olduğu görüntü görülmektedir.



Şekil III.41.Kolonilerin Etiketlenmiş Görüntüsü

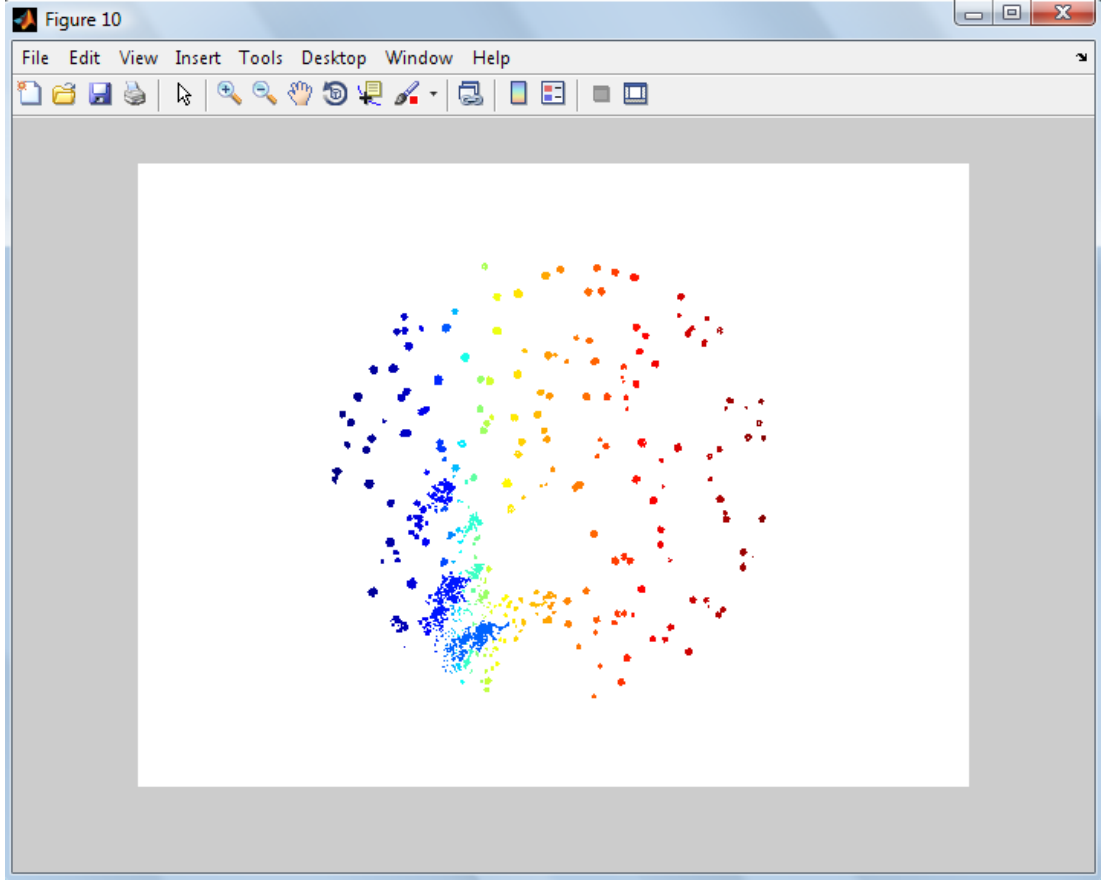
- **Kolonilerin Etiketlenmesi Kontrolünün Yapılması**

Etiketlenen kolonilerin hepsinin bulunup bulunmadığını kontrolü için matlab görüntü işleme araç kutusu fonksiyonu olan *label2rgb* fonksiyonu kullanılır. *Label2rgb* komutu renk paletinden rastgele bir renk seçerek etiketlenmiş kolonileri boyar.Bu komutun kullanımı **şekil 42**'de gösterilmektedir. Labeled etiketlenmiş resmi ifade eder.

```
RGB_label=label2rgb(labeled)
```

Şekil III.42 Resimdeki Kolonilerin RGB'ye Dönüştüren Kod Yapısı

Şekil III.43'de kolonilerin siyah-beyaz'tan RGB'ye dönüştürüldüğü görüntü görülmektedir.



Şekil III.43 RGB'ye Dönüştürülmüş Görüntü

- **Etiketlenen Kolonilerin Sınırlarının Çizilmesi**

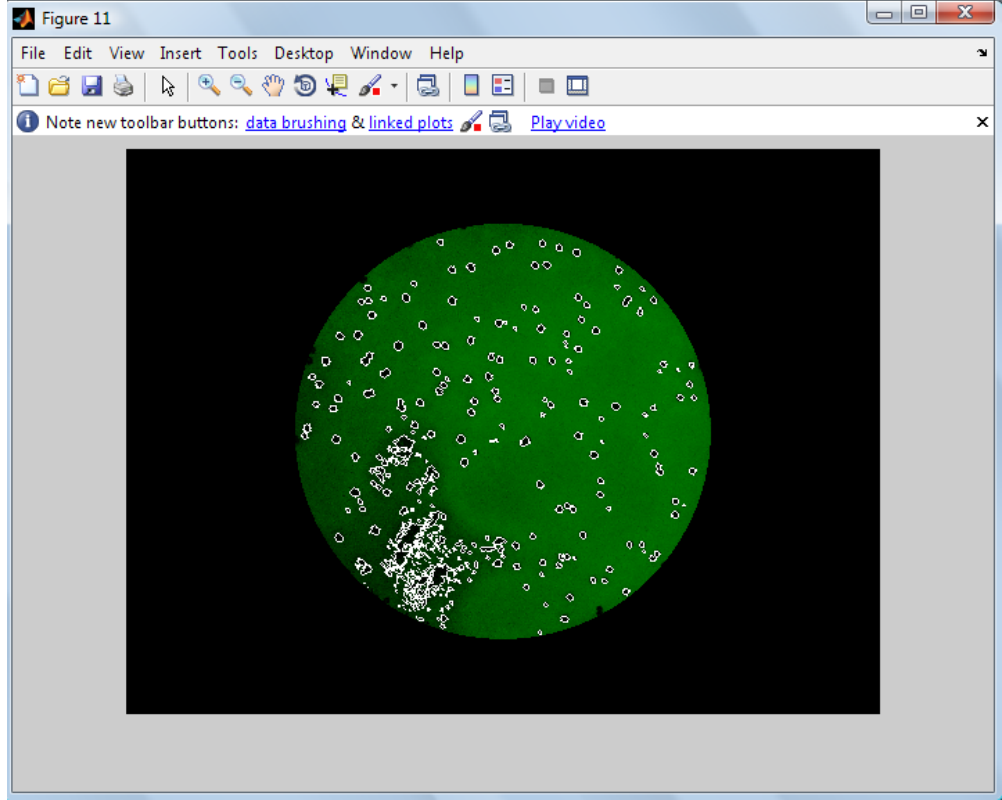
Etiketlenen kolonilerin sınır değerlerinin çizilmesini sağlayan Matlab görüntü işleme araç kutusundan *bwboundaries* fonksiyonu kullanılır. Bu komut nesnelerin içi boş veya dolu olarak sınırlarının belirlenmesinde yardımcı olur. *Bwboundaries* komutunun kullanımı şekil III.44'de gösterilmektedir.

```
[B,L]=bwboundaries(bw3,'noholes')
```

Şekil III.44 Resimdeki Kolonilerin Sınırlarını Çizen Kod Yapısı

'*noholes*' değeri kolonilerin içlerinde boşluk bırakılmadan sınırlarının belirlenmesini sağlar. B ve L değerleri sınırları çizilmiş kolonilerin matris değerlerini geri döndürür.

Şekil III.45'de kolonilerin sınırları çizilmiş görüntü elde edilmiştir.



Şekil III.45 Koloni Sınırları Çizilmiş Petri Resmi

III.1.6 Kolonilerin Ayrımında Kullanılacak Özellikleri Tanımlama

Bu kısımda, etiketlenmiş, sınır değerleri çizilmiş her bir koloninin morfolojik özelliklerinin belirlenip bunlardan hangilerinin *Escherichia coli*'nin özelliklerine uyup uymadığının tanılanabilmesi için yapılacak işlemleri kapsamaktadır. Bu aşamada görüntü işlemeye ihtiyaç duyulmaktadır. Bu nedenle matlab programında bir uygulama geliştirilmiştir. Geliştirilen bu uygulama giriş filtreleme işlemlerinden geçmiş görüntünün içerisinde yer alan kolonilerin özelliklerini belirlenmesidir. Kolonilerin özelliklerinin belirlenmesinde çeşitli parametreler belirlenmiştir.

Mikrobiyoloji alanında bakteriler üzerinde yapılan çalışmalarda her bakterinin birbirinden farklı özellikleri olabildiği gibi ortak özellikleri olduğu da ortaya koyulmuştur. Enterobacteriaceae familyasına ait bakterilerinin koloni yapısı incelenerek *Escherichia coli*'nin her morfolojik özelliği için belirli kriter aralığı belirlenmiştir. Koloniler tarandığında morfolojik özellik değerleri bu kriter aralığında kalıyorsa program o koloninin *Escherichia Coli* bakterisine ait olduğu sonucunu gösterecektir.

Görüntü içindeki kolonileri tanılamak için yoğunluk tabanlı özellikler ve şekil bazlı özelliklerden faydalanılmıştır. Bu bileşenlerden tümü bütün koloniler için

hesaplanmıştır. Bu özellikler ve bu özelliklerin kullanılış amaçları **tablo III.7**'de ifade edilmiştir.

Matlab programı görüntü işleme araçlarından olan *regionprops* fonksiyonu koloni özelliklerinin belirlenmesi için kullanılır. Belirlenen özellikler; Alan, Dolu Alan, Büyük Eksen, Küçük Eksen, Çevre, Yuvarlaklık, Eğrilik, Katılık değerleri hesaplanmaktadır. Büyük Eksen, küçük eksen değerlerinden faydalanılarak eğrilik, alan ve çevre değerlerinden faydalanılarak yuvarlaklık sonuçları hesaplanmaktadır. *Regionprops* fonksiyonu, etiketlenen kolonilerin hesaplamak istediğimiz parametrelerini hızlı ve doğru bulduğu için tercih edilmiştir. Bu özellikler ve bu özelliklerin kullanılış amaçlarının açıklamaları **tablo III.7**'te ifade edilmiştir.

Tablo III.7 Hücre Özellik Seti

Özellik	Açıklama	Kategori
Alan	Kolonilerin alan boyutlarını belirlemek için kullanılan özellik verisidir.	Şekil_tabanlı (Shape_based)
Dolu Alan	Kolonilerin toplam alan boyutlarını belirlemek için kullanılan özellik verisidir.	Şekil_tabanlı (Shape_based)
Büyük Eksen	Koloninin büyük eksen değerini verir.	Şekil_tabanlı (Shape_based)
KüçükEksen	Koloninin küçük eksen değerini verir.	Şekil_tabanlı (Shape_based)
Çevre	Kolonilerin çevre değerini verir.	Şekil_tabanlı (Shape_based)
Yuvarlaklık	Kolonilerin yuvarlaklığını ifade eden bilgidir.	Şekil_tabanlı (Shape_based)
Eğrilik	Kolonilerin eğrilik seviyesini ifade eder	Şekil_tabanlı (Shape_based)
Katılık	Kolonilerin katılık düzeyini belirlemek için kullanılan özellik bilgisidir	Şekil_tabanlı (Shape_based)
Eksantriklik	Kolonilerin yuvarlak olması ya da elips olmasını belirlemek için kullanılan özellik bilgisidir.	Şekil_tabanlı (Shape_based)

III.1.6.1 Alan özelliği

Resim içerisinde yer alan kolonilerin kapladığı alanı *regionprops* fonksiyonu yardımıyla ‘Area’ parametresi ile piksel bazında ifade etmektedir. **Şekil III.46**’daki kod yapısı ile petri üzerindeki kolonilerin alan bilgisi elde edilmektedir.

```
[labeled,numObjects] = bwlabel(bw,8); % 8-connected
numObjects % Görüntü içerisinde cisimleri sayısıdır.
stats = regionprops(labeled,'Area')
allarea=[stats.Area]
```

Şekil III.46 Alan Değerlerinin Hesaplanması

Alan özelliğinin kriterleri belirlenirken içinde sadece *E.coli* olan 2 petrideki kolonilerin alan özellik değerleri hesaplanmıştır. *E. coli*, *Enterobacter sakazakii*, *Enterobacter cloacae*, *Enterobacter amnigenus* olan 1 petri ile *E. coli*, *Enterobacter sakazakii* olan 3 petride uzmanın işaretlemiş olduğu *E. coli*’lerin alan özellik değerleri hesaplanmıştır. Bu veriler doğrultusunda toplam 6 petri kullanılarak *E.coli* alan özelliğinin kriter aralığı belirlenmiştir.

Escherichia Coli kolonilerinin ve diğer bakteri kolonilerinin alan sınır değerleri **Tablo III.8**’de ortaya konulmuştur.

Tablo III.8 Koloni Alan Kriter Aralıkları

Escherichia Coli kolonilerinin alan sınır değerleri	$70 \leq \text{Alan} \leq 1000$
Diğer bakteri kolonilerinin alan sınır değerleri	$10 \leq \text{Alan} \leq 2300$

Escherichia Coli kolonilerin ve diğer kolonilerin maksimum ve minimum alan bilgileri Ek-A’da görülmektedir.

III.1.6.2 Dolu Alan özelliği

Resim içerisinde yer alan kolonilerin boşluksuz şekilde kapladığı alanı *regionprops* fonksiyonu yardımıyla ‘FilledArea’ parametresi ile piksel olarak ifade etmektedir. **Şekil III.47**’deki kod yapısı ile petri üzerindeki kolonilerin boşluksuz alan bilgisi elde edilmektedir.

```
[labeled,numObjects] = bwlabel(bw,8); % 8-connected
numObjects % Görüntü içerisinde cisimleri sayısıdır.
stats = regionprops(labeled,' FilledArea')
allfilledarea=[stats.FilledArea]
```

Şekil III.47 Dolu Alan Değerlerinin Hesaplanması

Dolu Alan özelliğinin kriterleri belirlenirken sadece *E.coli* olan 2 petrideki kolonilerin dolu alan özellik değerleri hesaplanmıştır. *E. coli*, *Enterobacter sakazakii*, *Enterobacter cloaceae*, *Entrobacter amnigenus* olan 1 petri ile *E. coli*, *Enterobacter sakazakii* olan 3 petride uzmanın işaretlemiş olduğu *E. coli*'lerin dolu alan özellik değerleri hesaplanmıştır. Bu veriler doğrultusunda toplam 6 petri kullanılarak *E.coli* dolu alan özelliğinin kriter aralığı belirlenmiştir.

Kolonilerin dolu alan özelliğinin kriter aralığı **tablo III.9**'deki elde edilmiştir.

Tablo III.9 Koloni Dolu Alan Kriter Aralıkları

Escherichia Coli kolonilerinin dolu alan sınır değerleri	$50 \leq \text{Dolu Alan} \leq 1250$
Diğer bakteri kolonilerinin dolu alan sınır değerleri	$10 \leq \text{Dolu Alan} \leq 2000$

III.1.6.3 Çevre Özelliği

Petri içerisindeki kolonilerin çevre uzunlukları görüntü işleme araç kutusunda yer alan *regionprops* komutunun *perimeter* parametresiyle piksel cinsinden hesaplanır. **Şekil III.48**'deki kod yapısı ile petri üzerindeki kolonilerin çevre bilgisi elde edilmektedir.

```
labeled,numObjects] = bwlabel(bw,8); % 8-connected
numObjects % Görüntü içerisinde cisimleri sayısıdır.
stats = regionprops(labeled,'Perimeter')
allperimeter =[stats. Perimeter]
```

Şekil III.48 Çevre Değerlerinin Hesaplanması

Escherichia Coli kolonilerinin çevre uzunluğu kriter aralığını toplam 6 petri de yapılan çalışmalar sonucu belirlenmiştir.

Escherichia Coli ve diğer bakteri kolonileri tümünün çevre değerleri hesaplanmıştır. Bu hesaplamalarda çıkan sonuçlara göre *Escherichia Coli* kolonileri için çevre kriter aralığı **tablo III.10**'daki gibi elde edilmiştir.

Tablo III.10 Koloni Çevre Kriter Aralıkları

Escherichia Coli kolonilerinin çevre sınır değerleri	$30 \leq \text{Çevre} \leq 150$
Diğer bakteri kolonilerinin çevre sınır değerleri	$5 \leq \text{Çevre} \leq 450$

Escherichia Coli kolonilerin ve diğer kolonilerin çevre bilgileri Ek-A'da görülmektedir.

III.1.6.4 Büyük Eksen Özelliği

Petri içerisindeki koloniler daire, elips veya düzgün olmayan bir geometrik şekil olarak gözükmemektedir. Bu koloni şekillerinin büyük eksen uzunluğunu piksel cinsinden *regionprops* fonksiyonu yardımıyla 'MajorAxisLength' parametresi hesaplanmaktadır. Şekil III.49'daki kod yapısı ile petri üzerindeki kolonilerin büyük eksen bilgisi elde edilmektedir.

```
[labeled,numObjects] = bwlabel(bw,8); % 8-connected
numObjects % Görüntü içerisinde cisimleri sayısıdır.
stats = regionprops(labeled,'MajorAxisLength')
allminoraxislength =[stats. MajorAxisLength]
```

Şekil III.49 Büyük Eksen Değerlerinin Hesaplanması

E.coli olan 2 petrideki kolonilerin büyük eksen özellik değerleri hesaplanmıştır. *E. coli*, *Enterobacter sakazakii*, *Enterobacter cloaceae*, *Entrobacter amnigenus* olan 1 petri ile *E. coli*, *Enterobacter sakazakii* olan 3 petride uzmanın işaretlemiş olduğu *E. coli*'lerin büyük eksen özellik değerleri hesaplanmıştır. Bu veriler doğrultusunda toplam 6 petri kullanılarak *E.coli* büyük eksen özelliğinin kriter aralığı belirlenmiştir.

Tablo III.11 Koloni Büyük Eksen Kriter Aralıkları

Escherichia Coli kolonilerinin büyük eksen sınır değerleri	$10 \leq \text{Büyük Eksen} \leq 40$
Diğer bakteri kolonilerinin büyük eksen sınır değerleri	$5 \leq \text{Büyük Eksen} \leq 75$

Escherichia Coli kolonilerin ve diğer kolonilerin büyük eksen bilgileri Ek-A'da görülmektedir.

III.1.6.5 Küçük Eksen Özelliği

Petri içerisindeki koloniler daire, elips veya düzgün olmyan bir geometrik şekil olarak gözükmetedir. Bu koloni şekillerinin küçük eksen uzunluğunu piksel cinsinden *regionprops* fonksiyonu yardımıyla 'MinorAxisLength' parametresi hesaplamaktadır. **Şekil III.49**'daki kod yapısı ile petri üzerindeki kolonilerin küçük eksen bilgisi elde edilmektedir.

```
[labeled,numObjects] = bwlabel(bw,8); % 8-connected
numObjects % Görüntü içerisinde cisimleri sayıdır.
stats = regionprops(labeled,' MinorAxisLength')
allminoraxislength =[stats. MajorAxisLength]
```

Şekil III.50. Küçük Eksen Değerlerinin Hesaplanması

Şekil III.49'daki kod yapısı ile petri üzerindeki kolonilerin büyük eksen değerleri, **Şekil III.50**'deki kod yapısı ile küçük eksen değerleri hesaplanmıştır. Bu değerlerin hesaplanmasındaki amaç küçük eksenin büyük eksen'e bölünmesiyle elde ettiğimiz Eğrilik değeridir.

Tablo III.12. Koloni Küçük Eksen Kriter Aralıkları

Escherichia Coli kolonilerinin küçük eksen sınır değerleri	$10 \leq \text{Küçük Eksen} \leq 35$
Diğer bakteri kolonilerinin küçük eksen sınır değerleri	$2 \leq \text{Küçük Eksen} \leq 50$

Escherichia Coli kolonilerin ve diğer kolonilerin küçük eksen bilgileri Ek-A'da görülmektedir.

III.1.6.6 Yuvarlaklık Özelliği

Yuvarlaklık özelliği, petri içerisindeki kolonilerin çevre şeklinin düzlük derecesini seviyesini göstermektedir. Yuvarlaklık değeri hücre alan bilgisinin 4 ve pi sayısı ile çarpımının çevrenin karesine oranı olarak hesaplanır. Sonuç 0–1 arası bir değer alır. Bu sonucun sıfıra yaklaşması koloni çevresinin düzgünlüğünü kaybettiğini gösterirken; bire yaklaşması hücrenin çevresinin oldukça düzgün dairesel bir şekil aldığını gösterir. Yuvarlaklık özelliği **şekil III.51**'deki kodlar ile hesaplanır.

```
roundness = (4*[]*FilledArea)/perimeter2
```

Şekil III.51 Yuvarlaklık Değerlerinin Hesaplanması

Escherichia Coli kolonilerinin yuvarlaklık kriter aralığını toplam 6 petri de yapılan çalışmalar sonucu belirlenmiştir. Escherichia Coli ve diğer bakteri kolonilerinin yuvarlaklık özelliğinin kriter aralığı **tablo III.13** 'deki elde edilmiştir.

Tablo III.13 Koloni Yuvarlaklık Kriter Aralıkları

Escherichia Coli kolonilerinin yuvarlaklık sınır değerleri	$0.7 \leq \text{Yuvarlaklık} \leq 1.0$
Diğer bakteri kolonilerinin yuvarlaklık sınır değerleri	$0 \leq \text{Yuvarlaklık} \leq 0.6$

Escherichia Coli kolonilerin ve diğer kolonilerin yuvarlaklık bilgileri Ek-A'da görülmektedir.

III.1.6.7. Eğrilik Özelliği

Eğrilik özelliği, büyük eksenin küçük eksene oranının piksel cinsinden hesaplanmasıdır. Eğrilik değeri petri içerisindeki Escherichia Coli kolonilerinin 1'e yakın değerler gösterdiği gözlemlenmiştir. Çevre şeklinin düzlük derecesini seviyesini göstermektedir. Eğrilik özelliği petri içerisindeki kolonilerin küçük eksen değerinin büyük eksen değerine bölünmesi ile bulunur. Eğrilik özelliği **şekil III.52**'deki kodlar ile hesaplanır.

$$\text{alllowness} = \frac{\text{allminoraxislength}}{\text{allmajoraxislength}}$$

Şekil III.52 Eğrilik Değerlerinin Hesaplanması

Escherichia Coli kolonilerinin Eğrilik kriter aralığını toplam 6 petri de yapılan çalışmalar sonucu belirlenmiştir. Kolonilerin Eğrilik özelliğinin kriter aralığı **tablo III.14**'deki gibi elde edilmiştir.

Tablo III.14 Koloni Eğrilik Kriter Aralıkları

Escherichia Coli kolonilerinin eğrilik sınır değerleri	$0.8 \leq \text{Eğrilik} \leq 1$
Diğer bakteri kolonilerinin eğrilik sınır değerleri	$0.1 \leq \text{Eğrilik} \leq 0.7$

Escherichia Coli kolonilerin ve diğer kolonilerin Eğrilik bilgileri Ek-A'da görülmektedir.

III.1.5.3. Katılık özelliği

Regionprops fonksiyonunun *Solidity* özelliği resim içinde etiketlenmiş nesnelere içerisinde yer alan boşluğun tüm alana olan oranını ifade eder. 0–1 arası bir değer fonksiyonun çıktı değeridir. Sıfıra yaklaşılması şeklin içinin doluluğunu, bire yaklaşılması ise şeklin içinin boşluğunu ifade eder. **Şekil III. 53**'deki kod yapısıyla etiketlenen hücrenin içerisindeki boş alanının tüm alana olan oranı ifade edilmektedir.

```
graindata = regionprops(labeled,'Solidity')
solidity=graindata(t).Solidity;
```

Şekil III.53. Katılık Değerlerinin Hesaplanması

Escherichia Coli ve diğer bakteri kolonilerinin katılık özelliğinin kriter aralığı **tablo III.15**'deki gibi elde edilmiştir.

Tablo III.15 Koloni Katılık Kriter Aralıkları

Escherichia Coli kolonilerinin katılık sınır değerleri	$0.7 \leq \text{Katılık} \leq 1.0$
Diğer bakteri kolonilerinin katılık sınır değerleri	$0 \leq \text{Katılık} \leq 0.6$

III.1.5.2. Eksantriklik özelliği

Regionprops fonksiyonun *eccentricity* özelliği ile resim içerisinde etiketlenmiş nesnelere yuvarlaklık değerleri belirlenmektedir. Bu fonksiyon çalıştırıldığında 0 – 1 arası bir sonuç ifade etmektedir. Eğer sonuç sıfıra yakınsıyorsa daire, 1'e yakınsıyorsa elips şeklinde ifade edilir. **Şekil III. 54**'deki kod yapısıyla resim üzerindeki bir hücrenin ne kadar yuvarlak olduğu belirlenir.

```
[labeled,numObjects] = bwlabel(bw,8); % 8-connected
numObjects % Görüntü içerisinde cisimleri sayısıdır.
stats = regionprops(labeled,'Eccentricity')
allminoraxislength =[stats. Eccentricity]
```

Şekil III. 54 Eksantriklik Değerlerinin Hesaplanması

Escherichia Coli kolonilerin ve diğer eksantriklik bilgileri Ek-A'da görülmektedir. Kolonilerin eksantriklik özelliğinin kriter aralığı **tablo III.16**'deki elde edilmiştir.

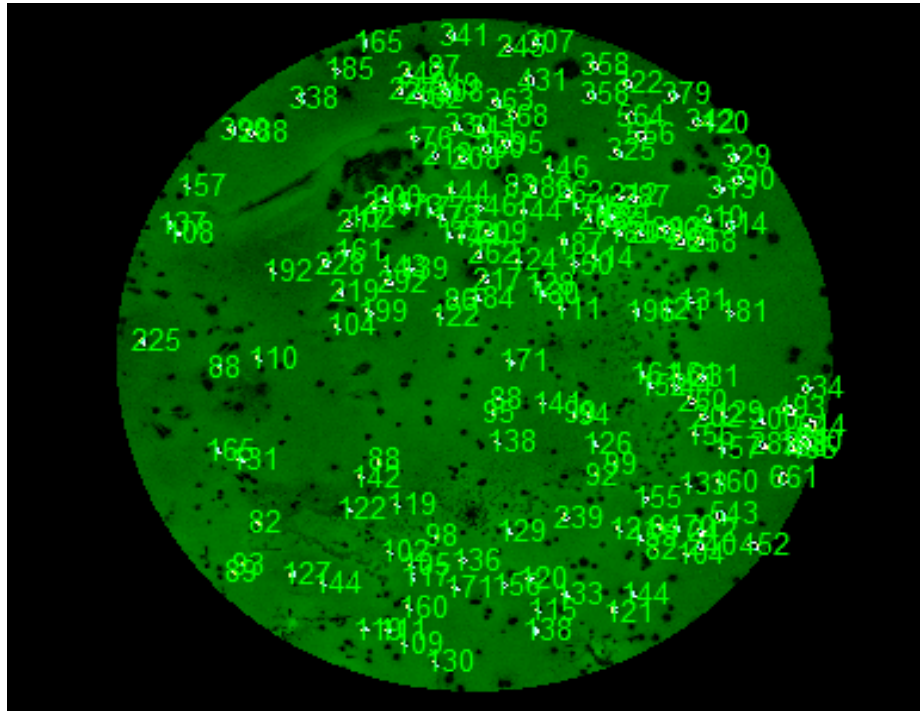
Tablo III.16 Koloni Eksantriklik Kriter Aralıkları

Escherichia Coli kolonilerinin eksantriklik sınır değerleri	$0.8 \leq \text{Eksantriklik} \leq 1$
Diğer bakteri kolonilerinin eksantriklik sınır değerleri	$0.1 \leq \text{Eksantriklik} \leq 0.7$

III.1.5.3. Koloni Sayımı

Petri üzerinde yer alan ve giriş filtresi ile çeşitli filtre ve işlemlerden geçirildikten sonra kolonilere ait dokuz ayrı özellik hesaplanmıştır. Görüntülerin tümü aynı standartlarda elde edilmiştir.

Koloni sayımı **şekil III. 55**'de gösterilmektedir.



Şekil III.55 Sayılan Kolonilerin Alan Değer Sonuçları

BÖLÜM IV.

SONUÇLAR VE TARTIŞMA

IV.1 DENEYSEL SONUÇLAR

Deneyleerin mikrobiyolojik kısmı Marmara Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümünde yürütülmüştür. Bu deneyleerde kullanılan Enterobacteriaceae ailesi üyelerinden *Escherichia Coli*(ATCC 25922) Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim dalından temin edilmiştir, *Enterobacter sakazakii*, *Entrobacter agglomerans*, *Enterobacter cloaceae*, *Entrobacter amnigenus* bakterileri ise tuzla organize sanayi bölgesinden alınan deri örneklerinden izole edilmiştir. Bakteriler, eozin metilen blue agar besiyerine 10^{-4} , 10^2 , 10^0 miktarlarında seyreltilerek ekim yapılmıştır. Bu çalışmada eozin metilen blue (EMB) agar (Merck, Darmstadt, Germany) üzerine plağa yayma yöntemi ile ekim yapılmış, 10 petrinin görüntüleri kullanılmıştır. Deneyleerde kullanılacak kültürler nutrient broth (Merck, Darmstadt, Germany) besiyerinde 37°C'da 24 saat inkübe edilerek üretilmiştir. Logaritmik üreme sürelerinin sonundaki kültürlerin yoğunlukları, McFarland 0.5 bulanıklık sabiti ve ardından fizyolojik tuzlu su içerisinde seri seyreltmeler kullanılarak 10^5 olarak ayarlanmışlardır. Çalışmada kullanılmak üzere görüntülenecek petrilere sırasıyla hiç seyreltme yapılmadan (örnek seyreltmesi 10^0), 1/100 seyreltme (örnek seyreltmesi 10^{-2}) ile ve 1/10.000 seyreltme (örnek seyreltmesi 10^{-4}) ile ekimler yapılmıştır. Her örneğin her bir seyreltmesi için bu işlem ikişer defa tekrarlanmıştır. Bu petrilere ekimlerinden 48 saat geçtikten sonra resimleri şekil III.3'de belirtilen düzenekle çekilmiştir. Bütün resimler aynı standartlarda aynı fotoğraf makinesi ile çekilmiştir. Düzenekte çeşitli açılardan ışık verilerek görüntülerin çekilmesi denenmiştir. Bu denemeler sonucu işlenebilme olasılığı yüksek görüntüyü petrinin alttan ışık verilip dört tarafı ve üst taraf kapalı olması durumunda elde edilmiştir. Hazırlanan düzenekte fotoğraf makinesinin objektifi karanlık kutunun üstünden sokularak çekilmiştir. Zoomsuz ve flash

kullanılmadan elde edilen görüntüler bilgisayar ortamına jpeg resim biçimiyle aktarılmıştır.

Yapılan bu işlemlerde kullanılan araçlar Ek- C’de ifade edilmiştir. Bu işlemleri gerçekleştiren kod yapısı ise Ek- D’de ifade edilmiştir.

Petri içerisinde *Escherichia coli*’lerin bulunmasında C#’da hazırlanmış arayüz kullanılmıştır. Matlab ortamında kriter aralıkları için analiz işlemi gerçekleştirilmiştir. Analiz sonuçları bir Excel dosyasında düzenlenmiştir. Petrilerin kriter aralığı belirlenirken elde edilen bulgular Ek-A’da ifade edilmiştir. Ek- B’de çalışılan petri görüntülerinden elde edilen sonuçlar ortaya koyulmuştur. *Escherichia Coli* kolonilerinin **tablo III.7**’de gösterilen tüm morfolojik özelliklerine bakılarak elde edilen analiz bilgileri doğrultusunda *Escherichia coli*’ye ait koloniler tespit edilmiştir.

IV.2 TARTIŞMA

Petrilerin incelenmesiyle petride koloni çeşidine bakılmaksızın petrideki koloni sayısı bulunabilmektedir. Kolonilerin tanımlanabilen morfolojik özellikleriyle petrideki koloni çeşidi de teşhis edilebilir.

Tablo IV.1 *Escherichia coli*’nin uzman sayımı ile program sayımının karşılaştırılması

Örnek Seyreltmesi	Uzman Ecoli Sayısı	Program Ecoli Sayısı	Uzman Bakteri Sayısı
10^{-4}	1	0	1
	0	0	2
	0	0	6
	0	4	15
	1	2	21
10^{-2}	3	60	98
	104	86	104
	120	97	120
	0	63	126
	3	61	132
	175	170	169
	0	70	183
	145	139	192
10^0	235	229	240
	180	174	243

Tabloda IV.1'de görüldüğü gibi bazı petrilerdeki uzman *Escherichia coli* sayımı ile program *Escherichia coli* sayımı sonuçları arasındaki fark büyüktür. Bu farkın oluşmasındaki sebep *Escherichia coli* koloni özellikleriyle Enterobacteriaceae ailesinden diğer bakteri kolonilerinin özelliklerinin benzerlikler göstermesidir. Bu farkın diğer bir sebebi de görüntünün temiz bir şekilde elde edilememesidir. Ayrıca koloni sayıları fazla olan (150 koloni ve üzeri) petrilerde bakteri kolonilerinin birbirleri ile farklı sayılarda gruplar meydana getirmiş olmalarıdır. Petrilerdeki bu yoğun çıkan bölümler uzman kişi tarafından sayılamamaktadır ve sonuçların yanlış çıkmasına sebep olmuştur. Bundan dolayı uzman kişi ve program bu yoğun çıkan kısımları elemiştir.

Bu çalışmada petrilerin işlenmesinde, petrilerin görüntüsü elde edildikten sonra bu görüntünün siyah-beyaza çevrilmesinden dolayı kullanılan besiyerinin renk sonuçlarını değiştirmemektedir. Bu durum *Escherichia coli*'nin tanımlanması işlemi için geliştirdiğimiz programın, bakterinin geliştirebildiği farklı renklere sahip besiyerlerinde de çalışabileceği fikrini doğurur. Fakat kolonilerin bu besiyerlerinde karakteristik görünüşlerinin aynı olması, *Escherichia coli*'nin tanımlanmasında programın çalışma süreci ve verimliliğinde düşüşe, dolayısıyla sağlıklı sonuçlara sebep olacaktır.

Tablo IV.1'de görüldüğü gibi farklı seyreltme oranları incelendiğinde sonuçların bazılarının verimli olmasının yanında bazılarında da doğru sonuçlar elde edilememiştir. Bu da seyreltme oranının programı etkilemediği sonucunu doğurmuştur.

BÖLÜM V

SON DEĞERLENDİRMELER ve ÖNERİLER

V.1 DEĞERLENDİRMELER

Yapılan bu çalışma ile özellikle mikrobiyoloji dalında çalışanların ve mikrobiyoloji akademi alanındaki kitlenin yaptığı işi hafifletecektir. Bu alanda koloni sayımını yapabilen cihazlar geliştirilmiş olup kullanılmaktadır. Fakat bu cihazların maliyeti oldukça yüksektir, ayrıca bu cihazlar sadece koloni sayısı bilgisini kullanıcıya sunmaktadır, koloni çeşidi hakkında bilgi vermemektedir. Bununla birlikte bakterilerin tanımlanmasında yapılan testlerin maliyetleri, ayrıca koloni sayım çalışmalarında insanın hata yapma olasılığı oldukça yüksektir. Hazırlanan bu sistemde ise koloni sayısı ve *Escherichia coli*'ye ait koloni sayısı bilgisi kullanıcıya sunulması zaman tasarrufunu sağlayacak, kimyasal testlerin maliyetini düşürülecek, yüksek maliyetli cihazlara alternatif olacaktır.

Geliştirilen bilgisayarlı görüntü işleme sisteminin yardımı ile koloni sayımında daha güvenilir ve sağlıklı veriler sunulacaktır. Çeşitli petri görüntülerden koloni sayım sistemiyle;

- Hızlılık sağlanmıştır,
- Kimyasal testlerin yoğunluğundan ve maliyetinden tasarruf sağlanmıştır,
- Hata olasılığını aza indirmiştir,
- Pahalı cihazlara alternatif olmuştur.

V.2 ÖNERİLER

Bu çalışmada mikrobiyoloji alanında *Enterobacteriaceae* ailesinden *Escherichia coli*, *Enterobacter sakazakii*, *Enterobacter agglomerans*, *Enterobacter cloacae* *Enterobacter amnigenus* bakteri koloni çeşitleri incelenerek *Escherichia coli*'ye ait koloniler bulunmaktadır. Bu sayı diğer bakteri ailelerine ait koloni yapıları incelenerek veri tabanı geliştirilebilir.

Escherichia Coli koloni özellikleriyle Enterobacteriaceae ailesinden diğer bakteri kolonilerinin özellikleri benzerlikler göstermesinden dolayı ayırt edilmesini güçleştirir. O yüzden koloni özellikleri birbirinden farklı bakteri kolonileriyle çalışıldığında sonuçlarda hata olasılığı minimum seviyeye düşürülebilecektir.

Bu çalışmada petrilerin işlenmesinde, petrilerin görüntüsü elde edildikten sonra bu görüntünün siyah-beyaza çevrilmesinden dolayı kullanılan besiyerinin rengi sonuçları değiştirmeyeceğinden dolayı *Escherichia coli*'nin tanımlanması işlemi için geliştirdiğimiz programın, bakterinin gelişebildiği farklı renklere sahip besiyerlerinde de çalışabileceği fikrini doğurur. Fakat kolonilerin bu besiyerlerinde morfolojik özelliklerinin aynı olması, *Escherichia coli*'nin tanımlanmasında programın çalışma süreci ve verimliliği için sorun oluşturabileceğinden besi yerlerinin kullanımına dikkat edilmelidir.

Eğer bu çalışmada kullanılan düzenek cihaz haline getirilebilirse pahalı ve masraflı cihazlar yerine daha basit, maliyeti düşük görüntü işleme sistemi kullanılabilir.

KAYNAKLAR:

- [1] <http://istanbul.rshm.gov.tr/gidamikro.php> (20.08.2008).
- [2] <http://www.cevrealiz.com> (20.08.2009).
- [3] Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları,. Genişletilmiş Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları,. Genişletilmiş 2. Baskı; Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü yayımı. Sim Matbaası, 522 s 10. Bölüm (2000) ,
<http://www.orlab.net/mikrobiyoloji/210011001.pdf> (02.09.2008).
- [4] Kayser FK.; Bienz KA.; Eckert J.; Zinkernagel RF,:" Enterobacteriaceae. In: Medizinische Microbiologie", (1998) 274-280.
- [5] Forbes B A.; Sahm D F.; Weissfeld A S,:" Enterobacteriaceae. In: Bailey & Scott's Diagnostic Microbiolog", (2002) 365-376.
- [6] DOĞAN Hilal B.,; TÜKEL Çağla,:" Toplam Bakteri", Ankara Üniversitesi Gıda Mühendisliği, (2000).
- [7] Xiaojuan L.; Cunshei C.; Ziyi Yv,:" A novel bacteria classification scheme based on microscopic image analysis", *Proceedings of the 6th Conference on WSEAS International Conference on Applied Computer Science*, Vol 6, (2007) 447-451.
- [8] Trattner, S.; Greenspan, H.; Tepper, G.; Abboud, S,:" Automatic identification of bacterial types using statistical imaging methods", *Medical Imaging, IEEE Transactions*, Vol 23, (July 2004) 807 – 820.
- [9] Ngiap Hio Chon,; Watson Ian A.; Wang Ruikang K.; Ward Glenn,:" Optimising image processing systems to accurately count colony forming units", *Conference on Lasers and Electro-Optics Europe - Technical Digest, IEEE Transactions*, Vol 8, (1996) 312 – 312.
- [10] Forero Manuel G.; Filip S.; Cristóbal G,:" Identification of tuberculosis bacteria based on shape and color", *Special issue on imaging in bioinformatics: Part III*, Vol 10, (2004) 251 – 262.
- [11] Parry RL,; Chin TW,; Donahoe PK,:" Computer-aided cell colony counting", *pubmed*, vol 10, (1991) 772-4.

- [12] Marotz J.; Lübbert C.; Eisenbeiß W.,:” Effective object recognition for automated counting of colonies in Petri dishes (automated colony counting)”, *Elsevier Science*, Vol 66, **(2001)** 183-198.
- [13] Zhang C.; Chen W.; Liu W.,; Chen C.,” An Automated Bacterial Colony Counting System”, *IEEE International Conference*, Vol 11, **(2008)** 233 – 240.
- [14] <http://clinx.cn/faqs1.htm> (31.08.2008).
- [15] Prof. Dr. Erkoç F.; Türkmenoğlu F.,:” Familia Enterobacteriaceae Genel Özellikleri, Gazi Eğitim Fakültesi, Gazi Üniversitesi Aralık **(2007)**.
- [16] <http://www.vet.chula.ac.th/~vph/lecture5.pdf> (23.03.2009)
- [17] Gür D. Hastane infeksiyonları ve antimikrobiyal ilaçlara çoğul dirençli gram-negatif bakteriler, *Hastane İnfeksiyonları Dergisi*, **(2000)** 218-221.
- [18] Rozenberg-Arska M.,; Visser MR.,:”Enterobacteriaceae In: Infectious Diseases”, **(1999)** 1-12.
- [19] Madigan, M.T.; Martinko, J.M.; Dunlap, P.V.; Clark, D.P.; Brock Biology of Microorganisms, Twelfth Edition, Pearson. Benjamin Cummings, (2009), San Francisco, CA, Diagnostic Microbiology and Immunology Chapter 32 900-933.
- [20] Fridkin SK.,; Steward CD.,; Edwards JR.,:”Surveillance of antimicrobial use and antimicrobial resistance in United States Hospitals: Project ICARE phase 2. *Clin Infect Dis*”, **(1999)** 245-252.
- [21] Akalın H.,”Çoğul dirençli gram negatif bakteriler. Hastane İnfeksiyonları”, **(2000)** 269-287.
- [22] <http://www.orlab.net/mikrobiyoloji/210011001.pdf> (04.03.2009).
- [23] www.food-info.net (06.02.2009).
- [24] http://www.web.inonu.edu.tr/iozeral/Enterobacter_cloacea(04.03.2009).
- [25] Capdevila JA.,; Bisbe V.,;Gasser I.,; Zuazu J.,; Olivé T.,; Fernández F.,; Pahissa Berga A.: Enterobacter amnigenus. An unusual human pathogen, *Enferm Infecc Microbiol Clin.*, 1998 364-6.
- [26] <http://www.thelabret.com/restriction/sources/> (04.03.2009)

- [27] Chengcui Z.;Wei-Bang C.; Wen-Lin L.; Chi-Bang C.:” An Automated Bacterial Colony Counting System”, *Sensor Networks, Ubiquitous and Trustworthy Computing*, 2008. *SUTC '08. IEEE International Conference on*, (2008) 233-240
- [28] Centrum.tul.cz/centrum/itsapt/Summer56/files/militky_6.pdf(03.02.2209)

EKLER

EK-A

KOLONİLERİN AYRIMINDA KULLANILACAK ÖZELLİKLERİN KRİTER ARALIĞI TANIMLAMA

E12 : Enterobacter sakazakii

E6 : Enterobacter cloaceae

TE4 : Enterobacter amnigenus

E13 : Enterobacter agglomerans

ALAN BİLGİLERİ								
Resim No	Seyreltme Oranı	Petri Ekilmiş Bakteri Çeşitleri	Uzman Toplam Bakteri Sayısı	Uzman Ecoli sayısı	Ecoli Minimum ve Maksimum Alan Verileri		Diğer Bakteri Alan Verileri	
					Min.	Mak.	Min.	Mak.
4445	10 ⁻⁴	Ecoli+E12+E6+TE4	1	1	50	50	-	-
4466	10 ⁻⁴	Ecoli+E12	21	1	905	905	10	1043
4454	10 ⁻²	Ecoli+E12	98	3	181	555	4	2315
4451	10 ⁻²	Ecoli	104	104	70	1250	-	-
4449	10 ⁻²	Ecoli	120	120	70	900	-	-
4469	10 ⁻²	Ecoli+E12	132	3	60	363	6	1714

Alan kriter aralığına bakılarak $50 \leq \text{Alan} \leq 1250$ belirlenmiştir.

DOLU ALAN BİLGİLERİ								
Resim No	Seyreltme Oranı	Petri Ekilmiş Bakteri Çeşitleri	Uzman Toplam Bakteri Sayısı	Uzman Ecoli sayısı	Ecoli Minimum ve Maksimum Alan Verileri		Diğer Bakteri Alan Verileri	
					Min.	Mak.	Min.	Mak.
4445	10 ⁻⁴	Ecoli+E12+E6+TE4	1	1	50	50	-	-
4466	10 ⁻⁴	Ecoli+E12	21	1	916	916	12	1016
4454	10 ⁻²	Ecoli+E12	98	3	181	555	10	1774
4451	10 ⁻²	Ecoli	104	104	250	1250	-	-
4449	10 ⁻²	Ecoli	120	120	90	1000	-	-
4469	10 ⁻²	Ecoli+E12	132	3	60	372	11	1953

Dolu alan kriter aralığı $50 \leq \text{Dolu Alan} \leq 1250$ belirlenmiştir.

ÇEVRE BİLGİLERİ								
Resim No	Seyreltme Oranı	Petri Ekilmiş Bakteri Çeşitleri	Uzman Toplam Bakteri Sayısı	Uzman Ecoli sayısı	Ecoli Minimum ve Maksimum Alan Verileri		Diğer Bakteri Alan Verileri	
					Min.	Mak.	Min.	Mak.
4445	10 ⁻⁴	Ecoli+E12+E6+TE4	1	1	30.38	30.38	-	-
4466	10 ⁻⁴	Ecoli+E12	21	1	135.54	135.54	10.24	173.19
4454	10 ⁻²	Ecoli+E12	98	3	51.46	80.43	4.83	428.17
4451	10 ⁻²	Ecoli	104	104	60	120	-	-
4449	10 ⁻²	Ecoli	120	120	30	150	-	-
4469	10 ⁻²	Ecoli+E12	132	3	28.38	72.53	4.82	307.35

Çevre kriter aralığı $30 \leq \text{Çevre} \leq 150$ belirlenmiştir.

BÜYÜK EKSEN BİLGİLERİ								
Resim No	Seyreltme Oranı	Petri Ekilmiş Bakteri Çeşitleri	Uzman Toplam Bakteri Sayısı	Uzman Ecoli sayısı	Ecoli Minimum ve Maksimum Alan Verileri Min. Mak.		Diğer Bakteri Alan Verileri Min. Mak.	
4445	10 ⁻⁴	Ecoli+E12+E6+TE4	1	1	14.15	14.15	-	-
4466	10 ⁻⁴	Ecoli+E12	21	1	35.94	35.94	4.95	47.36
4454	10 ⁻²	Ecoli+E12	98	3	15.70	27.59	3.05	79.67
4451	10 ⁻²	Ecoli	104	104	20	40	-	-
4449	10 ⁻²	Ecoli	120	120	10	40	-	-
4469	10 ⁻²	Ecoli+E12	132	3	10.23	22.36	3.05	73.81

Büyük eksen kriter aralığı $10 \leq \text{Büyük Eksen} \leq 40$ belirlenmiştir.

KÜÇÜK EKSEN BİLGİLERİ								
Resim No	Seyreltme Oranı	Petri Ekilmiş Bakteri Çeşitleri	Uzman Toplam Bakteri Sayısı	Uzman Ecoli sayısı	Ecoli Minimum ve Maksimum Alan Verileri Min. Mak.		Diğer Bakteri Alan Verileri Min. Mak.	
4445	10 ⁻⁴	Ecoli+E12+E6+TE4	1	1	9.78	9.78	-	-
4466	10 ⁻⁴	Ecoli+E12	21	1	33.17	33.17	2.68	36.51
4454	10 ⁻²	Ecoli+E12	98	3	15.11	25.83	2.08	47.17
4451	10 ⁻²	Ecoli	104	104	15	35	-	-
4449	10 ⁻²	Ecoli	120	120	15	35	-	-
4469	10 ⁻²	Ecoli+E12	132	3	7.83	21.75	2.08	51.49

Küçük Eksen kriter aralığı $10 \leq \text{Küçük Eksen} \leq 35$ belirlenmiştir.

YUVARLAKLIK BİLGİLERİ								
Resim No	Seyreltme Oranı	Petri Ekilmiş Bakteri Çeşitleri	Uzman Toplam Bakteri Sayısı	Uzman Ecoli sayısı	Ecoli Minimum ve Maksimum Alan Verileri		Diğer Bakteri Alan Verileri	
					Min. Mak.	Mak.	Min. Mak.	Mak.
4445	10 ⁻⁴	Ecoli+ E12+E6+TE4	1	1	0.42	0.42	-	-
4466	10 ⁻⁴	Ecoli+E12	21	1	0.63	0.63	0.31	1.43
4454	10 ⁻²	Ecoli+E12	98	3	0.86	0.90	0.18	1.61
4451	10 ⁻²	Ecoli	104	104	0.7	1	-	-
4449	10 ⁻²	Ecoli	120	120	0.7	1	-	-
4469	10 ⁻²	Ecoli+E12	132	3	0.86	0.94	0.25	1.61

Yuvarlaklık kriter aralığı $0.7 \leq \text{Yuvarlaklık} \leq 1.0$ belirlenmiştir.

EĞRİLİK BİLGİLERİ								
Resim No	Seyreltme Oranı	Petri Ekilmiş Bakteri Çeşitleri	Uzman Toplam Bakteri Sayısı	Uzman Ecoli sayısı	Ecoli Minimum ve Maksimum Alan Verileri		Diğer Bakteri Alan Verileri	
					Min. Mak.	Mak.	Min. Mak.	Mak.
4445	10 ⁻⁴	Ecoli+ E12+E6+TE4	1	1	0.27	0.27	-	-
4466	10 ⁻⁴	Ecoli+E12	21	1	0.93	0.93	0.24	0.97
4454	10 ⁻²	Ecoli+E12	98	3	0.92	0.96	0.10	1.00
4451	10 ⁻²	Ecoli	104	104	0.9	1.0	-	-
4449	10 ⁻²	Ecoli	120	120	0.9	1.0	-	-
4469	10 ⁻²	Ecoli+E12	132	3	0.77	0.97	0.17	1

Eğrilik kriter aralığı $0.8 \leq \text{Eğrilik} \leq 1$ belirlenmiştir.

KATILIK BİLGİLERİ								
Resim No	Seyreltme Oranı	Petri Ekilmiş Bakteri Çeşitleri	Uzman Toplam Bakteri Sayısı	Uzman Ecoli sayısı	Ecoli Minimum ve Maksimum Alan Verileri		Diğer Bakteri Alan Verileri	
					Min.	Mak.	Min.	Mak.
4445	10 ⁻⁴	Ecoli+ E12+E6+TE4	1	1	0.67	0.67	-	-
4466	10 ⁻⁴	Ecoli+E12	21	1	0.92	0.92	0.62	1.00
4454	10 ⁻²	Ecoli+E12	98	3	0.92	0.96	0.60	1.00
4451	10 ⁻²	Ecoli	104	104	0.90	1.00	-	-
4449	10 ⁻²	Ecoli	120	120	0.90	1.00	-	-
4469	10 ⁻²	Ecoli+E12	132	3	0.91	0.94	0.58	1.00

Katılık kriter aralığı $0.7 \leq \text{Katılık} \leq 1.0$ belirlenmiştir.

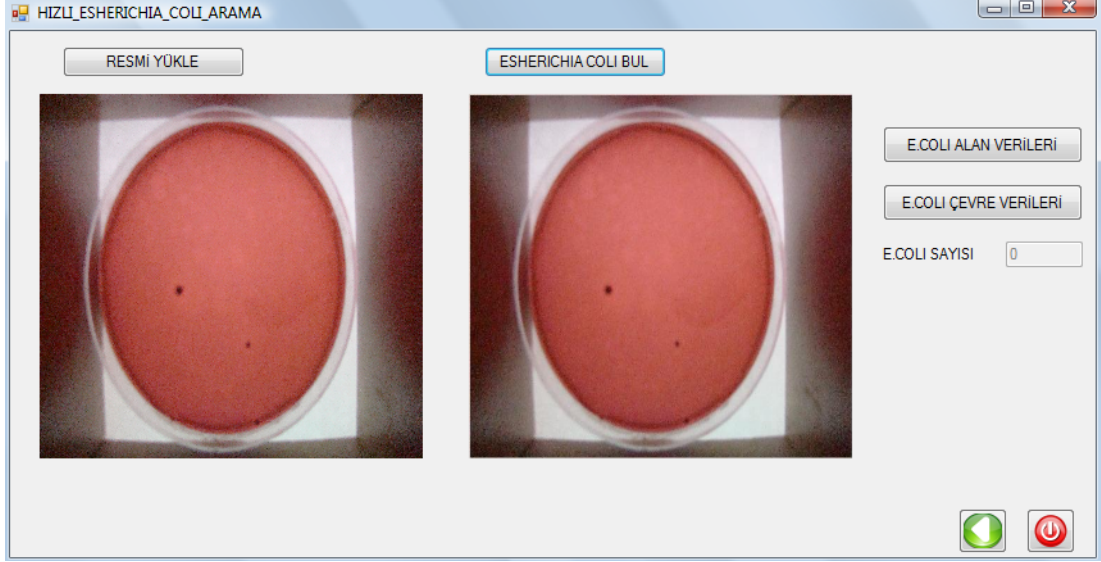
EKSENTRİKLİK BİLGİLERİ								
Resim No	Seyreltme Oranı	Petri Ekilmiş Bakteri Çeşitleri	Uzman Toplam Bakteri Sayısı	Uzman Ecoli sayısı	Ecoli Minimum ve Maksimum Alan Verileri		Diğer Bakteri Alan Verileri	
					Min.	Mak.	Min.	Mak.
4445	10 ⁻⁴	Ecoli+ E12+E6+TE4	1	1	0.96	0.96	-	-
4466	10 ⁻⁴	Ecoli+E12	21	1	0.39	0.39	0.19	0.97
4454	10 ⁻²	Ecoli+E12	98	3	0.27	0.39	0.20	0.98
4451	10 ⁻²	Ecoli	104	104	0.10	0.50	-	-
4449	10 ⁻²	Ecoli	120	120	0.10	0.60	-	-
4469	10 ⁻²	Ecoli+E12	132	3	0.23	0.64	0.16	0.99

Eksantriklik kriter aralığı $0.8 \leq \text{Eksantriklik} \leq 1$ olarak belirlenmiştir.

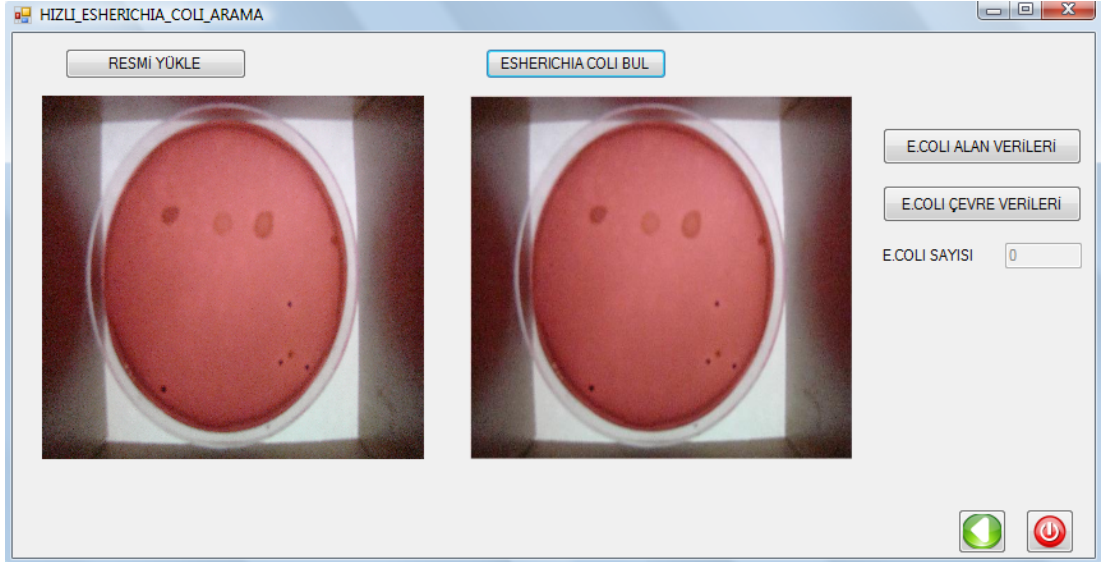
EK-B

PROGRAM TARAFINDAN İNCELENEN PETRİ SONUÇLARI

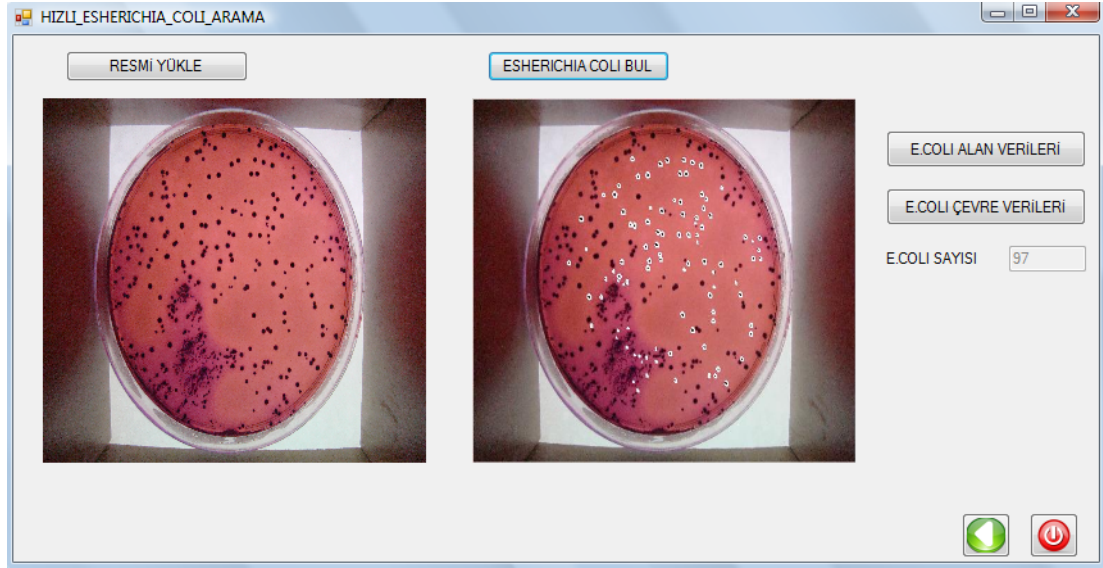
No: DSCO4447.JPEG



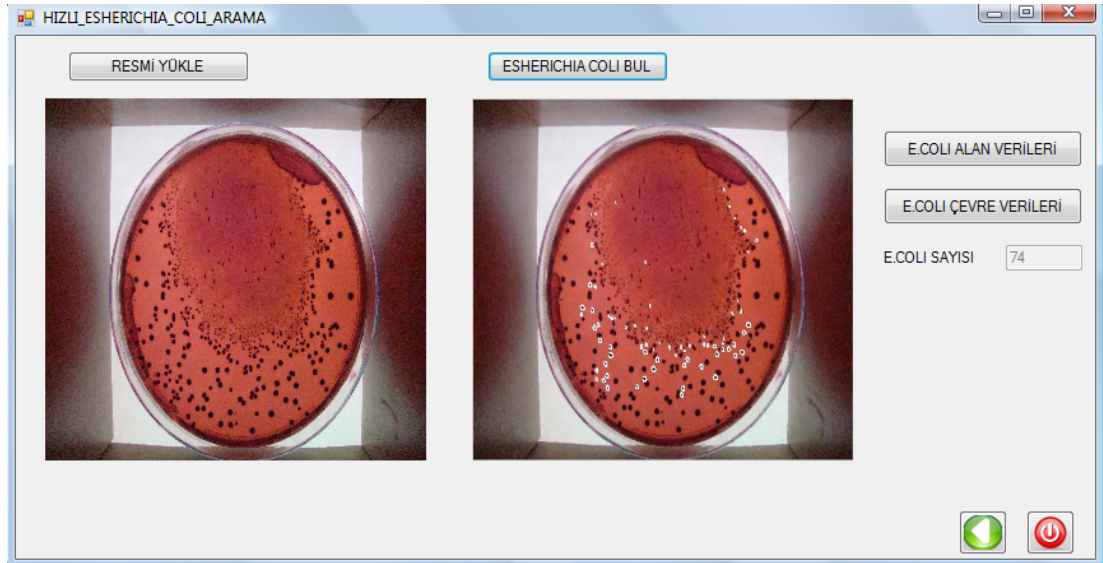
No: DSCO4448.JPEG



No: DSCO4450.JPEG



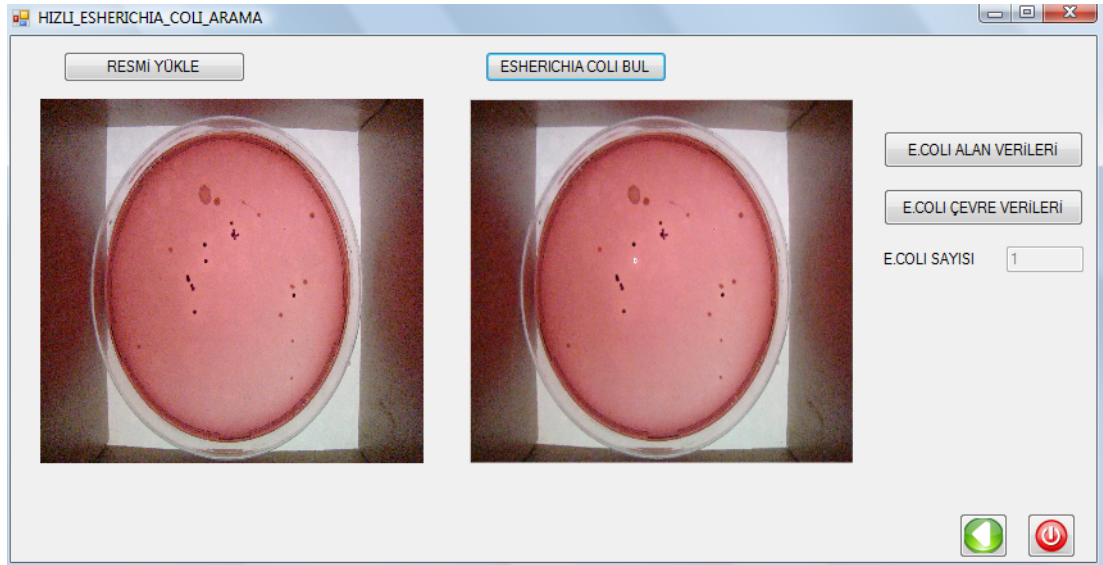
No: DSCO4455.JPEG



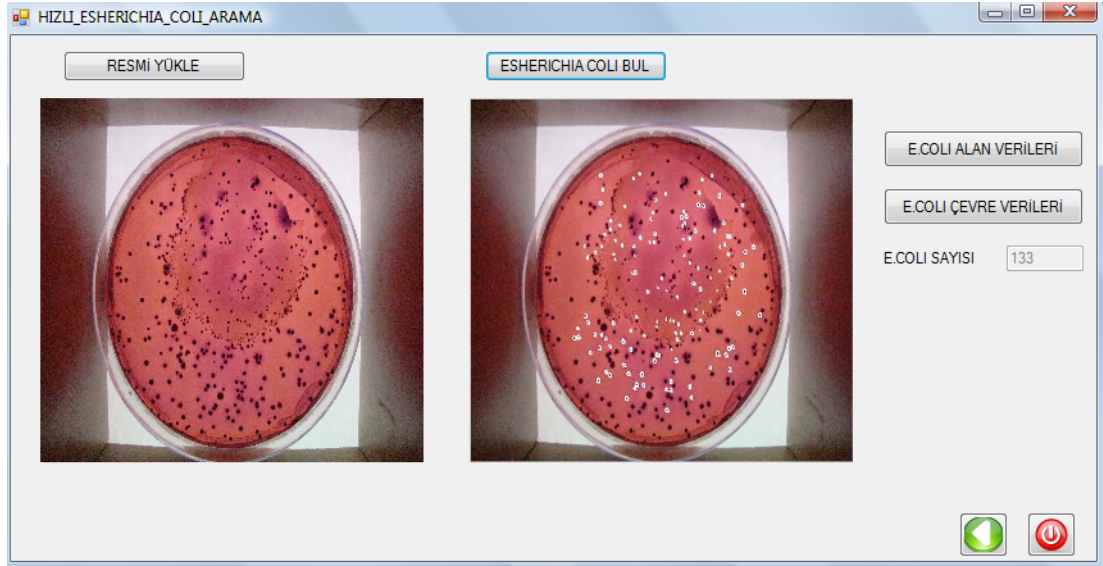
No: DSCO4458.JPEG



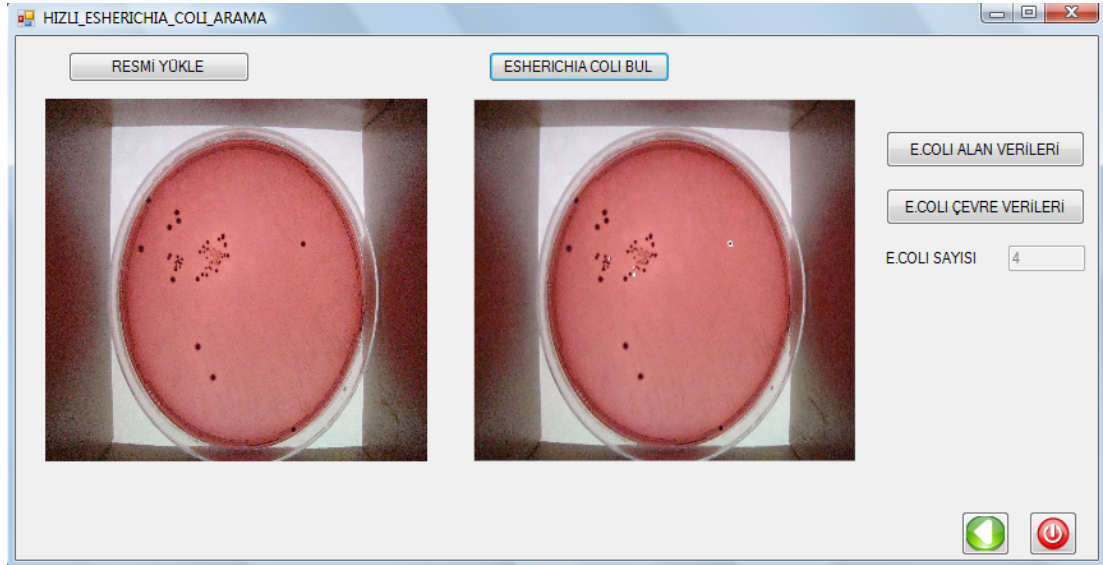
No: DSCO4461.JPEG



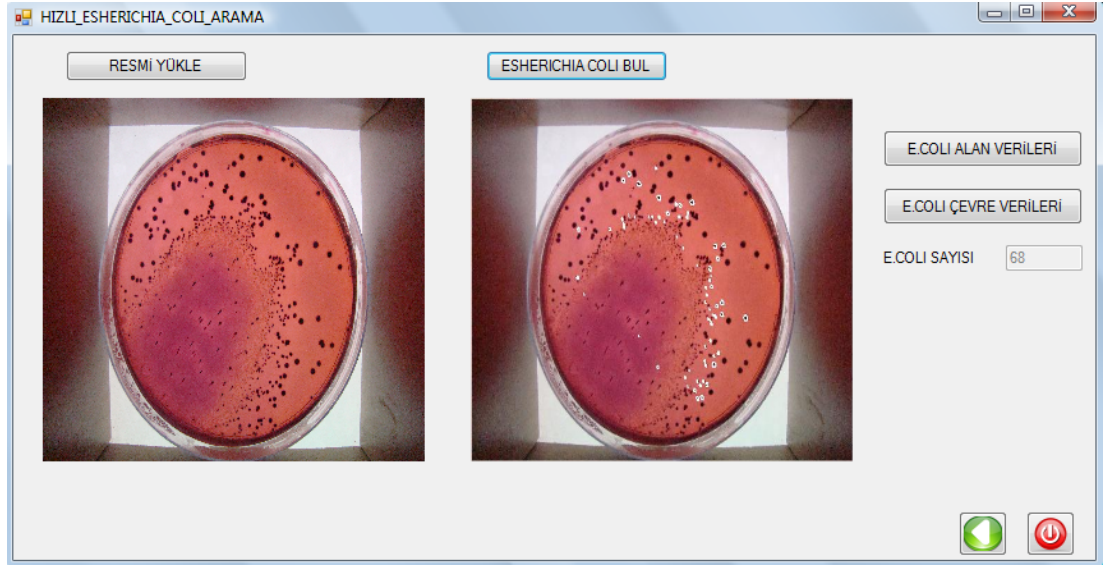
No: DSCO4464.JPEG



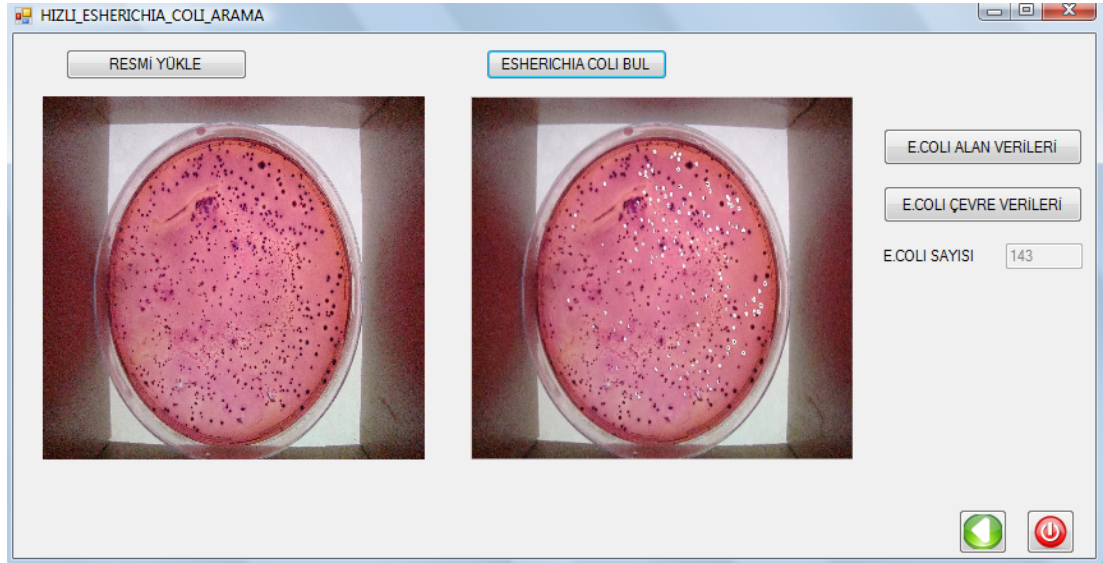
No: DSCO4467.JPEG



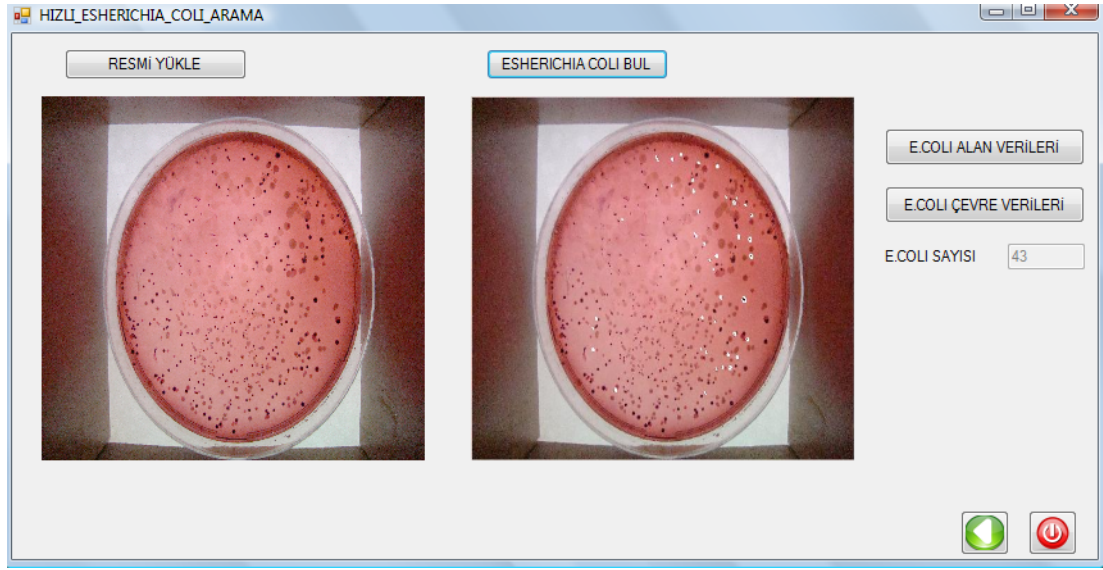
No: DSCO4470.JPEG



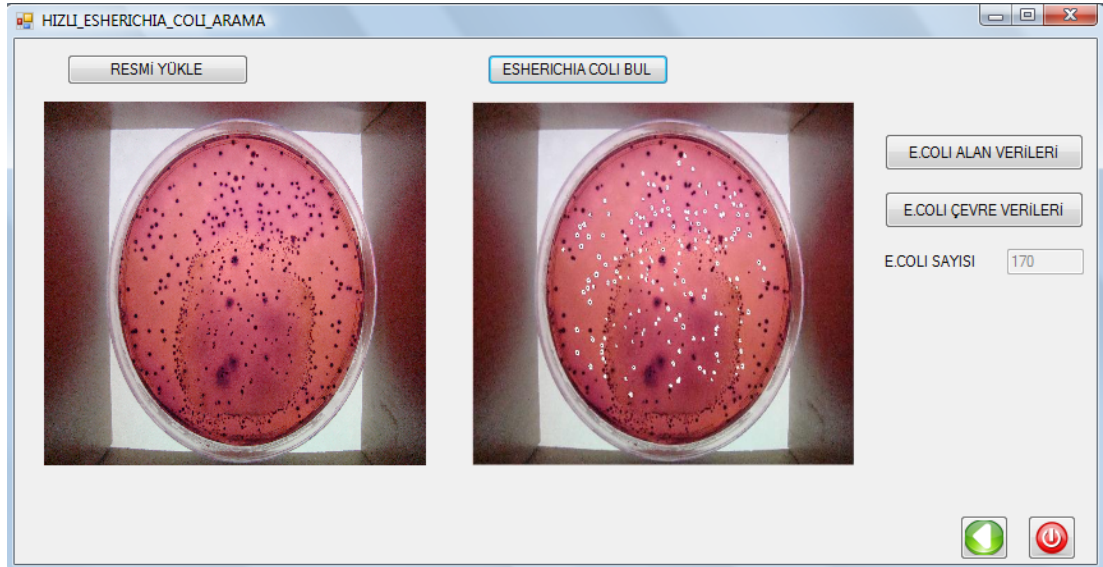
No: DSCO4473.JPEG



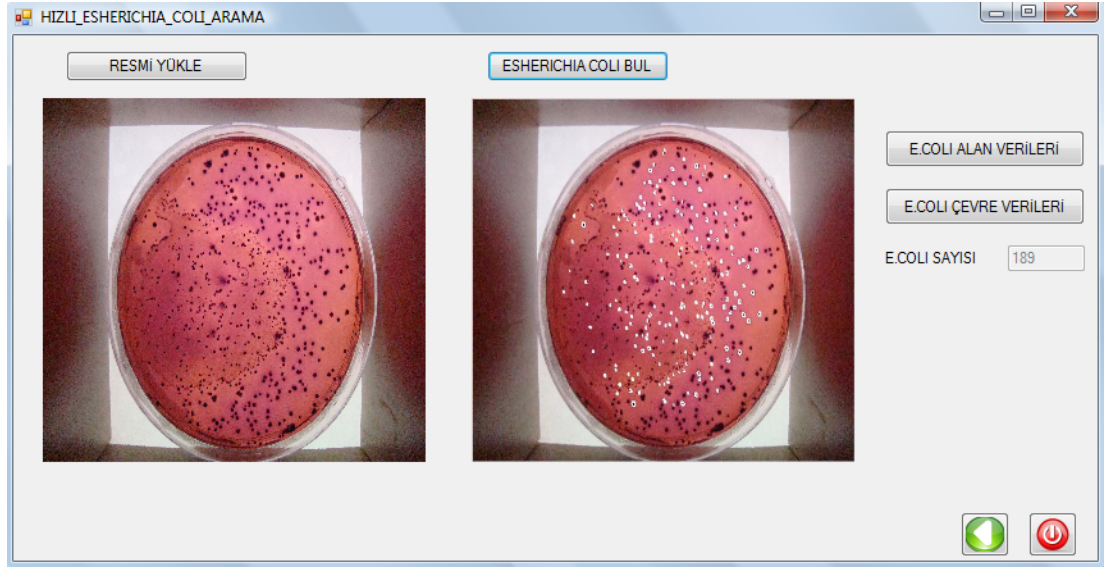
No: DSCO4477.JPEG



No: DSCO4480.JPEG



No: DSCO4483.JPEG



EK-C

DENEYSEL MALZEMELER VE YAZILIMLAR

<u>İşlem</u>	<u>Kullanılan Malzeme/Yazılım</u>
Preparat Hazırlanması	Besiyeri, Petri, Otoklav, Manyetik Karıştırıcı, Steril Kabin, Cam Baget
Görüntünün Alınması	Sony DSC H9
Programın Hazırlanması	Matlab 7.6.0 ve Microsoft Visual Studio 2005(C#), bilgisayar (Windows Vista Basic işletim sistemini kullanan 2 GHZ hızında 2GB hafızaya sahip.)
Giriş Filtreleme	Matlab görüntü işleme araç kutusu
Hücre Özelliklerinin Belirlenmesi	Matlab görüntü işleme araç kutusu

EK-D

PROGRAM KODLARI

MATLAB KODLARI

%Çevre Bilgisi

```
close all;
clc;
clear all;
im = imread('c:\oldpic.jpg');
h=figure(1);
set(h,'visible','off');
imshow(im);
[w h]=size(im);
x=w/2;
y=h/2;
r=900;
for i=1:w
    for j=1:h
        uzaklik=abs(sqrt(((x-i)^2)+(y-j)^2));
        if uzaklik<r
            im(i,j)=im(i,j);
        else
            im(i,j)=0;
        end
    end
end
I1=rgb2gray(im);
h = ones(5,5) /15;
I2 = imfilter(I1,h);
background=imclose(I2,strel('disk',100));
I3=imsubtract(background,I2);
bw = im2bw(I2, 0.1950)
```

```

K=medfilt2(bw);
bw1=imcomplement(K);
bw2=bwareaopen(bw1,10);
bw3=imclearborder(bw2,8);
[labeled,numObjects] = bwlabel(bw2,8);
numObjects;
RGB_label = label2rgb(labeled);
[B,L] = bwboundaries(bw3,'noholes');
hold on
stats =
regionprops(labeled,'Area','FilledArea','Perimeter','MajorAxisLength','MinorAxisLen
gth','Solidity','Eccentricity')
allarea = [stats.Area];
allfilledarea=[stats.FilledArea];
allperimeter = [stats.Perimeter];
allmajoraxislength = [stats.MajorAxisLength];
allminoraxislength = [stats.MinorAxisLength];
allroundness =[4*pi*allarea./allperimeter.^2];
alllowness= [allminoraxislength./allmajoraxislength];
allsolidity= [stats.Solidity];
alleccentricity=[stats.Eccentricity];
    ecolisayisi=0;
    fid = fopen('c:\ecolicevrebilgi.xls','w');
for k = 1:length(B)
    boundary = B{k};
    if ((allarea(k) >= 70) & (allarea(k) <= 1000))
        if ((allfilledarea(k)>= 50) & (allfilledarea(k) <= 1250))
            if ((allperimeter(k)>= 30) & (allperimeter(k)<= 150.00))
                if ((allmajoraxislength(k)>= 10) & (allmajoraxislength(k) <= 40))
                    if ((allminoraxislength(k)>= 10) & (allminoraxislength(k) <= 35))
                        if ((allroundness(k)>= 0.70) & (allroundness(k) <= 1.0))
                            if ((alllowness(k)>= 0.80) & (alllowness(k) <= 1.0))
                                if ((allsolidity(k)>= 0.90) & (allsolidity(k) <= 1.0))
                                    if ((alleccentricity(k)>= 0.1) & (alleccentricity(k) <= 0.6))

```



```

for j=1:h
    uzaklik=abs(sqrt(((x-i)^2)+(y-j)^2));
    if uzaklik<r
        im(i,j)=im(i,j);
    else
        im(i,j)=0;
    end
end
end
I1=rgb2gray(im);
h = ones(5,5) /15;
I2 = imfilter(I1,h);
background=imclose(I2,strel('disk',100));
I3=imsubtract(background,I2);
bw = im2bw(I2, 0.1950);
K=medfilt2(bw);
bw1=imcomplement(K);
bw2=bwareaopen(bw1,10);
bw3=imclearborder(bw2,8);
[labeled,numObjects] = bwlabel(bw2,8);
numObjects;
RGB_label = label2rgb(labeled);
[B,L] = bwboundaries(bw3,'noholes');
hold on
stats =
regionprops(labeled,'Area','FilledArea','Perimeter','MajorAxisLength','MinorAxisLength','Solidity','Eccentricity')
allarea = [stats.Area];
allfilledarea=[stats.FilledArea];
allperimeter = [stats.Perimeter];
allmajoraxislength = [stats.MajorAxisLength];
allminoraxislength = [stats.MinorAxisLength];
allroundness =[4*pi*allarea./allperimeter.^2];
alllowness= [allminoraxislength./allmajoraxislength];

```



```

%-----
%Yuvarlaklık Bilgisi
close all;
clc;
clear all;
im=imread('c:\oldpic.jpg');
h=figure(1);
set(h,'visible','off');
imshow(im);
[w h]=size(im);
x=w/2;
y=h/2;
r=900;
for i=1:w
    for j=1:h
        uzaklik=abs(sqrt(((x-i)^2)+(y-j)^2));
        if uzaklik<r
            im(i,j)=im(i,j);
        else
            im(i,j)=0;
        end
    end
end

I1=rgb2gray(im);
I3 = imadjust(I1);
bw1 =im2bw(I3,0.1950);
K=medfilt2(bw1);
bw1=imcomplement(K);
bw2=bwareaopen(bw1,10);
bw3=imclearborder(bw2,4);
[labeled,numObjects] = bwlabel(bw3,8);
[B,L] = bwboundaries(bw3,'noholes');
RGB_label = label2rgb(labeled);
hold on

```

```

stats =
regionprops(labeled,'Area','FilledArea','Perimeter','MajorAxisLength','MinorAxisLen
gth','Solidity','Eccentricity');
allarea = [stats.Area];
allfilledarea=[stats.FilledArea];
allperimeter = [stats.Perimeter];
allmajoraxislength = [stats.MajorAxisLength];
allminoraxislength = [stats.MinorAxisLength];
allroundness =[4*pi*allarea./allperimeter.^2];
alllowness= [allminoraxislength./allmajoraxislength];
allsolidity= [stats.Solidity];
alleccentricity=[stats.Eccentricity];
ecolisayisi=0;
fid = fopen('c:\ecoliyuvarlaklikbilgi.xls','w');

for k = 1:length(B)
    boundary = B {k};
    if ((allarea(k) >= 70) & (allarea (k) <= 1000))
        if ((allfilledarea(k)>= 50) & (allfilledarea(k) <= 1250))
            if ((allperimeter(k)>= 30) & (allperimeter(k)<= 150.00))
                if ((allmajoraxislength(k)>= 10) & (allmajoraxislength(k) <= 40))
                    if ((allminoraxislength(k)>= 10) & (allminoraxislength(k) <= 35))
                        if ((allroundness(k)>= 0.70) & (allroundness(k) <= 1.0))
                            if ((alllowness(k)>= 0.80) & (alllowness(k) <= 1.0))
                                if ((allsolidity(k)>= 0.90 ) & (allsolidity(k) <= 1.0))
                                    if ((alleccentricity(k)>= 0.1) & (alleccentricity(k) <= 0.6))
                                        ecolisayisi=ecolisayisi+1 ;
                                        filledarea=[stats(k).FilledArea];
                                        perimeter=[stats(k).Perimeter];
                                        roundness = (4*pi*stats(k).FilledArea)/stats(k).Perimeter^2;
                                        roundness_string = sprintf('%2.2f',roundness);
                                        fprintf(fid,'%2.2f\n', (4*pi*stats(k).FilledArea)/stats(k).Perimeter^2);
                                        plot(boundary(:,2), boundary(:,1), 'w', 'LineWidth', 2)
                                        text(boundary(1,2)-30,boundary(1,1)+5,roundness_string,'Color','g',...

```

```

        'FontSize',20);
            end
        end
    end
end
end
end
end
end
end
end
end

fclose(fid)
m=getframe(gca);
imwrite(m.cdata,'c:\\newpic.jpg','jpeg');
%-----
% Eğrilik Bilgisi
close all;
clc;
clear all;
im=imread('c:\\oldpic.jpg');
h=figure(1);
set(h,'visible','off');
imshow(im);
[w h]=size(im);
x=w/2;
y=h/2;
r=900;
for i=1:w
    for j=1:h
        uzaklik=abs(sqrt(((x-i)^2)+(y-j)^2));
        if uzaklik<r
            im(i,j)=im(i,j);
        else

```

```

                                im(i,j)=0;
                                end
                                end
                                end
I1=rgb2gray(im);
I3 = imadjust(I1);
bw1 =im2bw(I3,0.1950);
K=medfilt2(bw1);
bw1=imcomplement(K);
bw2=bwareaopen(bw1,10);
bw3=imclearborder(bw2,4);
[labeled,numObjects] = bwlabel(bw3,8);
[B,L] = bwboundaries(bw3,'noholes');
RGB_label = label2rgb(labeled);
hold on
stats =
regionprops(labeled,'Area','FilledArea','Perimeter','MajorAxisLength','MinorAxisLen
gth','Solidity','Eccentricity');
allarea = [stats.Area];
allfilledarea=[stats.FilledArea];
allperimeter = [stats.Perimeter];
allmajoraxislength = [stats.MajorAxisLength];
allminoraxislength = [stats.MinorAxisLength];
allroundness =[4*pi*allarea./allperimeter.^2];
alllowness= [allminoraxislength./allmajoraxislength];
allsolidity= [stats.Solidity];
alleccentricity=[stats.Eccentricity];
ecolisayisi=0;
fid = fopen('c:\ecolilownessbilgi.xls','w');
for k = 1:length(B)
    boundary = B{k};
    if ((allarea(k) >= 70) & (allarea (k) <= 1000))
        if ((allfilledarea(k)>= 50) & (allfilledarea(k) <= 1250))
            if ((allperimeter(k)>= 30) & (allperimeter(k)<= 150.00))

```



```

h=figure(1);
set(h,'visible','off');
imshow(im);
[w h]=size(im);
x=w/2;
y=h/2;
r=900;
for i=1:w
    for j=1:h
        uzaklik=abs(sqrt(((x-i)^2)+(y-j)^2));
        if uzaklik<r
            im(i,j)=im(i,j);
        else
            im(i,j)=0;
        end
    end
end
I1=rgb2gray(im);
I3 = imadjust(I1);
bw1 =im2bw(I3,0.1950);
K=medfilt2(bw1);
bw1=imcomplement(K);
bw2=bwareaopen(bw1,10);
bw3=imclearborder(bw2,4);
[labeled,numObjects] = bwlabel(bw3,8);
[B,L] = bwboundaries(bw3,'noholes');
RGB_label = label2rgb(labeled);
hold on
stats =
regionprops(labeled,'Area','FilledArea','Perimeter','MajorAxisLength','MinorAxisLength','Solidity','Eccentricity');
allarea = [stats.Area];
allfilledarea=[stats.FilledArea];
allperimeter = [stats.Perimeter];

```



```

    end
    fclose(fid)
    m=getframe(gca);
    imwrite(m.cdata,'c:\\newpic.jpg','jpeg');
    %.....
% Katılık Bilgisi
    close all;
    clc;
    clear all;
    im=imread('c:\\oldpic.jpg');
    h=figure(1);
    set(h,'visible','off');
    imshow(im);
    [w h]=size(im);
    x=w/2;
    y=h/2;
    r=900;
    for i=1:w
        for j=1:h
            uzaklik=abs(sqrt(((x-i)^2)+(y-j)^2));
            if uzaklik<r
                im(i,j)=im(i,j);
            else
                im(i,j)=0;
            end
        end
    end
    end
    I1=rgb2gray(im);
    I3 = imadjust(I1);
    bw1 =im2bw(I3,0.1950);
    K=medfilt2(bw1);
    bw1=imcomplement(K);
    bw2=bwareaopen(bw1,10);
    bw3=imclearborder(bw2,4);

```

```

[labeled,numObjects] = bwlabel(bw3,8);
[B,L] = bwboundaries(bw3,'noholes');
RGB_label = label2rgb(labeled);
hold on
stats =
regionprops(labeled,'Area','FilledArea','Perimeter','MajorAxisLength','MinorAxisLength','Solidity','Eccentricity');
allarea = [stats.Area];
allfilledarea=[stats.FilledArea];
allperimeter = [stats.Perimeter];
allmajoraxislength = [stats.MajorAxisLength];
allminoraxislength = [stats.MinorAxisLength];
allroundness =[4*pi*allarea./allperimeter.^2];
alllowness= [allminoraxislength./allmajoraxislength];
allsolidity= [stats.Solidity];
alleccentricity=[stats.Eccentricity];
ecolisayisi=0;
fid = fopen('c:\ecolisoliditybilgi.xls','w');
for k = 1:length(B)
    boundary = B{k};
if ((allarea(k) >= 70) & (allarea(k) <= 1000))
    if ((allfilledarea(k)>= 50) & (allfilledarea(k) <= 1250))
        if ((allperimeter(k)>= 30) & (allperimeter(k)<= 150.00))
            if ((allmajoraxislength(k)>= 10) & (allmajoraxislength(k) <= 40))
                if ((allminoraxislength(k)>= 10) & (allminoraxislength(k) <= 35))
                    if ((allroundness(k)>= 0.70) & (allroundness(k) <= 1.0))
                        if ((alllowness(k)>= 0.80) & (alllowness(k) <= 1.0))
                            if ((allsolidity(k)>= 0.90) & (allsolidity(k) <= 1.0))
                                if ((alleccentricity(k)>= 0.1) & (alleccentricity(k) <= 0.6))
                                    ecolisayisi=ecolisayisi+1 ;
solidity= sprintf('%2.2f',stats(k).Solidity);
fprintf(fid,'%2.2f\n', stats(k).Solidity);
plot(boundary(:,2), boundary(:,1), 'w', 'LineWidth', 2)

```



```

}
private void btSonuc_Click(object sender, EventArgs e)
{
HIZLI_ESHERICHIA_COLI_ARAMA frm = new
HIZLI_ESHERICHIA_COLI_ARAMA();
frm.Show();
this.Hide();
}
%.....
% DETAYLI_ESCHERICHIA_COLI_ARAMA ARAYÜZÜNÜN KODLARI
using System;
using System.Collections.Generic;
using System.ComponentModel;
using System.Data;
using System.Drawing;
using System.Text;
using System.Windows.Forms;
using System.IO;
using System.Diagnostics;
namespace ESCHERICHIACOLI_BAKTERISININ_BELIRLENMESI
{public partial class DETAYLI_ESCHERICHIA_COLI_ARAMA : Form
{private void RunProg(String StrProgName)
{System.Threading.Thread.Sleep(1000);
if (File.Exists("c:\\newpic.jpg")) File.Delete("c:\\newpic.jpg");
String strMatlab = "C:\\Program Files\\MATLAB\\R2008a\\bin\\win32\\matlab.exe";
String strArgument = " -r " + StrProgName + " -nodesktop -nojvm -nosplash";
Process.Start(strMatlab, strArgument);
while (File.Exists("c:\\newpic.jpg") == false)
{
}
System.Threading.Thread.Sleep(2000);
picNew.ImageLocation = "c:\\newpic.jpg";
}
private void RunMatlabProg(String StrProgName)

```

```

{this.Cursor = Cursors.WaitCursor;
ProcessStartInfo startInfo = new ProcessStartInfo();
startInfo.CreateNoWindow = true ;
startInfo.UseShellExecute = false;
startInfo.FileName = "C:\\PicsAndProgs\\" + StrProgName + ".exe";
startInfo.WindowStyle = ProcessWindowStyle.Hidden;
if (File.Exists("c:\\newpic.jpg")) File.Delete("c:\\newpic.jpg");
Process exeProcess = Process.Start(startInfo);
while (File.Exists("c:\\newpic.jpg") == false)
{
}
System.Threading.Thread.Sleep(2000);
picNew.ImageLocation = "c:\\newpic.jpg";
this.Cursor = Cursors.Arrow;
}
public DETAYLI_ESCHERICHIA_COLI_ARAMA()
{InitializeComponent();}
private void btnExit_Click(object sender, EventArgs e)
{Application.Exit();}
private void btnBack_Click(object sender, EventArgs e)
{
ESCHERICHIA_COLI_ARAMA frm = new ESCHERICHIA_COLI_ARAMA();
frm.Show();
this.Hide();
}
private void btResimYukle_Click(object sender, EventArgs e)
{
openFileDialog1.InitialDirectory = "c:\\PicsAndProgs\\";
openFileDialog1.Filter = "jpg files (*.jpg)";
openFileDialog1.FilterIndex = 0;
if (openFileDialog1.ShowDialog() == DialogResult.OK)
{
picOld.ImageLocation = openFileDialog1.FileName;
if (File.Exists("c:\\oldpic.jpg")) File.Delete("c:\\oldpic.jpg");
}
}

```

```

File.Copy(openFileDialog1.FileName, "c:\\oldpic.jpg");
textBox1.Text = " ";
}
}
private void btKesme_Click(object sender, EventArgs e)
{
RunMatlabProg("kesmeisleme");
}

private void btEcoliAlan_Click(object sender, EventArgs e)
{
RunMatlabProg("ecolialanveri");
}
private void btEcoliCevre_Click(object sender, EventArgs e)
{RunMatlabProg("ecolicevrever");}
private void btEcoliSayi_Click(object sender, EventArgs e)
{
if (File.Exists("c:\\ecolisayi.txt")) File.Delete("c:\\ecolisayi.txt");
RunMatlabProg("ecolisayisi2");
while (File.Exists("c:\\ecolisayi.txt") == false)
{
}
System.Threading.Thread.Sleep(2000);
StreamReader tr = new StreamReader("c:\\ecolisayi.txt");
textBox1.Text = tr.ReadLine();
}
private void button1_Click(object sender, EventArgs e)
{
ecoliozellikform frm = new ecoliozellikform ();
frm.Show();
this.Hide();
}
private void btGriGoruntu_Click(object sender, EventArgs e)
{RunMatlabProg("GriGoruntu");}

```



```

private void btKonstratArt_Click(object sender, EventArgs e)
{RunMatlabProg("KonstratiArtirma");}
private void btKenarBelirle_Click(object sender, EventArgs e)
{RunMatlabProg("KenarBelirleme");}
private void btFiltreleme_Click(object sender, EventArgs e)
{RunMatlabProg("Filtreleme");}
private void btTersiniAlma_Click(object sender, EventArgs e)
{RunMatlabProg("tersinialma");}
private void btKenarGurultuTemizleme_Click(object sender, EventArgs e)
{RunMatlabProg("kenargurultutemizleme");}
}
}
%.....

```

% ECOLI ÖZELLİK FORM ARAYÜZÜNÜN KODLARI

```

using System;
using System.Collections.Generic;
using System.ComponentModel;
using System.Data;
using System.Drawing;
using System.Text;
using System.Windows.Forms;
using System.IO;
using System.Diagnostics;
namespace ESCHERICHIACOLI_BAKTERISININ_BELIRLENMESI
{
public partial class ecoliozellikform : Form
{
private void RunProg(String StrProgName)
{
System.Threading.Thread.Sleep(1000);
if (File.Exists("c:\\newpic.jpg")) File.Delete("c:\\newpic.jpg");
String strMatlab = "C:\\Program Files\\MATLAB\\R2008a\\bin\\win32\\matlab.exe";
String strArgument = " -r " + StrProgName + " -nodesktop -nojvm -nosplash";

```

```

Process.Start(strMatlab, strArgument);
while (File.Exists("c:\\newpic.jpg") == false)
{
}
System.Threading.Thread.Sleep(2000);
picnew.ImageLocation = "c:\\newpic.jpg";
}
private void RunMatlabProg(String StrProgName)
{
this.Cursor = Cursors.WaitCursor;
ProcessStartInfo startInfo = new ProcessStartInfo();
startInfo.CreateNoWindow = true;
startInfo.UseShellExecute = false;
startInfo.FileName = "C:\\PicsAndProgs\\" + StrProgName + ".exe";
startInfo.WindowStyle = ProcessWindowStyle.Hidden;
if (File.Exists("c:\\newpic.jpg")) File.Delete("c:\\newpic.jpg");
Process exeProcess = Process.Start(startInfo);
while (File.Exists("c:\\newpic.jpg") == false)
{
}
System.Threading.Thread.Sleep(2000);
picnew.ImageLocation = "c:\\newpic.jpg";
this.Cursor = Cursors.Arrow;
}
public ecoliozellikform()
{
InitializeComponent();
}
private void button6_Click(object sender, EventArgs e)
{
RunMatlabProg("soliditybilgi");
}
private void btnResimAl_Click(object sender, EventArgs e)
{

```

```

openFileDialog1.InitialDirectory = "c:\\PicsAndProgs\\";
openFileDialog1.Filter = "jpg files (*.jpg)";
openFileDialog1.FilterIndex = 0;
if (openFileDialog1.ShowDialog() == DialogResult.OK)
{
picOld2.ImageLocation = openFileDialog1.FileName;
}
}
private void button8_Click(object sender, EventArgs e)
{
DETAYLI_ESCHERICHIA_COLI_ARAMA frm = new
DETAYLI_ESCHERICHIA_COLI_ARAMA ();
frm.Show();
this.Hide();
}
private void button9_Click(object sender, EventArgs e)
{
Application.Exit();
}
private void button1_Click(object sender, EventArgs e)
{
RunMatlabProg("cevrebilgi");
}
private void button2_Click(object sender, EventArgs e)
{
RunMatlabProg("alanbilgi");
}
private void button3_Click(object sender, EventArgs e)
{
RunMatlabProg("yuvarlaklikbilgi");
}
private void button4_Click(object sender, EventArgs e)
{
RunMatlabProg("lownessbilgi");
}

```

```

}
private void button5_Click(object sender, EventArgs e)
{
RunMatlabProg("eccentricitybilgi");
}
private void ecoliozellikform_Load_1(object sender, EventArgs e)
{
picnew.BackgroundImageLayout = ImageLayout.Stretch;
}}
%.....

% HIZLI_ESHERICHIA_COLI_ARAMA ARAYÜZÜNÜN KODLARI
using System;
using System.Collections.Generic;
using System.ComponentModel;
using System.Data;
using System.Drawing;
using System.Text;
using System.Windows.Forms;
using System.IO;
using System.Diagnostics;
namespace ESCHERICHIACOLI_BAKTERISININ_BELIRLENMESI
{
public partial class HIZLI_ESHERICHIA_COLI_ARAMA : Form
{
private void RunProg(String StrProgName)
{
System.Threading.Thread.Sleep(1000);
if (File.Exists("c:\\newpic.jpg")) File.Delete("c:\\newpic.jpg");
String strMatlab = "C:\\Program Files\\MATLAB\\R2008a\\bin\\win32\\matlab.exe";
String strArgument = " -r " + StrProgName + " -nodesktop -nojvm -nosplash";
Process.Start(strMatlab, strArgument);
while (File.Exists("c:\\newpic.jpg") == false)
{

```

```

}
System.Threading.Thread.Sleep(2000);
picNew.ImageLocation = "c:\\newpic.jpg";
}
private void RunMatlabProg(String StrProgName)
{
this.Cursor = Cursors.WaitCursor;
ProcessStartInfo startInfo = new ProcessStartInfo();
startInfo.CreateNoWindow = true;
startInfo.UseShellExecute = false;
startInfo.FileName = "C:\\PicsAndProgs\\" + StrProgName + ".exe";
startInfo.WindowStyle = ProcessWindowStyle.Hidden;
if (File.Exists("c:\\newpic.jpg")) File.Delete("c:\\newpic.jpg");
Process exeProcess = Process.Start(startInfo);
while (File.Exists("c:\\newpic.jpg") == false)
{
}
System.Threading.Thread.Sleep(2000);
picNew.ImageLocation = "c:\\newpic.jpg";
this.Cursor = Cursors.Arrow;
}
public HIZLI_ESHERICHIA_COLI_ARAMA()
{
InitializeComponent();
}
private void btResmiAl_Click(object sender, EventArgs e)
{
openFileDialog1.InitialDirectory = "c:\\PicsAndProgs\\";
openFileDialog1.Filter = "jpg files (*.jpg)";
openFileDialog1.FilterIndex = 0;
openFileDialog1.ShowDialog();
picOld1.ImageLocation = openFileDialog1.FileName;
if (File.Exists("c:\\oldpic.jpg")) File.Delete("c:\\oldpic.jpg");
File.Copy(openFileDialog1.FileName, "c:\\oldpic.jpg");
}

```

```

textBox1.Text = " ";
}
private void btExit_Click(object sender, EventArgs e)
{
Application.Exit();
}
private void btBack_Click(object sender, EventArgs e)
{
ESCHERICHIA_COLI_ARAMA frm = new ESCHERICHIA_COLI_ARAMA();
frm.Show();
this.Hide();
}
private void HIZLI_ESHERICHIA_COLI_ARAMA_Load(object sender, EventArgs
e)
{}
private void picOld1_Click(object sender, EventArgs e)
{}
private void btEcoliBul_Click(object sender, EventArgs e)
{
if (File.Exists("c:\\ecolisayi.txt")) File.Delete("c:\\ecolisayi.txt");
RunMatlabProg("ecolisayisi2");
while (File.Exists("c:\\ecolisayi.txt") == false)
{
}
System.Threading.Thread.Sleep(2000);
StreamReader tr = new StreamReader("c:\\ecolisayi.txt");
textBox1.Text = tr.ReadLine();
}
private void btEcoliAlan_Click(object sender, EventArgs e)
{RunMatlabProg("alanbilgi");
}
private void btEcoliCevre_Click(object sender, EventArgs e)
{
RunMatlabProg("cevrebilgi");}}}

```

ÖZGEÇMİŞ

Dilek TOK, 25.06.1983 yılında Kocaeli'nin İzmit ilçesinde doğdu. İlkokul eğitimini Özel Kocaeli Eğitim Vakfı İlköğretim Okulu'nda, ortaöğretimini Ulugazi İlköğretim Okulu'nda ve lise öğrenimini İzmit Süper Lisesi'nde tamamladı. 2001 yılı ÖSS sınavında Kocaeli Üniversitesi Elektronik-Bilgisayar Bölümü, Bilgisayar Öğretmenliğini kazandı. 2005 yılında mezun oldu. 2006 yılında Yüksek Lisans eğitimine Marmara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Mekatronik Anabilimdalında başladı. 2006 yılında yıl içerisinde Gebze Endüstri Meslek Lisesi'nde Bilgisayar Öğretmeni olarak da göreve başladı. Halen görevine devam etmekte ve yüksek lisansını sürdürmektedir.