

**KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

BİLGİSAYAR MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

**İMGE FÜZYON YÖNTEMİNE DAYALI OTOMATİK ODAKLAMA VE YÜKSEK
ÇÖZÜNÜRLÜKLÜ MİKROSKOBİK GÖRÜNTÜLEME SİSTEMİ GELİŞTİRME
YAKLAŞIMI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Bilgisayar Müh. Hülya DOĞAN

**HAZİRAN 2014
TRABZON**

**KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

BİLGİSAYAR MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

**İMGE FÜZYON YÖNTEMİNE DAYALI OTOMATİK ODAKLAMA VE YÜKSEK
ÇÖZÜNÜRLÜKLÜ MİKROSKOBİK GÖRÜNTÜLEME SİSTEMİ GELİŞTİRME
YAKLAŞIMI**

Bilgisayar Müh. Hülya DOĞAN

**Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsünde
"BİLGİSAYAR YÜKSEK MÜHENDİSİ"
Unvanı Verilmesi İçin Kabul Edilen Tezdir.**

**Tezin Enstitüye Verildiği Tarih : 22.05.2014
Tezin Savunma Tarihi : 20.06.2014**

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Murat EKİNCİ

Trabzon 2014

Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü
Bilgisayar Mühendisliği Anabilim Dalında
Hülya DOĞAN tarafından hazırlanan

**İMGE FÜZYON YÖNTEMİNE DAYALI OTOMATİK ODAKLAMA VE YÜKSEK
ÇÖZÜNÜRLÜKLÜ MİKROSKOBİK GÖRÜNTÜLEME SİSTEMİ GELİŞTİRME
YAKLAŞIMI**

**başlıklı bu çalışma, Enstitü Yönetim Kurulunun 27/05/2014 gün ve 1555 sayılı kararıyla
oluşturulan jüri tarafından yapılan sınavda**

YÜKSEK LİSANS TEZİ
olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri

Başkan :Prof. Dr. Ali GANGAL

Üye :Doç. Dr. Murat EKİNCİ

Üye :Doç. Dr. Mustafa ULUTAŞ

Prof. Dr. Sadettin KORKMAZ
Enstitü Müdürü

ÖNSÖZ

Mikroskobik görüntüleme hastalık teşhislerinde en genel kullanılan yöntemler arasında olmakla birlikte, bu süreçte mikroskobik tanının her aşamasının doğru şekilde yapılması hastalıkla mücadele eden pek çok insanın sağlığı için oldukça önemlidir.

Çalışmada otomatik odaklama ve otomatik tarama yapabilen bir motorize sisteme sahip otomatik mikroskobik görüntüleme sistemi geliştirilmiştir. Tasarlanan sistemde kıstas fonksiyonuna dayalı otomatik odaklama yerine imge füzyon yöntemine dayalı yeni bir yaklaşım önerilmiş ve literatürdeki çalışmalarla karşılaştırmalar yapılmıştır. Ek olarak otomatik tarama sürecinde tüm bölgeleri odaklanmış sadece numune alanını kapsayan yüksek çözünürlüklü (panoramik) tek bir görüntü elde etmek amaçlanmış, bunun içinde numune içi/dışı testi yapılarak odaklama kaybedilmeden mikroskobik görüntüler panoramik olarak birleştirilmiştir. Sistem başarısının artırılması için güncel yaklaşımlar ve bu yaklaşımların sisteme olan etkileri araştırılmıştır.

Çalışmalarımnda danışmanlığımı üstlenen değerli hocam Doç. Dr. Murat EKİNCİ'ye ilgi, destek ve tecrübelerinden dolayı teşekkürlerimi borç bilirim. Ayrıca desteklerinden dolayı bölümümüz çalışanlarından tekniker İsmail H. TAŞGIN'a, yüksek lisans eğitimim boyunca sabır, destek ve sevgileriyle yanımda olan eşim R. Özgür DOĞAN'a ve sevgili aileme ve arkadaşlarıma çok teşekkür ederim.

Hülya DOĞAN

Trabzon 2014

TEZ BEYANNAMESİ

Yüksek Lisans Tezi olarak sunduğum “İmge Füzyon Yöntemine Dayalı Otomatik Odaklama ve Yüksek Çözünürlüklü Mikroskopi Görüntüleme Sistemi Geliştirme Yaklaşımı” başlıklı bu çalışmayı baştan sona kadar danışmanım Doç. Dr. Murat EKİNCİ'nin sorumluluğunda tamamladığımı, verileri/örnekleri kendim topladığımı, deneyleri/analizleri ilgili laboratuvarlarda yaptığımı/yaptırdığımı, başka kaynaklardan aldığım bilgileri metinde ve kaynakçada eksiksiz olarak gösterdiğimi, çalışma sürecinde bilimsel araştırma ve etik kurallara uygun olarak davrandığımı ve aksinin ortaya çıkması durumunda her türlü yasal sonucu kabul ettiğimi beyan ederim.22/05/2014

Hülya DOĞAN

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
ÖNSÖZ.....	III
TEZ BEYANNAMESİ.....	IV
İÇİNDEKİLER.....	V
ÖZET.....	VIII
SUMMARY.....	IX
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	X
TABLolar DİZİNİ.....	XIII
SEMBOLLER DİZİNİ.....	XIV
1. GENEL BİLGİLER.....	1
1.1. Giriş.....	1
1.2. Literatür Araştırması.....	2
1.3. Mikroskop ve Kullanımı.....	5
1.3.1. Mikroskop Çeşitleri.....	6
1.3.2. Işık Mikroskobu.....	6
1.3.3. Mikroskop Kısımları ve İşlevleri.....	7
1.3.4. Mikroskopta Numune İnceleme Süreci.....	9
1.3.5. Otomatik Motorize Mikroskop Sistemleri.....	9
1.4. Otomatik Odaklama.....	10
1.4.1. Kıstas Fonksiyonları.....	11
1.4.1.1. Görüntü Farklılaşması Tabanlı Fonksiyonlar.....	11
1.4.1.1.1. Eşiklenmiş Mutlak Gradyan Fonksiyonu.....	11
1.4.1.1.2. Kare Gradyan Fonksiyonu.....	12
1.4.1.1.3. Brenner Fonksiyonu.....	12
1.4.1.1.4. Tenengrad Fonksiyonu.....	12
1.4.1.2. Tepe Yüksekliği ve Çukur Derinliği Tabanlı Fonksiyonlar.....	13
1.4.1.2.1. Görüntü Eşiklenmiş İçerik Fonksiyonu.....	13
1.4.1.2.2. Eşiklenmiş Piksel Sayısı Fonksiyonu.....	13
1.4.1.2.3. Görüntü Gücü Fonksiyonu.....	14
1.4.1.3. Görüntü Kontrastı Tabanlı Fonksiyonlar.....	14
1.4.1.3.1. Varyans Fonksiyonu.....	14

1.4.1.3.2. Normalleştirilmiş Varyans Fonksiyonu.....	14
1.4.1.4. Histogram Tabanlı Fonksiyonlar.....	15
1.4.1.4.1. Uzaklık Fonksiyonu.....	15
1.4.1.4.2. Entropy Fonksiyonu	15
1.4.1.5. Korelasyon Tabanlı Fonksiyonlar	15
1.4.2. Kıstas Fonksiyonu İçin Maksimum/Minimum Noktayı Bulma	16
1.4.3. Farklı Netliklere Sahip İmgelerin Füzyonu.....	17
1.4.3.1. ADD Tabanlı İmge Füzyon Metodu.....	17
1.4.3.2. Farklı Netliklere Sahip Renkli Görüntülerin Füzyonu	20
1.4.3.2.1. RGB Uzayına Dayalı Farklı Netliklerdeki Renkli Görüntülerin Füzyonu	20
1.4.3.2.2. RGB Uzayı ve ADD'ye Dayalı Farklı Netliklere Sahip Renkli Görüntülerin Füzyonu.....	21
1.4.3.2.3. Farklı Renk Uzaylarına ve ADD'ye Dayalı Farklı Netliklere Sahip Renkli Görüntülerin Füzyonu	21
1.4.4. İmge Füzyon Metotları Değerlendirme Kriterleri	22
1.4.4.1. Uzaysal Frekans.....	22
1.4.4.2. Korelasyon Katsayısı.....	23
1.4.4.3. Root Mean Square Error (RMSE)	23
1.4.4.4. Mutual Information (MI).....	23
1.4.4.5. Ortalama Hata (OH)	24
1.4.4.6. Peak Signal Noise Rate (PSNR).....	24
1.5. Otomatik Tarama.....	24
1.5.1. Mikroskobik Görüntüler Üzerinde Netliğin Otomatik Sürdürülmesi.....	24
1.5.1.1. Mikroskobik Görüntülerde Sayısal İyileştirme	25
1.5.1.1.1. Wiener Filtresi	26
1.5.2. Numune Sahası Dışına Çıkılmasının Otomatik Algılanması	28
1.5.2.1. Yapay Sinir Ağları.....	29
1.5.2.1.1. YSA'nın Genel Yapısı.....	29
1.5.2.1.2. YSA Öğrenme Algoritmaları.....	30
1.5.2.1.3. İleri Beslemeli Hata Geri Yayılımlı Öğrenme Algoritması.....	31
1.5.3. Mikroskobik Görüntülerin Panoramik Birleştirilmesi.....	33
1.5.3.1. Özellik Noktası Çıkarma	34
1.5.3.1.1. Harris Köşe Bulma Algoritması	34

1.5.3.1.2. SIFT Özellik Çıkarma Algoritması	35
1.5.3.1.3. SURF Özellik Çıkarma Algoritması	38
1.5.3.2. Özellik Noktası Eşleme	40
1.5.3.3. Eşleştirme Hatalarının Minimize Edilmesi	41
1.5.3.3.1. RANSAC (Random Sample Consensus).....	41
1.5.3.4. Görüntü Birleştirme.....	42
2. YAPILAN ÇALIŞMALAR, BULGULAR VE İRDELEME	43
2.1. Giriş	43
2.2. Mikroskop Motorize Sistem	46
2.3. Kıstas Fonksiyonlarına Dayalı Mikroskopik Görüntülemeye Otomatik Odaklama	54
2.4. İmge Füzyon Yöntemine Dayalı Mikroskopik Görüntülemeye Otomatik Odaklama	56
2.5. Mikroskopik Görüntülerde Otomatik Tarama.....	58
2.6. Mikroskopik Görüntülerde Panoramik Birleştirme.....	60
2.7. Deneysel Sonuçlar ve Karşılaştırmalar	68
3. SONUÇLAR VE TARTIŞMA	82
4. ÖNERİLER	85
5. KAYNAKLAR.....	86
ÖZGEÇMİŞ	

Yüksek Lisans Tezi

ÖZET

İMGE FÜZYON YÖNTEMİNE DAYALI OTOMATİK ODAKLAMA VE YÜKSEK
ÇÖZÜNÜRLÜKLÜ MİKROSKOBİK GÖRÜNTÜLEME SİSTEMİ GELİŞTİRME
YAKLAŞIMI

Hülya DOĞAN

Karadeniz Teknik Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Bilgisayar Mühendisliği Anabilim Dalı
Danışman: Doç. Dr. Murat EKİNCİ
2014, 92 Sayfa

Otomatik mikroskopik görüntüleme sistemleri, hastalıkların ön teşhisi aşamasında hastanın enfeksiyon derecesini ve hastalığın ciddiyetini belirlemede kullanılan önemli bir teknolojidir. Zaman kaybını önlemek için dikkatsiz ya da kısa süreli analiz yapıldığında, numune üzerindeki bakteriler görünmemekte ve yanlış hastalık teşhisi ya da bulgular oluşabilmektedir. Hastalıkların ön teşhis sürecini kısaltan otomatik mikroskopik görüntüleme sistemleri numune analiz süreçlerinde kolaylık ve güvenilirlik sağlamaktadır.

Tez çalışmasında, otomatik odaklama ve otomatik tarama yapabilen yeni bir mikroskopik görüntüleme sistemi gerçekleştirilmiştir. Z ekseninde sıralı görüntülerde maksimum odaklama değerine sahip tek görüntüyü seçmek yerine, mikroskopik görüntülemede otomatik odaklama için farklı netliklere sahip imgelerin füzyonu önerilmiştir. Ek olarak, mikroskopik imgelerin füzyonu için hangi renk kanalının uygun olduğunu ve hangi imge füzyon yönteminin daha iyi sonuç verdiğini ispatlamak için çeşitli değerlendirme kriterleri kullanılmıştır. Tarama sürecinde, X-Y ekseninde ortak alanlara sahip görüntüler görüntü netliği kaybedilmeden ve numune sınırları belirlenerek tüm lens yerine sadece numune alanı taranarak birleştirilmiş yüksek çözünürlüklü (panoramik) görüntü elde edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Kıstas Fonksiyonları, Otomatik Odaklama, Otomatik Tarama, Wiener Filtresi, Yapay Sinir Ağları, Mikroskopik Motorize Sistem, Renkli İmgelerin Füzyonu, Panoramik Görüntü Birleştirme.

Master Thesis

SUMMARY

DEVELOPMENT APPROACH OF MICROSCOPIC IMAGING WITH HIGH
RESOLUTION AND AUTO-FOCUSING BASED ON IMAGE FUSION METHOD

Hülya DOĞAN

Karadeniz Technical University
The Graduate School of Natural and Applied Sciences
Computer Engineering Graduate Program
Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Murat EKİNCİ
2014, 92 Pages

An Automatic microscopic imaging system is an important technology to determine the degree of infection patients and severity of the disease in the process of pre-diagnosis of diseases. When the sample is analyzed in a very short time or without attention to prevent of loss of times, the bacterias on the sample can be not seen, thus misdiagnosed and symptoms can occur. The automatic microscopic imaging system performs this process automatically and provides reliability and simplicity during analyzing of sample.

In this paper, a novel automatic microscopic imaging system with auto-focusing and auto-scanning is implemented. Multi-focus color image fusion is purposed for auto-focusing on microscopic imaging, instead of selecting a single in-focus image with maximum auto-focus function value on the sequential images on the Z axis. Moreover, various evaluation criteria is used to prove which image fusion method is better and which color model is suitable for microscopic image fusion. During scanning process, images with overlapped areas on the X-Y axis are stitched without image sharpness and by scanning only sample region rather than all of slide by detecting border region of sample, and a single image with high resolution (panoramic) is obtained.

Key Words: Auto-Focus Function, Auto-Focusing, Auto-Scanner, Artificial Neural Networks, Microscopic Motorized System, Color Image Fusion, Image Stitching.

ŞEKİLLER DİZİNİ

	<u>Sayfa No</u>
Şekil 1.1. Mikroskop kısımları	7
Şekil 1.2. Otomatik motorize mikroskop sistemi	10
Şekil 1.3. (a) Orijinal görüntü, (b) alt görüntüler	18
Şekil 1.4. Ayırık dalgacık dönüşümü adımları	18
Şekil 1.5. Ayırık dalgacık dönüşümü tabanlı imge füzyon metodu	19
Şekil 1.6. Ters ayırık dalgacık dönüşümü adımları	19
Şekil 1.7. RGB renk uzayına dayalı farklı netliklere sahip renkli görüntülerin füzyon yöntemi	20
Şekil 1.8. RGB renk uzayı ve ayırık dalgacık dönüşümüne dayalı farklı netliklere sahip renkli görüntülerin füzyon yöntemi.....	21
Şekil 1.9. Farklı renk uzaylarına ve ayırık dalgacık dönüşümüne dayalı farklı netliklere sahip renkli görüntülerin füzyon yöntemi	22
Şekil 1.10. Wiener filtresi için bozulma modeli.....	26
Şekil 1.11. Wiener filtresi iyileştirme süreci	27
Şekil 1.12. YSA yapısı için kullanılan görüntüler. Cam tabakanın örüntü yapısı (a), numunenin cam tabaka üzerinde kapsadığı alanın bölgesi(b), numunenin cam tabaka üzerinde kapsadığı alanın bölgesi ile cam tabakanın örüntü yapısı (c)	28
Şekil 1.13. Perseptron yapısı	30
Şekil 1.14. İleri beslemeli hata geri yayımlı öğrenme algoritması.....	31
Şekil 1.15. Özellik noktası etrafındaki 16x16 lık blok ve 4x4 lük bloklar.....	38
Şekil 1.16. Tümlev görüntü elde edilmesi.....	39
Şekil 1.17. 9x9 boyutunda $\sigma = 1.2$ değerli Gauss filtresi kullanılarak elde edilmiş ölçek uzayın en alt seviyesi	40
Şekil 2.1. Sistemin temel işlem adımları	44
Şekil 2.2. (a) Otomatik mikroskop görüntüleme sistemi (b) USB arayüz devresi	45
Şekil 2.3. Butonlarla adım motorlarının hareketini sağlayan baskı devre.....	46
Şekil 2.4. Butonlarla adım motorlarının hareketini sağlayan Proteus da çizilmiş açık devre	47

Şekil 2.5. Bilgisayar ile adım motorlarının hareketini sağlayan USB arayüz devresi.....	48
Şekil 2.6. PIC18F4550 ve pin yapısı	49
Şekil 2.7. Çalışmada kullanılan adım motorları	49
Şekil 2.8. L298 Entegresi	50
Şekil 2.9. USB konnektör	51
Şekil 2.10. Bilgisayar ile adım motorlarının hareketini sağlayan USB arayüz devresinin şemaları	51
Şekil 2.11. Kıstas fonksiyonlarına dayalı otomatik odaklama	54
Şekil 2.12. Aynı Z ekseninde netlikleri farklı görüntüler	55
Şekil 2.13. İmge füzyon yöntemine dayalı otomatik odaklama	56
Şekil 2.14. En yüksek kıstas fonksiyon sonucuna sahip bulanık görüntü	57
Şekil 2.15. İmge füzyon yöntemine dayalı otomatik odaklama akış diyagramı	58
Şekil 2.16. Otomatik tarama akış diyagramı	60
Şekil 2.17. Panoramik görüntü birleştirme adımları	61
Şekil 2.18. Z yönünde bulunmuş odaklanmış görüntü	62
Şekil 2.19. Odaklaması bozulmadan elde edilmiş X-Y yönünde ortak alanlara sahip görüntüler.....	62
Şekil 2.20. (a) Harris köşe bulma algoritması, (b) SIFT ve (c) SURF algoritmaları ile elde edilen özellik noktaları.....	63
Şekil 2.21. (a) Harris köşe bulma algoritması, (b) SIFT ve (c) SURF algoritmaları ile elde edilen özellik noktalarının eşleştirilmesi.....	64
Şekil 2.22. (a) Harris köşe bulma algoritması, (b) SIFT ve (c) SURF algoritmaları ile elde edilen özellik noktalarının RANSAC yöntemi ile minimize edilmesi.....	66
Şekil 2.23. (a) Harris köşe bulma algoritması, (b) SIFT ve (c) SURF algoritmaları elde edilen panoramik görüntüler	67
Şekil 2.24. İmge dizisinin Varyans fonksiyon sonuçları	69
Şekil 2.25. İmge dizilerindeki maksimum Varyans fonksiyon sonucuna sahip görüntüler ve değerleri.....	69
Şekil 2.26. İmge dizisinin Varyans, Entropy ve Tenengrad fonksiyon sonuçları	70
Şekil 2.27. (a) Varyans ve Tenengrad, (b) Entropy fonksiyonları sonuçlarına göre bulunan odaklanmış görüntüler	71
Şekil 2.28. Aynı Z ekseninden alınmış (aynı görüş alanına sahip) imge dizilerin maksimum sonuca sahip görüntüleri ve kıstas fonksiyon sonuçları.....	72

Şekil 2.29. İmge füzyonunda kullanılan görüntülerin kıstas fonksiyon sonuçları	73
Şekil 2.30. RGB ve farklı renk uzayları + ADD tabanlı imge füzyon yöntemlerine dayalı otomatik odaklama ile elde edilmiş görüntüler.....	73
Şekil 2.31. Mikroskop Z ekseninden alınmış aynı görüş alanına sahip görüntüler (a.1, b.1, c.1, d.1, e.1) ve olası bakteri bölgelerinin yakınlaştırılmış hali (a.2, b.2, c.2, d.2, e.2)	75
Şekil 2.32. (a) İmge füzyon yöntemi ile elde edilmiş görüntü ve olası bakteri bölgenin yakınlaştırılmış hali, (b) Referans görüntü ve olası bakteri bölgenin yakınlaştırılmış hali	76
Şekil 2.33. (a) Numune sınır bölgeleri, (b) lamın cam bölgesi, (c) numune bölgesi.....	77
Şekil 2.34. Mikroskop X-Y yönünde ortak alana sahip görüntüler.....	78
Şekil 2.35. (a) Odaklaması bozulmuş görüntü, (b) Z ekseninde platform hareketiyle elde edilmiş odaklanmış görüntü	79
Şekil 2.36. Mikroskop X-Y yönünde alınmış numune örnekleri	79
Şekil 2.37. Şekil 2.36 daki görüntülerin (a) SURF + odaklama korunmadan (b) SURF + odaklanma korunarak gerçekleştirilerek elde edilmiş panoramik görüntüler.....	81

TABLULAR DİZİNİ

	<u>Sayfa No</u>
Tablo 2.1. İmge füzyon yöntemine dayalı otomatik odaklamadan elde edilmiş görüntülerin kıstas fonksiyon sonuçları.....	74
Tablo 2.2. İmge füzyon yöntemine dayalı otomatik odaklamadan elde edilmiş görüntülerin istatiksel sonuçları.....	74
Tablo 2.3. Şekil 2.35 (a) ve 2.35 (b) görüntülerinin kıstas fonksiyon sonuçları	79
Tablo 2.4. Şekil 2.36 (a) ve şekil 2.36 (b) görüntülerinin panoramik birleştirmesi sonucu elde edilen özellik noktalarının karşılaştırılması.....	80

SEMBOLLER DİZİNİ

UF	Uzaysal Frekans
KK	Korelasyon Katsayısı
RMSE	Root Mean Square Error
MU	Mutual Information
OA	Ortalama Hata
PSNR	Peak Signal to Noise Ratio
SIFT	Ölçek değişimsiz Özellik Dönüşümü (Scale Invariant Feature Transform)
SURF	Hızlandırılmış Gürbüz Öznitelikler (Speed up Robust Feature)
RANSAC	Random Sample Consensus
RGB	Kırmızı, Yeşil, Mavi (Red,Green,Blue)
HSV	Hue, Saturation, Value
HSI	Hue, Saturation, Intensity
ADD	Ayrık Dalgacık Dönüşümü
TADD	Ters Ayrık Dalgacık Dönüşümü
YSA	Yapay Sinir Ağları (Artificial Neural Network)
TB	Tüberküloz
ARB	Aside Dirençli Basil (Acid Resistant Bacillus)
ZN	Ziehl-Neelsen

1. GENEL BİLGİLER

1.1. Giriş

Tıbbi görüntüleme, klinik analiz ve tıbbi müdahalede kullanılmak üzere vücudun iç görsel temsillerini oluşturmak için geliştirilmiş teknikler ve süreçlerdir. Röntgen, tomografi, ultrasonografi, mikroskop gibi cihazlar vücudun iç görsel temsilleri hakkında veri kaynakları elde edilmesinin sağlamaktadırlar [1]. Bu cihazların kullanılmasıyla gerçekleştirilen tıbbi görüntüleme, hastalıkların ön tanısında sıkça kullanılmakta ve hastalık tedavilerinde önemli roller üstlenmektedir.

Mikroskobik inceleme süreci hastalıkların ön teşhisi aşamasında hastanın enfeksiyon derecesini ve hastalığın ciddiyetini belirlemektedir [2]. Mikrobiyoloji laboratuvar teknisyenleri mikroskobik inceleme sürecinde numunenin tüm alanını görebilmek için mikroskop görüş alanı kısıtlı olduğundan el-göz kontrolü ile odaklamayı kaybetmeden tarama yapmaktadırlar. Her bir numunenin incelenme süreci oldukça zaman almakta ve bu yüzden laborantın inceleme yaparken hata yapma olasılığı yüksek olmaktadır [3]. Bu süreç esnasında her bir numuneden her bir saha dikkat edilmeden ya da çok kısa sürede incelenirse numune üzerindeki bakteriler gözden kaçabilir ve yanlış teşhis ve bulgular oluşabilmektedir [4].

Bu tez çalışmasında mikroskobik inceleme sürecinin otomatikleştirmesi amaçlanmıştır. Yapılan çalışmada CMOS kamera ile bilgisayara aktarımı sağlanan mikroskobik görüntüler üzerinde adım motoru hareketiyle otomatik odaklama ve tarama yapabilen yeni bir motorize sistem geliştirilmiştir. Öncelikle mikroskop Z ekseninde odaklanmış görüntüyü bulmak için kıstas fonksiyonlarına dayalı otomatik odaklama gerçekleştirilmiştir. Çalışmada kıstas fonksiyonu olarak Varyans, Entropy ve Tenengrad fonksiyonları kullanılmış ve maksimum sonucu sahip görüntüyü bulmak için literatürde kullanılanlardan farklı yeni bir yöntem önerilmiştir. Çalışmada kıstas fonksiyonlarına dayalı otomatik odaklamanın yeterli olmadığı görülmüş ve Z ekseninde en odaklanmış görüntünün bulunduğu garanti edilmesi için imge füzyon yöntemlerine dayalı otomatik odaklama işlemi gerçekleştirilmiştir. İmge füzyon yöntemlerine dayalı otomatik odaklama işlemi sırasında farklı renk modellerine dayalı görüntü birleştirme teknikleri kullanılmıştır. Çalışmada farklı renk uzaylarına dayalı imge füzyon yöntemleri ile elde edilmiş ve kıstas

fonksiyonuna dayalı otomatik odaklama ile elde edilmiş odaklanmış görüntüleri karşılaştırma ölçütleri olarak Uzaysal Frekans, Korelasyon Katsayısı, RMSE, Mutual Information, Ortalama Hata ve PSNR algoritmaları kullanılmıştır. Otomatik odaklamanın gerçekleştirilmesinden sonraki aşamada mikroskop tablası adım motorları yardımıyla X-Y yönünde sağ-sol, yukarı-aşağı hareket ettirilerek otomatik tarama süreci başlatılmıştır. Otomatik tarama süreci boyunca X-Y ekseninde görüntüler arası odaklama bozulmasının tespiti için kıstas fonksiyonları kullanılmıştır. Tespit edilen görüntü bozulmalarının iyileştirilmesi için Wiener Filtresi kullanılmış, sayısal iyileştirmenin yeterli olmadığı durumlarda ise Z eksenindeki adım motoru hareket ettirilerek iyileştirme yapılmıştır. Ek olarak tarama sürecinde numune sahası dışına çıkıldığının otomatik algılanması ise çok katmanlı Yapay Sinir Ağına dayalı saha alanı içi/dışı yorumu ile gerçekleştirilmiştir. Mikroskopik görüntülerin panoramik birleştirilmesi sürecinde Z ekseninde meydana gelen değişimlerden dolayı görüntülerin birleştiği yerlerde dikişler ve bulanıklıkların olduğu belirlenmiştir. Bu çalışmada ise bulanıklıkların minimize edilmesi ve dikiş izlerinin yok edilmesi amaçlanmış ve yeni bir yaklaşım önerilmiştir. Panoramik birleşecek olan mikroskopik görüntüler odaklanmaları kaybedilmeden birleştirilmiştir. Çalışmada kullanılan panoramik görüntü birleştirme aşamaları şu şekildedir: İlk olarak Harris köşe bulma algoritması, SIFT (Scale Invariant Feature Transform) ve SURF (Speed up Robust Feature) özellik çıkarma algoritmaları kullanılarak görüntülerin özellik noktaları çıkarılmıştır. Çıkarılan özellik noktaları arasında Çapraz Korelasyon ve Öklid Uzaklığı kullanılarak eşleme yapılmış, RANSAC (Random Sample Consensus) yöntemi kullanılarak yanlış eşleştirmeler minimize edilmiş ve görüntüler arasında model oluşturmuştur. Son olarak da oluşturulan modele göre mikroskop X-Y yönünde ortak bölgelere sahip mikroskopik görüntüler birleştirilmiştir.

1.2. Literatür Araştırması

Literatürde mikroskop üzerinde X-Y-Z düzlemlerinde otomatik odaklama ve tarama yapabilen motorize sistem, otomatik odaklama, otomatik tarama, mikroskopik imgelerin füzyonu ve mikroskopik görüntülerde panorama için yapılan birçok çalışma bulunmaktadır. İncelenen konularla alakalı bütün yayınların burada irdelenmesi olanaksız olduğundan, yakın zamanda gerçekleştirilmiş olanlardan bazılarına değinmek faydalı olacaktır.

Song (2006) ve arkadaşlarının gerçekleştirdiği çalışmada step motoru kullanılarak mikroskop tablasını Z ekseninde hareket ettirebilen bir sistem kullanılmıştır [5]. Bu çalışmada literatürde sıkça kullanılan piksel tabanlı odaklama fonksiyonları yerine SUSAN (Smallest Univalued Segment Assimilating Nucleus) tabanlı netlik fonksiyonu önerilmiştir.

Tang (2008) ve arkadaşları step motoru ve denetleyici kullanarak mikroskop Z ekseninde otomatik odaklamayı sağlayan bir sistem geliştirmişlerdir [6]. Mikroskop Z ekseninden kamerayla aktarılan görüntülerin odaklamasını değerlendirmek için Laplacian algoritmasını kullanmışlardır. Yapılan çalışmada ilk olarak USB porttan kamera ile sayısala aktarılan görüntü alınmış ve Laplacian sonucu hesaplanmıştır. Step motor hareket ettirilerek yeni görüntü alımı sağlanmış, alınan görüntü ile önceki görüntünün fonksiyon sonuçları karşılaştırılmıştır. Maksimum sonuca ulaşana kadar step motor hareket ettirilmiş, görüntü fonksiyon sonuçları karşılaştırılmış ve odaklanmış görüntü bulunmuştur.

Gang (2010) ve arkadaşları düşük maliyetli, kullanımı kolay, küçük boyutlu bir odaklama sistemi geliştirebilmek için step motor, oküler kamera ve PC den oluşan bir dijital mikroskopik görüntüleme platform entegrasyonu oluşturmuşlardır [7]. Bu çalışmada oküler kamera ile PC ye aktarılan görüntü dizisinin odaklama değerlendirmesi olarak Varyans fonksiyonu kullanmışlardır. Maksimum sonuca sahip görüntüyü bulmak için ilk arama - son arama olarak iki gruba sahip Global Arama Stratejisi kullanmışlardır. Böylece klasik arama metodu yerine yeni bir metot geliştirmişlerdir.

Guojin (2010) ve arkadaşları motor kontrol bordu kullanarak mikroskop Z ekseninde step motor hareketiyle otomatik odaklama yapabilen sistem geliştirmişlerdir [8]. Mikroskopik görüntülerin kenar bilgilerini kullanarak odaklama ölçütü yapmışlardır, bunun için görüntü Enerji fonksiyonu ve Dalgacık Dönüşümü tabanlı yeni bir odaklama fonksiyonu geliştirmişlerdir.

Hamm (2010) ve arkadaşları Boosted öğrenme ve Haar özelliklerini kullanarak içerik tabanlı yeni bir odaklama fonksiyonu geliştirmişlerdir [9]. Geliştirilen yöntemde ilk olarak mikroskop Z ekseninde rastgele görüntü alımı yapılmış ve odaklanmış görüntü objeleri tespit edilmiştir. Odaklanmış objelerin önsel bilgilerine göre görüntülerin odaklama bilgisi kontrol edilmiştir.

Liu (2011) ve arkadaşları yaptıkları çalışmada zaman uzayında yeni bir odaklama yöntemi geliştirmişlerdir [10]. İlk olarak Gradyan fonksiyonu ve yerel eşik değeri kullanılarak görüntü kenar bilgileri elde edilmiştir. Daha sonra görüntü etkisini azaltmak

için global eşik değeri kullanılmıştır. Son olarak da odaklama değerlendirmesi için normalize edilmiş eğri elde edilmiştir.

Hatiboglu (2004) ve arkadaşları piyasadaki mikroskoplara uygun, basit, ucuz ve programlama ile hareket edebilen bir mikroskop tablası üretmişlerdir [11]. Tabla hareketlerinin kontrolü iki adet servo-motor ve Java tabanlı görüntü işleme yazılımı üzerinden kontrol devresi ile gerçekleştirilmiştir.

Huang (2009) ve arkadaşları motorize lineer tabla yerine step motor kullanarak yeni bir otomatik mikroskop sistemi geliştirmişlerdir [12]. Step motor torku ve hızı klasik kontrol metotları ile kontrol edildiğinde yoğun dalgalanma olduğundan, bu çalışmada L6506 step motor kontrol yongası kullanılarak hibrit step motor sürücü modülü geliştirilmiş ve bu modül tabanlı sistem gerçekleştirilmiştir.

Bin Ma (2007) ve arkadaşları alt görüntülerin birleştiği yerlerin belli olmadığı bir panoramik mikroskop görüntüsü elde etmek için fotoğrafçılıkta kullanılan Autostitch uygulamasını kullanmışlardır [13]. İlk olarak bu uygulamayı ışıklı mikroskoptan manual olarak aldıkları görüntüler ile deneyip, sonuçları Paint Shop Pro programı ile karşılaştırmışlardır. Daha sonra bu uygulamayı otomatik mikroskop ile alınmış görüntü kümesi üzerinde uygulamışlardır. Panoramik görüntü sonucu ImageJ de entegre edilmiş kendi kendine programlanabilen uygulamadaki sonuç ile karşılaştırılmıştır. Son olarak bu uygulamayı elektron mikroskoptan alınan görüntüler üzerinde denemişlerdir.

Steckhan (2008) ve arkadaşları tüm numuneyi kapsayan sanal lens oluşturabilmek için global kayıt tabanlı Ağırlıklandırılmış Küçük Kareler Yöntemi ve Faz Korelasyon tabanlı yeni bir yöntem önermişlerdir [14]. Literatürde kullanılan panoramik görüntü birleştirme metotları değerlendirme ölçütleri yerine her görüntünün kesin konumunun bilindiği sentetik lens tabanlı değerlendirme ölçütlerini kullanmışlardır.

Yongwei (2009) ve arkadaşları mikroskobik görüntülerin panoramik olarak birleştirilmesi için özellik noktası bulma, özellik noktası karşılaştırma ve görüntü birleştirme adımlarını gerektiren özellik tabanlı panoramik görüntü birleştirme yöntemi kullanmışlardır [15]. Bu çalışmada özellik noktalarını bulmak için SIFT (Scale Invariant Feature Transform) özellik bulma yöntemi, özellik noktalarının karşılaştırılması için Öklid uzaklığı ve son aşamada panoramik görüntü elde etmek için RANSAC (Random Sample Consensus) metodu kullanılmıştır.

Kaynig (2010) ve arkadaşları panoramik mikroskobik görüntü elde edebilmek için elektromanyetik lenslerden dolayı kaynaklanan lineer olmayan mikroskobik görüntü

bozulmalarını minimize edebilen kalibrasyon tabanlı yeni bir yöntem önermişlerdir [16]. Çalışmada geliştirilen metot, eşleşmiş noktalarını kullanarak ortak bölgesi olan görüntülerden bozulumu ayırt edebilmiştir. Bunun için diğer yöntemlerde panoramik işlemin son kısmında gerekli olan görüntüler arası dönüşüm işlemine gerek kalmamış ve görüntülerin orijinal halleri korunmuştur.

Wortmann (2010) çalışmasında ışık ve elektron mikroskopunda panoramik görüntü elde edebilmek için farklı alanlarda panoramik görüntü birleştirme için kullanılan yeni metotları denemiştir [17]. Çalışmada görüntü odaklama kriteri olarak SIFT ve SURF yöntemleri kullanılmış ve çeşitli test senaryoları üzerinde durulmuştur.

Yang (2013) ve arkadaşları görüntü özellik noktalarını bulmak için kullanılan SURF algoritmasını geliştirerek panoramik görüntü oluşturmak için yeni bir metot geliştirmişlerdir [18]. Bu çalışmada ilk olarak görüntü özellik noktalarının daha belirgin olması için histogram eşitleme yöntemi kullanılarak görüntü kontrastı iyileştirilmiştir. Daha sonra iyileştirme işlemi yapılmış görüntüler üzerinde faz korelasyon kullanılarak kabaca çakışan bölgeler bulunmuştur. Çakışan bölgelere SURF metodu uygulanarak görüntülerin özellik noktaları tespit edilmiştir.

Zhang (2013) ve arkadaşları tüm numune alanına sahip tek bir mikroskopik görüntü elde etmek için yerel özellik tabanlı yeni bir metot geliştirmişlerdir [19]. Bu çalışmada görüntü özellik noktaları Integral Image yöntemi kullanılarak bulunmuştur. Ek olarak bulunan yerel özellik noktaları geometri özellikleri kullanılarak eşleştirilmiş ve yanlış eşleşen özellik noktaları RANSAC metodu kullanılarak minimize edilmiştir.

Piccinini (2013) ve arkadaşları otomatik olamayan mikroskoplarda panoramik görüntü oluşturabilmek için bir uygulama geliştirmişlerdir [20]. Gerçekleştirilen uygulama sadece görsel bilgi tabanlıdır, çevrimiçi olarak kullanılabilmekte ve MicroMos adında açık kaynak olarak dağıtılmaktadır.

1.3. Mikroskop ve Kullanımı

Mikroskop gözle görülemeyen küçük nesnelere objektif ve oküler adı verilen mercek sistemiyle ayrıntılı bir şekilde incelenebilecek kadar büyütme sağlayan araçlardır. Mikroorganizmalar 0,1-10 mikrometre boyunda olup gözle görülemeyecek kadar küçük canlılardır. İnsan gözü ise 200-250 mikrometreden yukarısını görebilmektedir. Bundan

dolayı mikroorganizmaları görmek ve bunlar hakkında bilgi sahibi olmak için büyütme aleti kullanma zorunluluğu olmuştur ve bu amaçla mikroskop geliştirilmiştir.

Çıplak gözle görülemeyen küçüklükteki canlıları gözle görülür hale getiren ve onların ayrıntılı bir şekilde incelenmesine olanak sağlayan mikroskoplar günümüzde modern bilimin birçok dalında tanı ve araştırma amacıyla kullanılmaktadır.

1.3.1. Mikroskop Çeşitleri

İncelenecek numunenin çeşidine ve kullanım alanlarına göre çeşitli mikroskop tipleri bulunmaktadır. Genel olarak mikroskop çeşitleri şu şekildedir:

- Işık Mikroskobu
- Karanlık Saha Mikroskobu
- Faz - Kontrast Mikroskobu
- Nomarski Görüntülemesi
- Flüorans Mikroskobu
- Ters (Inverted) Mikroskop
- Konfokal Mikroskop
- Elektron Mikroskobu
- Transmisyon Elektron Mikroskobu (TEM)
- Taramalı (Scanning) Elektron Mikroskobu (SEM)

Yapılan çalışmada ışıklı mikroskop kullanıldığı için sadece bu mikroskop çeşidi hakkında bilgi verilecektir.

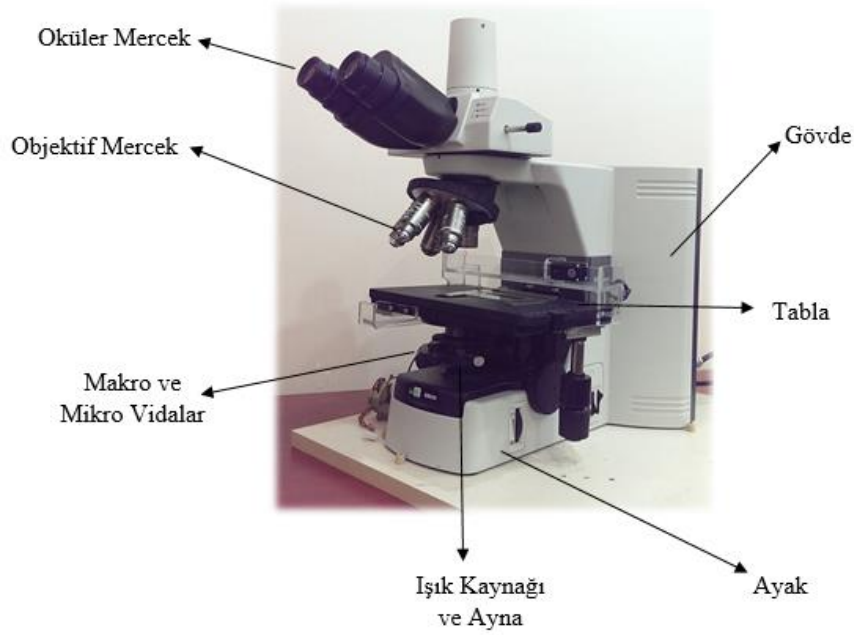
1.3.2. Işık Mikroskobu

Büyültücü eleman olarak kullanılan merceklerle birlikte görünür ışığın kullanıldığı mikroskop çeşididir. Genellikle mikrobiyoloji laboratuvarlarında mikroorganizmaların incelenmesi için kullanılan bu mikroskop türünün büyütme oranı yaklaşık 40-3000 kat arasındadır.

1.3.3. Mikroskop Kısımları ve İşlevleri

Basit bir ışık mikroskobu genel olarak üç kısımdan oluşmaktadır:

- Mekanik kısım
- Aydınlatma kısmı
- Optik kısım



Şekil 1.1. Mikroskop kısımları

➤ Mekanik Kısım

Aydınlatma ve optik kısmın taşıyıcısı olan, dayanıklı metalden yapılmış gövdeden oluşan ve tüp, kol, tabla, ayak, makro ve mikro vidalardan meydana gelen kısımdır.

Tüp: Genellikle 160 mm uzunluğundadır. Bazı mikroskoplarda iki tanede bulunabilir.

Kol: Mikroskobu taşımak için kullanılan bu kısım, mikroskobu tutmaya yaramaktadır.

Tabla: Üzerine incelenecek preparatın yerleştirildiği, ortası gelen ışığı geçirmek için delik olan metal kısımdır. Tabla üzerinde incelenecek preparatı tutan, yatay ekseninde öne ve arkaya, sağa ve sola hareket etmesini sağlayan bir mekanizma bulunmaktadır. Bu

mekanizma hareket ettirilerek preparatın çeşitli bölgeleri objektifin altına getirilebilmekte ve istenen bölge rahatça incelenebilmektedir.

Ayak: Mikroskobun yere oturmasını ve dik durmasını sağlayan kısımdır.

Makro ve Mikro Vidalar: Mikroskopta incelenecek olan preparatın net bir şekilde görüntülenebilmesi için tabla ile objektifin birbirine yakınlaştırılıp uzaklaştırılarak ayar yapmak gerekmektedir. Makro ayar vidası preparat görüntüsünün yakalanması için kullanılırken mikro ayar düğmesi preparat görüntüsünün netleştirilmesi için kullanılmaktadır.

➤ Aydınlatma Kısmı

İncelenecek olan numuneyi aydınlatmak için ışık kaynağı, bu ışığı yansıtan ayna, ışığı üzerinde toplayan kondansör ve diyaframdan oluşan kısımdır.

Işık Kaynağı: Mikroskop üzerindeki incelenecek olan numunenin aydınlatılması için kullanılan, mikroskobun içine ya da dışına monte edilen ve genelde elektrikle çalışan aydınlatma kaynağıdır.

Ayna: Mikroskop üzerine monte edilmiş, kondansör altında bulunan ve ışık kaynağından gelen ışığı kondansöre yansıtmaya yarayan araçlardır. Mikroskoplarda kullanılan aynaların bir yüzü düz, diğer yüzü ise çukur aynadır. Çukur olan tarafı kaba numunelerin incelenmesinde, düz olan tarafı ise yüksek büyütme objektiflerde kullanılmaktadır.

Kondansör: Işık kaynağından gelen ışığı toplayıp tabla deliğinden geçirerek, numunenin okülerden daha iyi gözükmesi için ışığı numunenin üstüne düşüren araçlardır.

Diyafram: Işık kaynağından kondansöre gelen ışığın az ya da fazla oranda iletilmesini sağlayan araçlardır. Kondansörün altında yer almakta ve kondansöre gelen ışığın miktarını ayarlamakta kullanılmaktadır.

➤ Optik Kısım

Tabla üzerinde incelenecek numuneden büyütülmüş bir görüntü almak için kullanılan, oküler ve objektiflerden oluşan kısımdır.

Oküler: Mikroskop tüpünün üst kısmında bulunan, objektiften gelen görüntüyü daha da büyütüp göze ileten mercek sistemidir. Mikroskop tüpünün gözle bakılan kısmı olarak da bilinmektedir. Mikroskoplar sahip oldukları oküler sayısına göre çeşitlere ayrılmaktadırlar. Tek okülere sahip olanlara monooküler mikroskop, çift okülere sahip olanlara ise binooküler mikroskop denilmektedir.

Objektifler: Mikroskop tüpünün alt kısmında dönen bir tabla üzerinde takılı olarak bulunan, mikroskopta incelenecek olan numunenin b y lt lmesini sağlayan mercek sistemleridir. Tablaya büyütme sırasına göre sıralanmış olup bir mikroskopta yaklaşık dört ya da beş tane bulunmaktadır. Objektiflerin üzerinde büyütme oranlarını gösteren 10x, 40x, 90x, 100x gibi rakamlar bulunmaktadır. Objektifler büyütme oranlarına göre küçük büyütmeli (kuru) objektifler (10x), orta büyütmeli (kuru) objektifler (40x) ve immersiyon objektifi (90x, 100x) olmak üzere üç gruba ayrılmaktadırlar.

1.3.4. Mikroskopta Numune İnceleme Süreci

Mikrobiyoloji laboratuvar teknisyenlerinin mikroskop üzerine yerleştirilen numune üzerinde bakteri analiz süreci yaparken izledikleri adımlar şu şekildedir: İlk olarak mikroskop kaynağı açılarak diyafram ile preparat üzerine gelen ışık ayarlanır. Sonra incelemek için hazırlanan preparat tablanın üzerine yerleştirilir. Preparat ve objektifin birbirine yaklaştırılması için makro ayar vidasını hareket ettirilir. Makro ayar vidası yavaş yavaş hareket ettirilirken aynı zamanda incelenecek numune okülerden görmeye çalışılır. İncelemek için g r nd ğu zaman mikro ayar vidası ile netleştirme işlemine gerçekleştirilir. Netleştirme işleminden sonra numune üzerindeki tabla sağ-sol, yukarı-aşağı hareket ettirilerek bakteri analizi için tarama işlemine başlanır.

1.3.5. Otomatik Motorize Mikroskop Sistemleri

Otomatik motorize mikroskop sistemleri mikrobiyoloji laboratuvar teknisyenlerinin el-göz kontrolüyle yaptıkları Bölüm 1.3.4' te anlatılan mikroskopta numune inceleme sürecini otomatikleştirmek için tasarlanmıştır. Bu sistemler sağlık ve biyoloji alanlarında hastalık teşhis süreçlerinde, endüstriyel uygulamalarda ise ürün kontrol aşamalarında yaygın olarak kullanılmaktadır.



Şekil 1.2. Otomatik motorize mikroskop sistemi

Şekil 1.2' deki otomatik motorize mikroskop sistemleri incelenen numune görüntülerini bilgisayar ortamına taşımak için kullanılan bir CCD veya CMOS kamera, X-Y-Z yönlerinde herhangi bir çeşit motor yardımıyla hareket ettirilebilen motorize tabla, tabla hareketlerini bilgisayar tarafından yönetmek için kontrol birimi ve kullanıcıya mikroskop yönetimini ve kontrolünü sağlayan yazılımdan oluşmaktadır.

1.4. Otomatik Odaklama

Mikroskop üzerine yerleştirilen kamerayla sayısala aktarılan görüntülerden en uygun odaklamaya sahip olanı otomatik belirlemek imge dizelerinin görüntü işleme süreçlerinde hem kolaylık hem de güvenilirlik sağlayacaktır [21]. Mikroskobun Z ekseninde optimum odaklamanın otomatik başarımı imge dizilerinde çeşitli gürültü ve bozulumların minimize edilmesinde önemli gereksinimlerden biridir. Odaklanmış görüntüler odaklanmamış görüntülere göre daha çok bilgi ve detay içerdiklerinden, bakteri analiz süreçlerinde odaklanmanın otomatik belirlenmesi hem bakteri tanıma başarısını artıracak hem de daha doğru teşhis konmasına katkı sağlayacaktır. Mikroskoplarda ince kenarlı mercekler kullanılır. İnce kenarlı merceklerde odak noktasında duran görüntü en odaklanmış görüntüdür [22]. Mikroskopta odak uzaklığı hakkında herhangi bir bilgi olmadığından mikroskop Z ekseninde hangi görüntünün net olduğu odak uzaklığı yardımıyla belirlenemez. Odak uzaklığı bilgisine ihtiyaç duymadan mikroskop Z ekseninde otomatik odaklama yapabilmek için kıstas fonksiyonları kullanılmaktadır. Kıstas fonksiyonları art

arda alınmış aynı görüş alanına sahip imge dizisindeki her imge hakkında bir değer elde edilmesini sağlar ve kıstas fonksiyon değerlerine göre alınan imge dizisinde hangi görüntünün odaklanmış olduğuna karar verilir [23 - 25].

1.4.1. Kıstas Fonksiyonları

Kıstas fonksiyonları görüntünün sahip olduğu bilgi ve detaylar hakkında bir değer elde edilmesini sağlamaktadırlar. Birçok kıstas fonksiyon çeşidi bulunmakta ve kıstas fonksiyon seçiminde bazı özelliklere dikkat edilmesi gerekmektedir [24, 26].

1. Görüntüde var olan değerler hakkında doğru değer vermelidir.
2. Art arda takip edilen görüntülerde odaklanmış olan görüntü bulunduğunda minimum ya da maksimum sonuç üretmeli ve bu sonucun her iki yanında monoton bir artma ya da azalma olmalıdır.
3. Otomatik odaklamanın hızlı yapılmasına imkân tanınmalıdır.

Literatürde bulunan kıstas fonksiyonları; (1) görüntü farklılaşması, (2) tepe yüksekliği ve çukur derinliği, (3) görüntü kontrastı, (4) histogram ve (5) korelasyon tabanlı olmak üzere beş gruba ayrılmaktadır [22]. Aynı görüş alanına sahip imge dizisinde, kullanılan fonksiyon çeşidine göre kıstas fonksiyon sonucu minimum ya da maksimum olan görüntü en odaklanmış olarak kabul edilir [27, 28].

1.4.1.1. Görüntü Farklılaşması Tabanlı Fonksiyonlar

Odaklanmamış görüntülerde koyu ve parlak objeler arasındaki geçişler genelde hafif olmaktadır. Yani objelerin kenar karakteristikleri tam belirgin değildir. Aynı görüş alanına sahip art arda alınmış görüntülerden maksimum görüntü farklılaşması tabanlı fonksiyon sonucuna sahip olan odaklanmış görüntü olarak kabul edilir. Görüntü farklılaşması tabanlı fonksiyonlar dört farklı gruba ayrılmaktadır.

1.4.1.1.1. Eşiklenmiş Mutlak Gradyan Fonksiyonu

$$F = \sum_M \sum_N |f(i, j + 1) - f(i, j)| \quad (1.1)$$

$$|f(i, j + 1) - f(i, j)| \geq T$$

F iki piksel arasındaki farkın eşik değerinden büyük olduğu sürece hesaplanır. Formül (1.1) de $f(i, j)$ değeri (i, j) koordinatındaki pikselin gri seviye değerini göstermektedir.

1.4.1.1.2. Kare Gradyan Fonksiyonu

$$F = \sum_M \sum_N |f(i, j + 1) - f(i, j)|^2 \quad (1.2)$$

$$|f(i, j + 1) - f(i, j)| \geq T$$

F değerinin iki piksel arasındaki farkın eşik değerinden büyük olduğu sürece hesaplanmasından dolayı bir önceki fonksiyona benzemektedir, fakat bu fonksiyonda daha büyük gradyan sonucu bulmak amaçlanmaktadır.

1.4.1.1.3. Brenner Fonksiyonu

$$F = \sum_M \sum_N |f(i, j + 2) - f(i, j)|^2 \quad (1.3)$$

$$|f(i, j + 1) - f(i, j)| \geq T$$

Brenner tarafından 1971 de önerilen bu yöntemde, iki piksel arasındaki farkın eşik değerinden büyük olduğu sürece F değeri iki birim uzakta bulunan iki pikselin gri seviye değerleri arasındaki farkın karesi alınarak hesaplanmaktadır.

1.4.1.1.4. Tenengrad Fonksiyonu

$$F = \sum_M \sum_N g(i, j)^2 \quad (1.4)$$

$$g(i, j) = f_x^2(i, j) + f_y^2(i, j)$$

Tenebaum tarafından önerilmiş, Yeo ve Krotkov tarafından geliştirilmiş olan bu yöntemde, $g(i, j)$ gradyan büyüklüğü, $f_x^2(i, j)$ ve $f_y^2(i, j)$ ise görüntünün sobel fonksiyonu ile konvelüsyon edilmiş halleridir.

1.4.1.2. Tepe Yüksekliği ve Çukur Derinliği Tabanlı Fonksiyonlar

Görüntülerde odaklanma ölçütlerini belirlerken kullanılan bir diğer yöntem ise görüntüdeki tepe yükseklikleri ve çukur derinlikleridir. Tepe yüksekliği ve çukur derinliği tabanlı fonksiyonlar 3 farklı gruba ayrılmaktadır.

1.4.1.2.1. Görüntü Eşiklenmiş İçerik Fonksiyonu

$$F = \sum_M \sum_N f(i, j) \quad (1.5)$$

$$f(i, j) \geq T$$

Groen tarafından 1985 de önerilmiş olan bu yöntemde, F değeri $f(i, j)$ piksel değerlerinin T eşik değerinden büyük olduğu sürece toplanmasıyla elde edilmektedir.

1.4.1.2.2. Eşiklenmiş Piksel Sayısı Fonksiyonu

$$F = \sum_M \sum_N s[f(i, j), T] \quad (1.6)$$

$$s[g(i, j), T] = \begin{cases} 0, & f(i, j) \geq T \\ 1, & f(i, j) < T \end{cases}$$

Groen tarafından 1985 de önerilmiş olan bu yöntemde, T eşik değerinden küçük olan $f(i, j)$ piksel değerlerinin sayısı hesaplanmaktadır.

1.4.1.2.3. Görüntü Gücü Fonksiyonu

$$F = \sum_M \sum_N f(i, j)^2 \quad (1.7)$$

$$f(i, j) \geq T$$

Bu yöntemde F değeri $f(i, j)$ piksel değerlerinin T eşik değerinden büyük olduğu sürece karelerinin toplanmasıyla elde edilmektedir.

1.4.1.3. Görüntü Kontrastı Tabanlı Fonksiyonlar

Odaklanmış görüntüler odaklanmış görüntülere göre daha fazla gri ton farklılıklarına sahiptir. Bu yüzden görüntünün odaklanma ölçütlerini karakterize ederken kullanılan bir diğer özellik ise görüntü kontrastıdır. Görüntü kontrastı tabanlı fonksiyonlar iki farklı gruba ayrılmaktadır.

1.4.1.3.1. Varyans Fonksiyonu

$$F = \frac{1}{MN} \sum_M \sum_N [g(i, j) - \bar{g}]^2 \quad (1.8)$$

Groen tarafından önerilen bu yöntem $M \times N$ boyutlu görüntü piksellerin varyans değerini hesaplamaktadır. Formül (1.8) de $g(i, j)$ görüntü piksellerinin gri seviye değerlerini, \bar{g} ise görüntü piksellerinin gri seviye değerlerinin ortalamasını göstermektedir.

1.4.1.3.2. Normalleştirilmiş Varyans Fonksiyonu

$$F = \frac{1}{MN\bar{g}} \sum_M \sum_N [g(i, j) - \bar{g}]^2 \quad (1.9)$$

Bu fonksiyon farklı görüntüler arasında ortalama görüntü parlaklığındaki farklılıkları dengelemektedir.

1.4.1.4. Histogram Tabanlı Fonksiyonlar

Histogram bir görüntüdeki her bir gri seviyesinin o görüntüde var olma sayısını göstermektedir. Odaklanmamış görüntülerde gri seviye değerleri genelde tek bir değere doğru yönelmişlerdir. Yani odaklanmış görüntülerde odaklanmamış görüntülere göre daha fazla sayıda gri seviye değeri bulunmaktadır. Histogram tabanlı fonksiyonlar iki farklı grupta incelenmektedir.

1.4.1.4.1. Uzaklık Fonksiyonu

$$F = I_{\max} - I_{\min} \quad (1.10)$$

$$N(I_{\max}) > 0, N(I_{\min}) > 0$$

Bu fonksiyonda I_{\max} görüntüdeki maksimum gri seviyeye sahip pikseli, I_{\min} görüntüdeki minimum değere sahip pikseli ve N ise piksel sayısını ifade etmektedir.

1.4.1.4.2. Entropy Fonksiyonu

$$F = - \sum_k p_k \log_2 p_k \quad (1.11)$$

Bu fonksiyonda hesaplanan F değeri görüntünün sahip olduğu bilgi ve detaylar hakkında bir değer elde edilmesini sağlamaktadır.

1.4.1.5. Korelasyon Tabanlı Fonksiyonlar

Vollath görüntünün odaklanma ölçütünü karakterize etmek için otokorelasyon (1.12) ve standart sapma (1.13) fonksiyonlarını geliştirmiştir.

$$F = \sum_{i=1}^{M-1} \sum_{j=1}^N f(i, j) f(i + 1, j) - \sum_{i=1}^{M-2} \sum_{j=1}^N f(i, j) f(i + 2, j) \quad (1.12)$$

$$F = \sum_{i=1}^{M-1} \sum_{j=1}^N f(i, j) f(i + 1, j) - MN\bar{g}^2 \quad (1.13)$$

1.4.2. Kıstas Fonksiyonu İçin Maksimum/Minimum Noktayı Bulma

Kıstas fonksiyonları art arda alınmış aynı görüş alanına sahip imge dizisindeki her imge hakkında bir değer elde edilmesini sağlamaktadır. Seçilen kıstas fonksiyonuna göre alınan imge dizisindeki maksimum ya da minimum sonuca sahip olan görüntünün odaklanmış olduğu kabul edilmektedir [29]. Literatürde maksimum ya da minimum noktayı bulmak için iki metot önerilmiştir [27, 28]. Bunlardan biri global arama metodudur. Global arama metodunda ilk olarak mikroskop tablası Z ekseninde hareket ettirilerek aynı görüş alanına sahip görüntüler alınır. Alınan görüntülerin kıstas fonksiyon sonuçları hesaplanır ve sonuçlar kaydedilir. Seçilen kıstas fonksiyon çeşidine göre kaydedilen sonuçlardan maksimum ya da minimum olan bulunarak tabla o görüntünün bulunduğu konuma getirilir ve odaklanmış görüntü bulunmuş olur. Global arama metodunun dezavantajı Z ekseninde alınan bütün görüntülerin kıstas fonksiyon sonuçlarının tek tek hesaplanmasının çok zaman ve bellek gerektirmesidir. Literatürde kullanılan bir diğer metot ise tepe tırmanma algoritmasıdır. Tepe tırmanma algoritmasında ilk olarak mikroskop tablası Z ekseninde hareket ettirilerek görüntü alımı gerçekleştirilir. Alınan her görüntünün kıstas fonksiyon sonucu bir önceki görüntünün sonucuyla karşılaştırılır ve fark pozitif olduğu sürece görüntü alınmaya devam edilir. Fark negatif olduğu zaman tabla o pozisyonda tutulur ve o pozisyondaki görüntünün odaklanmış olduğu kabul edilir. Tepe tırmanma algoritmasının dezavantajı ise alınan görüntü sonuçlarında yerel maksimum noktaları olduğu zaman algoritmanın yanlış sonuç vermesidir.

Bu çalışmada ise mikroskop Z ekseninde odaklanmış görüntüyü bulurken bu metotlar dışında bir metot geliştirilmiştir. Geliştirilen algoritmanın adımları şu şekildedir: (1) İlk olarak mikroskop tablası Z ekseninde hareket ettirilir ve ardışıl görüntü dizisi bilgisayara aktarılır. (2) Aktarılan imge dizisindeki her imgenin kıstas fonksiyon sonuçları

hesaplanır ve sonuçlara en küçük kareler yöntemi kullanılarak eğri uydurulur. (3) Aktarılan imge dizisinin kıstas fonksiyon sonucundan maksimum olan belirlenir ve tekrar bilgisayara aktarılan imge dizisi ile maksimum kıstas fonksiyon değerleri karşılaştırılır. (4) Maksimum değer artana kadar adımlar tekrar edilir. Bulunan maksimum kıstas fonksiyon sonucuna sahip görüntü odaklanmış olarak kabul edilir ve tabla o noktaya getirilerek durdurulur.

1.4.3. Farklı Netliklere Sahip İmgelerin Füzyonu

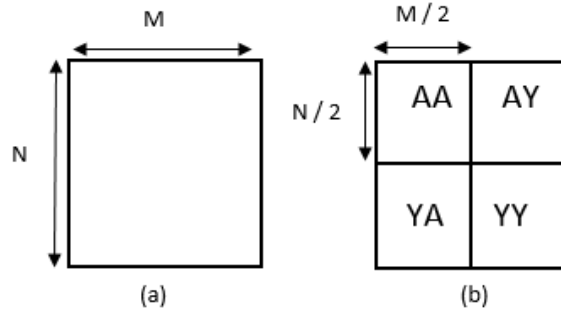
Farklı netliklere sahip görüntülerin füzyonunda aynı görüş alanına sahip birden fazla görüntü kullanılmakta ve sonuç olarak görüntülerin bütün bilgilerine sahip tek görüntü elde edilmektedir. Maksimum sayıda odaklanmış bölgeye sahip tek bir görüntü elde etmek amaçlanmaktadır [30-31].

Literatürde imge füzyon algoritmaları düşük, orta ve yüksek seviye olmak üzere üç kategoriye ayrılmaktadır [32-33]. Düşük seviye piksel seviyesidir ve görüntü pikselleri üzerinde işlem yapılarak birleştirme işlemi gerçekleştirilmektedir. Orta seviye özellik seviyesidir, bu seviyede birleştirme için görüntü objeleri ya da görüntü özellikleri kullanılır. Yüksek seviye ise karar seviyesidir, bu seviyede de birleştirme görüntünün olasılıksal bilgileri elde edilerek gerçekleştirilir [35].

Birleştirilecek görüntülerin piksellerinin gri değerlerinin ortalamasının alınması ve görüntü piksellerinden maksimum gri seviye seçme literatürde kullanılan en basit yöntemlerdendir [34]. Dalgacık dönüşümü, laplace piramidi, gradyan piramidi, uzaysal frekans, PCA literatürde imge füzyonu için kullanılan diğer yöntemlerdendir. Literatürde en başarılı yöntem olarak dalgacık dönüşümü tabanlı imge füzyon yöntemi önerilmektedir. Bu yaklaşımlar genelde gri seviye görüntüler için kullanılmaktadır [33].

1.4.3.1. ADD Tabanlı İmge Füzyon Metodu

Ayrık dalgacık dönüşümü tabanlı imge füzyon yönteminin ilk adımında füzyon edilecek görüntülere iki boyutlu ayrık dalgacık dönüşümü uygulanmaktadır. Ayrık dalgacık dönüşümü sonucunda şekil 1.3 de gösterildiği gibi dört alt görüntü elde edilmektedir.



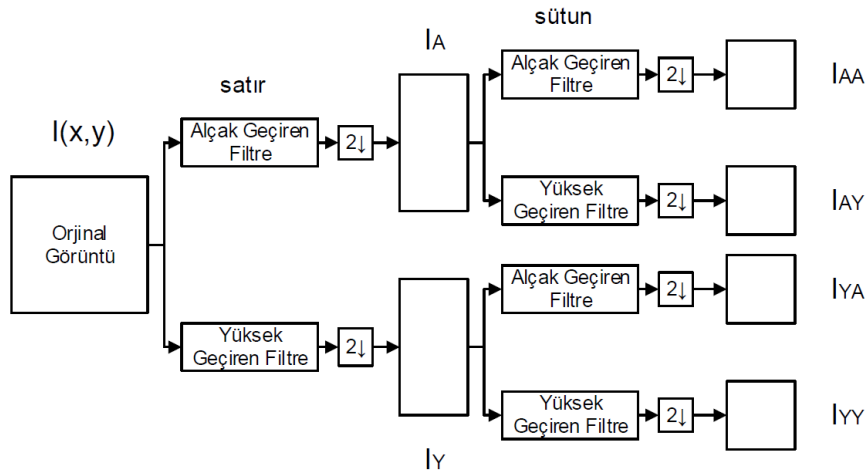
Şekil 1.3. (a) Orijinal görüntü, (b) alt görüntüler

AA → Gürültüsü azaltılmış alt görüntü

AY → Yatay kenarları gösteren alt görüntü

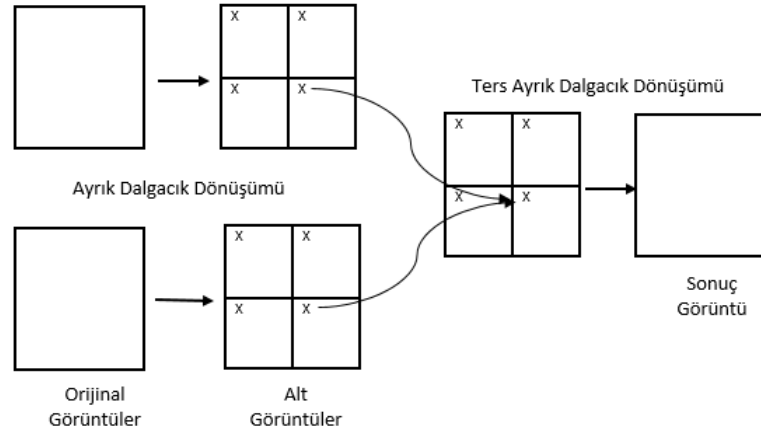
YA → Dikey kenarları gösteren alt görüntü

YY → Diagonal kenarları gösteren alt görüntü



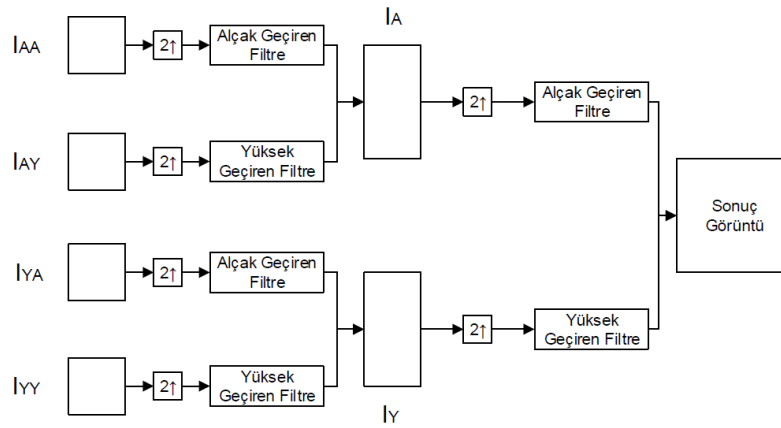
Şekil 1.4. Ayrık dalgacık dönüşümü adımları

Şekil 1.4 de gösterilen ayrık dalgacık dönüşümü adımları ise şu şekildedir: (1) İlk olarak görüntünün her satırına alçak ve yüksek geçiren filtre uygulanır. (2) Satır piksel sayıları yarıya düşürülerek I_Y ve I_A elde edilir. (3) I_A ve I_Y alt görüntülerinin her sütununa alçak ve yüksek geçiren filtre uygulanır. (4) Sütun sayıları yarıya düşürülerek dört alt görüntü (I_{AA} , I_{AY} , I_{YA} , I_{YY}) elde edilir.



Şekil 1.5. Ayrık dalgacık dönüşümü tabanlı imge füzyon metodu

Füzyon edilecek görüntülere ayrık dalgacık dönüşümü uygulandıktan sonra metotta ikinci adım olarak şekil 1.5 de gösterildiği gibi her alt görüntü piksellerine ortalama ya da maksimum piksel seçme gibi basit imge füzyon algoritmaları uygulanır ve imge füzyonu sonucunda elde edilecek görüntünün dört alt görüntüsü elde edilir.



Şekil 1.6. Ters ayrık dalgacık dönüşümü adımları

Elde edilen dört alt görüntüye ters ayrık dalgacık dönüşümü uygulanarak sonuç görüntü elde edilir. Şekil 1.6 da gösterilen ters ayrık dalgacık dönüşümü adımları ise şu şekildedir: (1) İlk olarak dört alt görüntünün (I_{AA} , I_{AY} , I_{YA} , I_{YY}) sütun sayıları artırılır. (2) Elde edilen görüntülerin her sütununa alçak ve yüksek geçiren filtre uygulanarak I_A ve I_Y

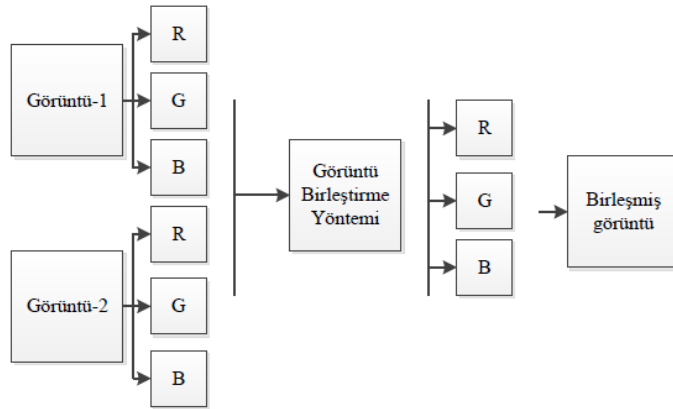
elde edilir. (3) I_A ve I_Y alt görüntülerinin satırları artırılır. (4) Elde edilen görüntülerin her satırına alçak ve yüksek geçiren filtre uygulanarak sonuç görüntü elde edilir.

1.4.3.2. Farklı Netliklere Sahip Renkli Görüntülerin Füzyonu

Medikal görüntüleme, uzaktan algılama ve bilgisayarla görme gibi birçok alanda kullanılan farklı netliklere sahip renkli görüntülerin birleştirilmesi dijital görüntü işleme alanında önemli süreçlerden biridir [36]. Aynı görüş alanına sahip, farklı objeleri net renkli görüntüler birleştirilerek maksimum odaklanmış objeye sahip tek renkli görüntü elde etmek amaçlanmaktadır [37].

1.4.3.2.1. RGB Uzayına Dayalı Farklı Netliklerdeki Renkli Görüntülerin Füzyonu

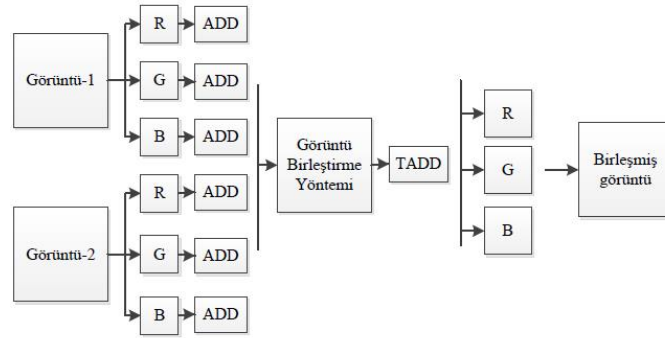
Literatürde renkli görüntüler için kullanılan en basit yöntemde füzyon edilecek görüntülerin RGB kanallarına ayrı ayrı ortalama, maksimum seçme gibi gri seviyeli görüntüler için kullanılan yöntemler uygulanmaktadır. Sonuç olarak maksimum netliğe sahip renkli görüntünün RGB kanalları elde edilmektedir [38].



Şekil 1.7. RGB renk uzayına dayalı farklı netliklere sahip renkli görüntülerin füzyon yöntemi

1.4.3.2.2. RGB Uzayı ve ADD'ye Dayalı Farklı Netliklere Sahip Renkli Görüntülerin Füzyonu

Literatürde renkli görüntüleri birleştirmek için kullanılan bir diğer metot ise RGB renk uzayı ve ayrık dalgacık dönüşümü tabanlı imge füzyon metodudur [39]. Bu metodun aşamaları: (1) Birleştirilecek görüntülerin RGB kanallarına ayrı ayrı ayrık dalgacık dönüşümü uygulanır ve alt görüntüler (AA, AY, YA, YY) elde edilir. (2) Alt görüntülere ortalama, maksimum piksel seçme gibi gri yöntemler için kullanılan yöntemlerden biri uygulanır. (3) Elde edilen en son görüntüye ters ayrık dalgacık dönüşümü uygulanarak birleşmiş görüntünün RGB değerleri elde edilir.

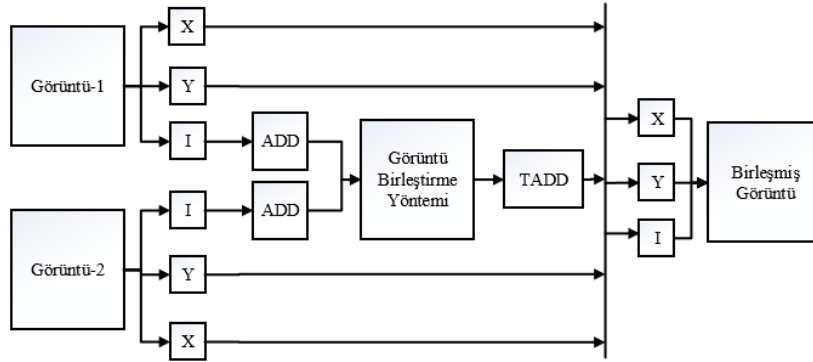


Şekil 1.8. RGB renk uzayı ve ayrık dalgacık dönüşümüne dayalı farklı netliklere sahip renkli görüntülerin füzyon yöntemi

1.4.3.2.3. Farklı Renk Uzaylarına ve ADD'ye Dayalı Farklı Netliklere Sahip Renkli Görüntülerin Füzyonu

Literatürde yapılan çalışmalarda RGB renk uzayının renkli görüntü birleştirme için uygun olmadığı gözlemlenmekte ve RGB renk uzayı yerine diğer renk uzayları (YIQ, YCbCr, HSV, HSI) kullanılmaktadır [40-45]. Diğer renk uzayları da üç farklı kanal içermektedir. Bunlardan biri yoğunluk veya ışıklılık (I), diğerleri ise renk bilgisi ve renklilik kanallarıdır [46-47]. İmge füzyon yöntemlerinde, renkli görüntünün üç renk kanalının (RGB) ortalama ağırlığını içerdiğinden ve gürültüye daha hassas olduğundan sadece yoğunluk veya ışıklılık (I) kanalı üzerinde işlem yapılmaktadır. Şekil 1.9 da gösterilen farklı renk uzayları tabanlı renkli görüntülerin birleştirilme sürecinin adımları şu

şekildedir: (1) RGB renk uzayından diğer renk uzayına dönüşüm yapılır. (2) I kanalına ayrı dalgacık dönüşümü uygulanır. (3) Elde edilen alt görüntülere ayrı ayrı görüntü birleştirme yöntemi uygulanır. (4) Diğer kanallar karşılaştırılarak net bölgeler elde edilir. (5) RGB uzayına dönüşüm yapılarak birleşmiş görüntü elde edilir.



Şekil 1.9. Farklı renk uzaylarına ve ayrı dalgacık dönüşümüne dayalı farklı netliklere sahip renkli görüntülerin füzyon yöntemi

1.4.4. İmge Füzyon Metotları Değerlendirme Kriterleri

1.4.4.1. Uzaysal Frekans

Uzaysal frekans bir görüntünün genel aktivite düzeyini hesaplamak için kullanılmaktadır. UF uzaysal frekansı, RF referans görüntünün frekansını ve BF ise birleşmiş görüntünün frekansını göstermektedir.

$$UF = \sqrt{RF^2 + BF^2} \quad (1.14)$$

$$RF = \sqrt{\frac{1}{(M-1)(N-1)} \sum_{i=1}^{M-1} \sum_{j=1}^{N-1} (f(i, j+1) - f(i, j))^2} \quad (1.15)$$

$$BF = \sqrt{\frac{1}{(M-1)(N-1)} \sum_{i=1}^{M-1} \sum_{j=1}^{N-1} (f(i, j+1) - f(i, j))^2} \quad (1.16)$$

1.4.4.2. Korelasyon Katsayısı

Korelasyon katsayısı referans görüntü ve birleşmiş görüntü arasındaki benzerlikleri göstermektedir. Formül (1.17) de $g(i, j)$ referans görüntü gri seviye değerlerini, \bar{g} referans görüntü gri seviye değerlerinin ortalamasını, $y(i, j)$ birleşmiş görüntü gri seviye değerlerini ve \bar{y} ise birleşmiş görüntü gri seviye değerlerinin ortalamasını göstermektedir.

$$KK = \frac{\sum_{i=1}^M \sum_{j=1}^N (g(i, j) - \bar{g})(y(i, j) - \bar{y})}{\sqrt{(\sum_{i=1}^M \sum_{j=1}^N (g(i, j) - \bar{g})^2)(\sum_{i=1}^M \sum_{j=1}^N (y(i, j) - \bar{y})^2)}} \quad (1.17)$$

1.4.4.3. Root Mean Square Error (RMSE)

RMSE referans görüntü ve birleşmiş görüntü arasındaki kök ortalama kare hatasını göstermektedir. Formül (1.18) de $g(i, j)$ referans görüntü gri seviye değerlerini ve $y(i, j)$ birleşmiş görüntü gri seviye değerlerini göstermektedir.

$$RMSE = \frac{\sqrt{(\sum_{i=1}^M \sum_{j=1}^N (g(i, j) - y(i, j))^2)}}{MN} \quad (1.18)$$

1.4.4.4. Mutual Information (MI)

MI referans görüntü ve birleşmiş görüntü arasındaki karşılıklı bilgi değerini göstermektedir.

$$MI = \sum_{i=1}^L \sum_{j=1}^L h_{R,T}(i, j) \log_2 \frac{h_{R,T}(i, j)}{h_R(i)h_T(j)} \quad (1.19)$$

1.4.4.5. Ortalama Hata (OH)

Bu ölçüt referans görüntü ve birleşmiş görüntü arasındaki ortalama hatayı göstermektedir.

$$AE = \frac{1}{MN} \sum_{i=1}^M \sum_{j=1}^N |R(i,j) - T(i,j)| \quad (1.20)$$

1.4.4.6. Peak Signal Noise Rate (PSNR)

PSNR referans görüntü ve birleşmiş görüntü arasındaki tepe sinyal gürültü oranını göstermektedir.

$$PSNR = 10 \log \frac{255^2 MN}{\sum_{i=1}^M \sum_{j=1}^N (R(i,j) - T(i,j))^2} \quad (1.21)$$

1.5. Otomatik Tarama

Mikroskobik görüntüler üzerinde otomatik imge analizinin yapılabilmesinde ilk ve temel işlev Z ekseninde imge netliğinin otomatik gerçekleşmesidir. Bu işlem gerçekleştikten sonra tüm sahası incelenilecek olan numunenin tarama sürecine başlanmaktadır. X-Y düzlemindeki numune sahası sınırları içinde otomatik tarama yapılırken netliğin otomatik sürdürülmesi, saha alanının dışına çıktığının otomatik algılanması ve tüm numune alanına sahip yüksek çözünürlüklü tek görüntü elde edilmesi diğer temel işlevlerdendir.

1.5.1. Mikroskobik Görüntüler Üzerinde Netliğin Otomatik Sürdürülmesi

Mikroskop Z eksenini yönünde otomatik odaklama gerçekleştirildikten sonra numunenin üzerinde bulunduğu platform X-Y düzleminde hareket ettirilmektedir. Bu hareketle oluşan tarama süreci boyunca Z ekseninde olası mesafe değişiminin sebep olduğu odaklama bozulumu otomatik algılanmalıdır. X-Y ekseninde görüntüler arası odaklama bozulumunun tespiti için kıstas fonksiyonları kullanılmaktadır. Bozulum

derecesi düşük olan görüntülerin iyileştirilmesi için sayısal iyileştirme, yüksek seviyede olanlar için platformun Z ekseninde hareketin otomatik kontrolü kullanılır.

1.5.1.1. Mikroskobik Görüntülerde Sayısal İyileştirme

Dijital görüntü işleme alanında önemli tekniklerden biri olan görüntü iyileştirme, medikal görüntü analizi, uzaktan algılama, yüksek çözünürlüklü televizyon, hiperspektral görüntü işleme, endüstriyel X-ray görüntü işleme, mikroskobik görüntüleme gibi birçok alanda önemli rol oynamaktadır [48]. Sayısal görüntü işleme alanındaki en önemli ve en zor tekniklerden biridir. Görüntü kalitesinin artırılması, gürültülerin minimize edilmesi, kontrast iyileştirilmesi, görüntü bulanıklığının giderilmesi, insan gözünün fark edemediği fakat görüntünün içinde var olan verilerin belirginleştirilmesi, görüntünün görsel efektlerinin ve netliğinin artırılması görüntü iyileştirme yöntemlerinin amaçlarındandır [49]. Görüntü iyileştirme teknikleri kullanım alanlarına göre farklılık göstermektedir. Literatürde kullanılan görüntü iyileştirme teknikleri zamansal uzay ve frekans uzayı olmak üzere iki gruba ayrılmaktadır [50].

Zamansal uzay tabanlı görüntü iyileştirme tekniklerinde direkt olarak görüntü pikselleri üzerinde işlem yapılmaktadır [51]. Bu tekniklerin avantajları anlaşılması kolay olması ve karmaşıklığı az olduğundan gerçek zamanda daha çok tercih edilir olmasıdır. Ancak bu teknikler genellikle yeterli sağlamlığı sağlamamaktadır. Frekans uzayı tabanlı görüntü iyileştirme tekniklerinde ise görüntü ilk olarak frekans uzayına dönüştürülmektedir. Yani ilk işlem olarak görüntüye fourier dönüşümü uygulanmaktadır. Daha sonra frekans uzayında görüntüye iyileştirme teknikleri uygulanmaktadır. Son olarak ise ters fourier dönüşümü uygulanarak iyileşmiş görüntü elde edilmektedir. Frekans uzayı tabanlı tekniklerin avantajları hesaplama karmaşıklığının düşük olması, izleme kolaylığı sağlamasıdır [52].

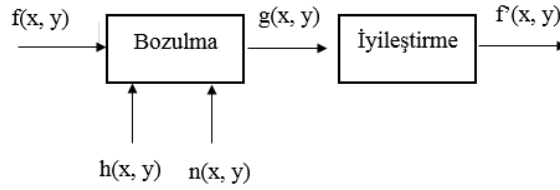
Mikroskobik görüntüleme istatistik analizi, bakteri ön tanısı ve çeşitli test ve ölçümler için görüntü iyileştirme önemli gereksinimlerden biridir [53]. Mikroskobik görüntülerin iyileştirilmesi için literatürde birçok çalışma yapılmış ve çeşitli yöntemler önerilmiştir. Gupta (2012) mikroskobik görüntülerin iyileştirilmesi için histogram eşitleme ve kontrast iyileştirme, Canny ve Sobel kenar algılama teknikleri, sınır belirleme ve morfolojik işlemleri kullanmıştır [54]. Ren (2012) renkli mikroskobik görüntülerin iyileştirilmesi için HSV renk uzayı ve curvelet dönüşümü tabanlı yeni bir metot

geliştirmiştir [55]. Kong (2009) çalışmasında global histogram eşitleme yöntemini geliştirerek mikroskobik görüntülerin iyileştirilmesi için yeni bir yöntem kullanmıştır [56]. Ooi (2009) ise çalışmasında mikroskobik görüntülerin iyileştirilmesi için toboggan kontrast iyileştirme metodunu önermiştir. Çalışmada ilk olarak Gauss filtresini kullanarak görüntüdeki gürültü seviyesini azaltmış ve son olarak ise toboggan metodunu kullanarak görüntüyü netleştirmiştir [57].

Yapılan çalışmada görüntülerin kıstas fonksiyon sonuçları karşılaştırılarak görüntüde bozulma olduğuna karar verilmektedir. Bozulma derecesi düşük olan görüntülerin iyileştirilmesi için sayısal iyileştirme yöntemi olarak Wiener filtresi kullanılmaktadır.

1.5.1.1.1. Wiener Filtresi

1940 lı yıllarda Norbert Wiener tarafından geliştirilen bu iyileştirme yöntemi görüntü bulanıklığının giderilmesi ve gürültü etkilerini azaltmak için kullanılmaktadır [58]. Kamera ile görüntü alımı sürecinde orijinal görüntüde bozulmalar oluşmakta ve bu bozulmaları minimize etmek için görüntüye Wiener filtresi uygulanmaktadır [59]. Wiener filtresi doğrusal bir tahmin yöntemidir ve şekil (1.10) da gösterildiği gibi bozulma modeli tanımlayarak orijinal görüntünün tahminini bulmayı amaçlamaktadır [60-62].



Şekil 1.10. Wiener filtresi için bozulma modeli

$f(x, y) \rightarrow$ Orijinal görüntü

$g(x, y) \rightarrow$ Bozulmuş görüntü

$h(x, y) \rightarrow$ Bozulma Filtresi (Nokta Yayılım Fonksiyonu - PSF)

$n(x, y) \rightarrow$ Eklenmiş gürültü

$\hat{f}(x, y) \rightarrow$ Orijinal görüntünün tahmini

Formül (1.22) de bozulmuş görüntünün modellenmesi bulunmaktadır. Burada integral konvolüsyon, h ise PSF dir. PSF bir görüntü üzerinde yapay olarak bulanıklık yapmak için kullanılır. PSF görüntüdeki gürültüye göre değişir. Bunun içinde Wiener filtresi ile iyileştirme yaparken görüntünün PSF bilgisini tahmin etmek gerekir [63-65].

$$g(x, y) = \iint h(x - x', y - y') f(x', y') dx' dy' + n(x, y) \quad (1.22)$$

$$g(x, y) = h(x, y) * f(x, y) + n(x, y) \quad (1.23)$$

$$G(u, v) = H(u, v) F(u, v) + N(u, v) \quad (1.24)$$

$$F'(u, v) = W(u, v) G(u, v) \quad (1.25)$$

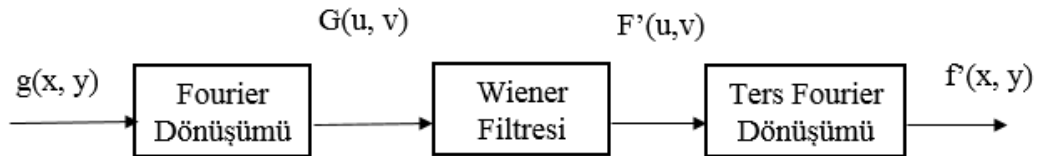
$$W(u, v) = \frac{H(u, v)}{|H(u, v)|^2 + K(u, v)} \quad (1.26)$$

Burada,

$$K(u, v) = S_q(u, v) / S_f(u, v) \quad (1.27)$$

$S_q(u, v) \rightarrow |F(u, v)|^2$ $f(x, y)$ nin PSF fonksiyonu

$S_f(u, v) \rightarrow |N(u, v)|^2$ $n(x, y)$ nin PSF fonksiyonu



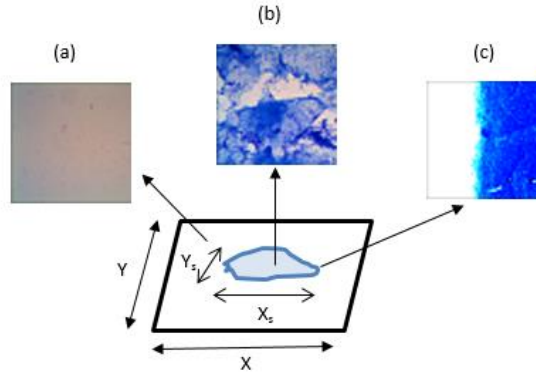
Şekil 1.11. Wiener filtresi iyileştirme süreci

Wiener filtresinin amacı minimum kare hatasını (MSE) minimize etmektir [66].

$$\text{MSE} = \iint f(x, y) - f'(x, y) \quad (1.28)$$

1.5.2. Numune Sahası Dışına Çıkılmasının Otomatik Algılanması

Bakteri analizi amaçlı mikroskoptaki numune sahası üzerinde X-Y yönünde tarama yapılırken saha alanının dışına çıkılıp çıkılmadığının tespiti ile X-Y düzlemindeki tarama bölgesi kısıtlanarak üzerinde numune olmayan bölgelerin gereksiz yere irdelenmesinin önüne geçilmiş olmaktadır. Numune sahasına dışına çıkılıp çıkılmadığı tarama süreci öncesinde şekil 1.12 de gösterildiği gibi numunenin cam tabaka üzerinde kapsadığı alan bölgesi ile cam tabakanın örüntü yapısı öğretilerek algılanmaktadır. Bu görüntü dizelerindeki örüntü yapılarının işlenmesi sonucu üretilen geri besleme bilgisi ile numune sınırlarının dışına çıkılıp çıkılmadığı tespit edilmektedir. Bu aşamada saha alanı içi-dışı yorumu yapay sinir ağı modeline dayalı imge dizelerinin işlenmesi ile başarılmaktadır. Şekil 1.12 de gösterildiği gibi numune sahasının dışına çıkılıp çıkılmadığının otomatik algılanması ile mikroskop üzerinde taranacak bölge X-Y düzleminde bu düzlemin alt kümesi olan X_s - Y_s düzlemine indirgenmiş olmaktadır.



Şekil 1.12. YSA yapısı için kullanılan görüntüler. Cam tabakanın örüntü yapısı (a), numunenin cam tabaka üzerinde kapsadığı alanın bölgesi(b), numunenin cam tabaka üzerinde kapsadığı alanın bölgesi ile cam tabakanın örüntü yapısı (c)

1.5.2.1. Yapay Sinir Ağları

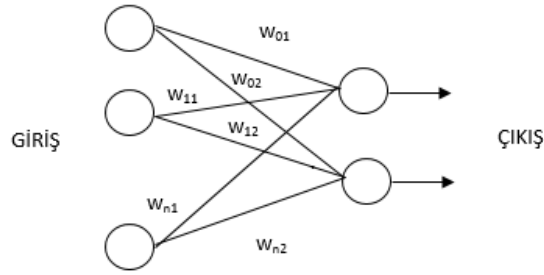
Yapay sinir ağları, biyolojik sinir sistemlerinin matematiksel olarak modelleme fikrinden esinlenilerek geliştirilmiştir [68]. Gelişmiş birçok YSA sistemleri, öğrenme yeteneği gibi beynin önemli özellikleri gerçekleştirebilmekte ve çok büyük ölçekte paralel hesaplama yapabilmektedir. Literatürde yapılan çalışmaların katkılarıyla gittikçe gelişmekte olan YSA modelleri, görüntü işleme ve örüntü tanıma alanlarında sınıflandırma aracı olarak kullanılmaktadır [69].

YSA, sinir bilimleri, matematik, istatistik, fizik, bilgisayar bilimleri ve mühendislik gibi birçok alanın kullanılmasıyla modellenmektedir. YSA modelleri ise sinyal işleme, örüntü tanıma, tahmin zaman serileri analizi gibi birçok alanla kullanılmaktadır (Haykin, 1999). McCulloch ve Pitts 1943 yılında temel hesaplama nöronunun ilk modelini ortaya çıkararak YSA alanında ilk çalışmayı yapmışlardır. 1949 yılında Donald Hebb nöronlar arası bağlantıları güncelleme için yeni bir yaklaşım önermiştir. Rosenbatt 1958 yılında perseptron teorisini, Bernard Widrow ve Marcian Hoof ise 1960 yılında Widrow-Hoff öğrenme kuralını geliştirmişlerdir. Marvin Minsky ve Seymour Papert 1969 yılında perseptron modelinin sınırlandırılması üzerine çalışmalar yapmış, Werbos ise 1975 yılında geri yayılım ağını geliştirmiştir. Hopfield (1982), Kohenen (1982) ve Rumelhalt (1986) ise YSA alanında yeni modeller geliştirmişlerdir.

1.5.2.1.1. YSA'nın Genel Yapısı

YSA, hiyerarşik olarak birbirine bağlı ve birlikte çalışan yapay nöronlardan oluşmaktadır. YSA modeli perseptron, birbirine bağlı nöronlar, öğrenme kuralları ve stratejisinden oluşan bir model olarak düşünülebilmektedir. YSA'nın temel amacı ağa verilen girişlere göre çıkış üretmektir [70]. YSA genel olarak iki fazdan oluşmaktadır: İlk olarak YSA'nın çıkışında probleme yönelik başarılı bir sonuç elde etmek için ağın girişinden eğitim seti verilerek ağın istenen yeteneği kazanması sağlanmaktadır (öğrenme fazı). Öğrenme sürecinden sonra ağa test verileri giriş olarak verilerek sonuçlar elde edilmektedir (test fazı).

YSA'nın ana işlem birimleri perseptron ve yapay nöronlardır [71]. Yapay nöronların yapısı biyolojik nöronlardan daha basittir. Şekil 1.13 de basit bir perseptron yapısı gösterilmektedir.



Şekil 1.13. Perseptron yapısı

Bir perseptron giriş sinyalleri, ağırlıklar (w), aktivasyon fonksiyonu ve çıkışlardan oluşmaktadır. Toplama fonksiyonu ağırlıklar ve giriş fonksiyonun çarpılması ile uygulanmaktadır. Aktivasyon fonksiyonları genelde doğrusal olmayan fonksiyonlardır ve net çıkış bulmak için net girişlere uygulanmaktadır. Eşik, Parçalı Doğrusal, Sigmoid ve Gauss fonksiyonları (Karlık 2007) YSA da aktivasyon fonksiyonları olarak kullanılmaktadır.

YSA modelleri genel olarak birbirine paralel üç katmandan oluşmaktadır. Bunlar giriş katmanı, ara katman ve çıkış katmanlarıdır. Giriş katmanı dışarıdan gelen giriş sinyalleri ile beslemekte ve bilgileri ara katmana iletmektedir. Ara katman ana operasyon merkezidir ve her giriş için ağırlıkları hesaplamaktadır. Son katman ise çıkış katmanıdır, çıkış katmanı ara katmandan beslenmekte ve dışarıdan gelen giriş sinyallerinin sonuçlarını göstermektedir.

YSA bağlantı mimarilerine göre ileri beslemeli YSA ve geri beslemeli YSA olarak iki gruba ayrılmaktadır. İleri beslemeli YSA döngü olmayan graflara, geri beslemeli YSA ise geri besleme bağlantılı graflara sahiptir.

1.5.2.1.2. YSA Öğrenme Algoritmaları

YSA da öğrenme, öğrenilmesi istenen çıkışlara göre giriş ağırlıklarının hesaplanması olarak tanımlanmaktadır. Ağırlıkları güncellemek için art arda matematiksel işlem serisi uygulanmaktadır. Öğrenme metodolojisine göre YSA danışmanlı öğrenme ve danışmansız öğrenme olarak iki kategoriye ayrılmaktadır.

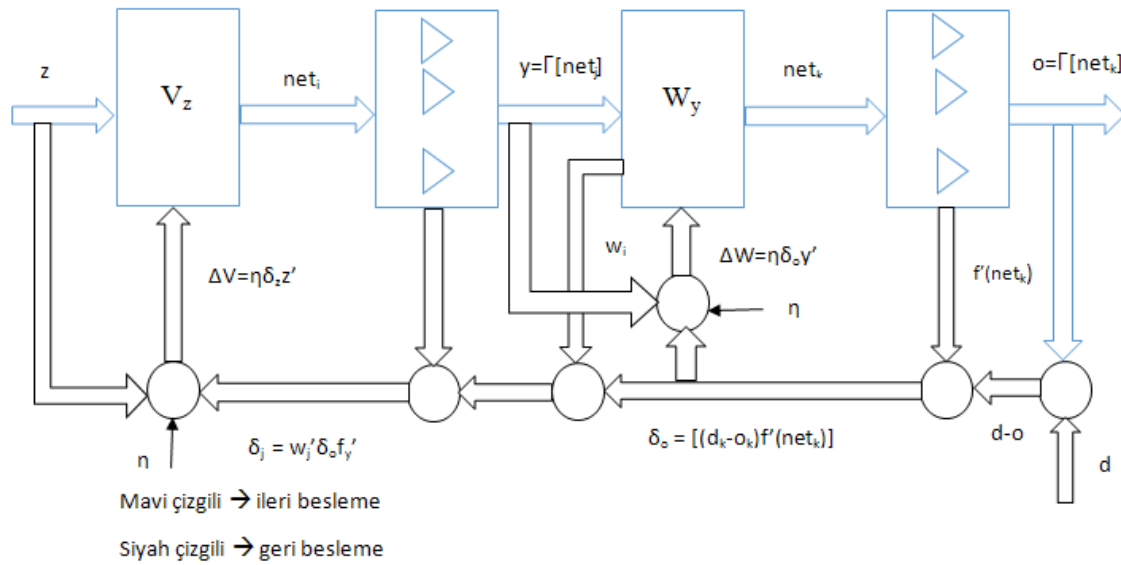
Danışmanlı öğrenmede, girişler ve istenen sonuçlar problemle ilişkilidir ve sistemden elde edilmektedir. Asıl amaç istenen ve gerçek sonuçlar arasındaki hatayı minimize ederek ağırlıkları bulmaktır. Widrow ve Hoff un 1960 yılında geliştirdiği geri yayılım algoritması danışmanlı öğrenme algoritmalarına örnek olarak verilebilmektedir.

Danışmansız öğrenmede, sadece yerel bilgiler kullanılmaktadır, girişler sistemden elde edilmekte fakat istenen çıkışlar sistemden elde edilmemektedir. Danışmansız öğrenmeler genelde sınıflandırma algoritmaları için kullanılmaktadır. 1982 yılında geliştirilen Kohonen, Hebbian ve Winner-take-all danışmansız öğrenme algoritmalarına örnek olarak gösterilebilmektedirler.

Literatürde birçok öğrenme algoritması bulunmaktadır. Tez çalışmasında ileri beslemeli hata geri yayımlı öğrenme algoritması kullanıldığı için bu kısımda sadece bu algoritmadan bahsedilecektir.

1.5.2.1.3. İleri Beslemeli Hata Geri Yayımlı Öğrenme Algoritması

Blok diyagramı şekil 1.14 de gösterilen ağ, danışmanlı öğrenme modunda eğitilmektedir. z eğitim vektörü, danışman tarafından sağlanmış d istenen sonuç vektörü ile düzenlenmekte ve sonuçta o çıkış vektörü elde edilmektedir.



Şekil 1.14. İleri beslemeli hata geri yayımlı öğrenme algoritması

Algoritma adımları:

1. V ve W ağırlıklarının ilk değer ataması yapılır.
2. Z girişleri ağa gönderilerek ilk ileri besleme evresi başlatılır. İlk olarak ara katman ve çıkış katmanının cevabı olan y ve o değerleri hesaplanır.

$$y = \Gamma[Vz] \quad (1.29)$$

$$o = \Gamma[Wy] \quad (1.30)$$

3. Döngü hatası hesaplanır.

$$E \leftarrow E + \frac{1}{2} \|d - o\| \quad (1.31)$$

4. Her katman için hata işaret vektörleri hesaplanır.

Çıkış katmanları için hata işareti:

$$\delta_{ok} = \frac{1}{2} (d_k - o_k) (1 - o_k^2) \quad k=1, 2, 3, \dots, K \quad (1.32)$$

Ara katmanlar için hata işareti:

$$\delta_{yj} = \frac{1}{2} (1 - y_j^2) \sum_{k=1}^K \delta_{ok} w_{kj} \quad \begin{array}{l} k=1, 2, 3, \dots, K \\ j = 1, 2, 3, \dots, j \end{array} \quad (1.33)$$

5. Çıkış katmanının ağırlıkları güncellenir.

$$w_{kj} \leftarrow w_{kj} + \eta \delta_{ok} y_j \quad (1.34)$$

6. Ara katmanın ağırlıkları güncellenir.

$$v_{ji} \leftarrow v_{ji} + \eta \delta_{yj} z_i \quad (1.35)$$

7. Eğitim kümesinde örnek kalıp kalmadığı kontrol edilir ve eğer örnekler tamamlanmadıysa ikinci adıma geri dönülüp adımlar tekrar edilir.

8. Eğitim kümesi örnekleri tamamlandıktan sonra bütün eğitim döngüsü için sonuç hata değeri hesaplanır. Öğrenme işlemi, sonuç hata değeri E_{\max} değerinin altında olduğu zaman durdurulur.

1.5.3. Mikroskobik Görüntülerin Panoramik Birleştirilmesi

Sıradan kameralar, geniş alana yayılmış tüm obje dağılımlarını içeren daha geniş görüş alanına sahip görüntü elde etmek için bazı sınırlamalara sahiptir. Görüntü kaydı kullanılarak ortak görüş alanlarına sahip birden fazla dijital görüntünün birleştirilmesi ile elde edilen panoramik görüntüler bu problemi çözmektedirler [72]. Panoramik görüntüler ortak alanlara sahip birden fazla görüntünün birleştirilmesi ile elde edilen tüm görüş alanına sahip görüntülerdir [73]. Panoramik görüntü sanal gerçekliğin bir ifadesidir ve gerçek görüntülerden oluşmaktadır. Panoramik birleştirme önemli araştırma alanlarından biridir. Dijital görüntü işleme, bilgisayar grafikleri, bilgisayarlarla görme, 3D modelleme, sanal turizm, medikal görüntü analizi gibi birçok alanda kullanılmaktadır [74].

Mikroskobik görüntüler üzerinde bakteri analizi yapılırken, mikroskop görüş alanı dar olduğu için mikrobiyoloji laboratuvar teknisyenleri numunenin kapladığı tüm alanı görebilmek için el-göz kontrolü ile mikroskop üzerinde X-Y yönünde tarama yapmaktadırlar. Mikrobiyoloji laboratuvar teknisyenlerinin manuel olarak yaptıkları bu işlem hem çok zaman gerektirmekte hem de yanlış teşhise neden olmaktadır.

Bu tez çalışmasında tüm numune alanına sahip tek bir mikroskobik görüntü elde etmek için panoramik birleştirme yöntemleri kullanılmıştır. Panoramik birleştirme yöntemleri dört adımdan oluşmaktadır. (1) Özellik noktası çıkarma: Literatürde yapılan çalışmalarda görüntülerin özellik noktalarını çıkarmak için Harris köşe bulma algoritması, SIFT ve SURF yöntemleri kullanılmıştır. (2) Özellik noktası eşleme: Bu adımda bir önceki adımda bulunan görüntülerin özellik noktalarının arasındaki ilişki bulunmaktadır. Literatürde özellik noktası eşleme adımında çapraz korelasyon ve öklid uzaklığı kullanılmıştır. (3) Eşleştirme hatalarını minimize edilmesi ve model oluşturma: Bazı

eşleşen özellik noktaları aynı alana sahip olmadıklarından dolayı yanlış eşleşmişlerdir. Yanlış eşleşen noktalar ile birleştirme yapıldığında elde edilen sonuç görüntü bulanık ve gürültü olmaktadır. Literatürde bu yanlış eşleşmiş özellik noktaları azaltmak ve görüntüler arasında model oluşturmak için RANSAC (Random Sample Consensus) yöntemi kullanılmıştır. (4) Görüntü birleştirme: Bu adımda bir önceki adımda RANSAC ile oluşturulan model kullanılarak görüntüler birleştirilmektedir.

1.5.3.1. Özellik Noktası Çıkarma

1.5.3.1.1. Harris Köşe Bulma Algoritması

Harris köşe bulma algoritması 1988 yılında Chris Harris ve Mike Stephens tarafından geliştirilmiştir [73]. Bu algoritmada bir noktanın köşe olup olmadığına görüntünün tüm yönlerde ortalama gri seviye değişimlerinin hesaplanması ile karar verilmektedir. Harris köşe bulma algoritması adımları şu şekildedir:

1. I_x ve I_y yi elde etmek için görüntünün her pikselinin x ve y yönünde birinci dereceden kısmi türevleri hesaplanmaktadır.

$$M = G(\sigma) * \begin{bmatrix} I_x^2 & I_x I_y \\ I_x I_y & I_y^2 \end{bmatrix} \quad (1.36)$$

Formül (1.36) da $I(x, y)$ görüntünün gri seviye değerlerini, I_x ve I_y görüntünün x ve y yönünde birinci dereceden kısmi türevlerini, $G(\sigma)$ σ standart sapmasına sahip Gauss filtresini ve * ise korelasyonu temsil etmektedirler.

2. I_x ve I_y nin çarpımı ve kareleri ile Gauss filtresi kullanılarak M elde edilmektedir.
3. Her piksel için formül (1.37) deki R hesaplanmaktadır.

$$R = Det(M) - k \times Trace(M)^2 \quad (1.37)$$

Formül (1.37) de R, M değerine bağlıdır. $Det(M) = \lambda_1 * \lambda_2$ ve $Trace(M) = \lambda_1 + \lambda_2$ şeklinde hesaplanmaktadır. λ_1 ve λ_2 M değerinin öz değerleridir

4. Bir önceki adımda hesaplanan R değeri T eşik değeri ile karşılaştırılmaktadır. Eğer R değeri eşik değerinden büyük ise olası özellik noktası olarak karar verilmektedir.
5. Olası özellik noktalarının komşu pikselleri olası özellik noktaları ile karşılaştırılarak son özellik noktalarını belirlenmektedir.

1.5.3.1.2. SIFT Özellik Çıkarma Algoritması

SIFT algoritması bir görüntüde yerel özellikleri bulmak için kullanılmaktadır. 1999 yılında David G. Lowe tarafından önerilen SIFT algoritması ölçekleme, öteleme ve dönmeden bağımsız olup panoramik görüntü birleştirme için kullanılmaktadır [75-77].

SIFT özellik çıkarma algoritması adımları şu şekilde tanımlanmaktadır:

- Ölçeksel Uzaydaki Ekstremum (Minimum - Maksimum) Noktaların Belirlenmesi

İlk olarak formül (1.38) yardımıyla farklı standart sapmalara sahip Gauss filtreleri kullanılarak görüntünün ölçeksel uzayı oluşturulmaktadır.

$$L(x, y, \sigma) = G(x, y, \sigma) * I(x, y) \quad (1.38)$$

Formül (1.38) de I giriş görüntüyü, * korelasyonu, G Gauss filtresini, x ve y ise görüntünün piksellerini ifade etmektedir.

Gauss uzay farkı (DoG), farklı standart sapmalara sahip Gauss filtreleri ile korelasyon edilmiş görüntülerin farkları alınarak elde edilmektedir. DoG, ölçekten ve konumdan bağımsız olası özellik noktalarını bulmaya olanak sağlamaktadır.

$$D(x, y, \sigma) = (G(x, y, k\sigma) - G(x, y, \sigma)) * I(x, y) \quad (1.39)$$

$$= L(x, y, k\sigma) - L(x, y, \sigma)$$

Gauss uzay farkındaki yerel ekstremum noktaları pikseller ve piksellerin alt, üst ve kendi ölçeğindeki 26 komşu piksel değerleri karşılaştırılarak bulunmaktadır. Piksel

değerleri komşu piksel değerlerinden en küçük veya en büyük ise, o pikselin yerel ekstremum nokta olduğuna karar verilmektedir.

- Özellik Noktası Konumlarının Doğrulanması

Bir önceki adımda DoG uzayı ile olası özellik noktaları belirlenmiştir. DoG operatörünün yoğun kenardan etkilenmesi ve gürültüye hassas olmasından dolayı, bu adımda düşük kontrasta sahip ve kenar bölgelerinde bulunan özellik noktaları minimize edilmektedir.

Düşük kontrasta sahip özellik noktalarının minimize edilmesi için DoG uzayına ($D(x, y, \sigma)$) ikinci dereceden Taylor serisi açılımı yapılmaktadır. Formül (1.40) ile özellik noktalarının yeni konumları belirlenmekte ve formül (1.41) elde edilmektedir.

$$\dot{x} = \frac{d^2 D^{-1}}{dx^2} \frac{dD}{dx} \quad (1.40)$$

$$D(\dot{x}) = \frac{1}{2} \frac{dD^T}{dx} \dot{x} \quad (1.41)$$

Bu fonksiyon her özellik noktası için hesaplanmakta ve sonuç eşik değerinden küçük ise elenmektedir.

Kenar bölgesine denk gelen özellik noktalarını minimize etmek için Heissan matrisi kullanılmaktadır.

$$H = \begin{bmatrix} D_{xx} & D_{xy} \\ D_{xy} & D_{yy} \end{bmatrix} \quad (1.42)$$

Heissan matrisi hesaplandıktan sonra matrisin öz değerleri hesaplanmaktadır.

$$\text{Tr}(H) = D_{xx} + D_{yy} = \alpha + \beta \quad (1.43)$$

$$\text{Det}(H) = D_{xx} D_{yy} - (D_{xy})^2 = \alpha \beta \quad (1.44)$$

$$\frac{\text{Tr}(H)^2}{\text{Det}(H)} = \frac{(\alpha + \beta)^2}{\alpha \beta} = \frac{(r\beta + \beta)^2}{r \beta^2} = \frac{(r+1)^2}{r} \quad (1.45)$$

Eğer formül (1.45) deki oran eşik değerinden küçük ise olası özellik noktası elenmektedir.

- Özellik Noktalarına Yön Atanması

Bu adımda özellik noktalarına yön ataması yapılarak özellik noktalarına dönmeden bağımsızlık kazandırılmaktadır. Her özellik noktası etrafında gradyan yönleri ve büyüklükleri hesaplanmakta ve bu bölgedeki en belirgin yön bulunmaktadır. En belirgin yön özellik noktasının yönü olarak atanmaktadır.

Özellik noktası etrafındaki her piksel için formül (1.46) ve (1.47) kullanılarak gradyan yönü ve büyüklüğü hesaplanmaktadır.

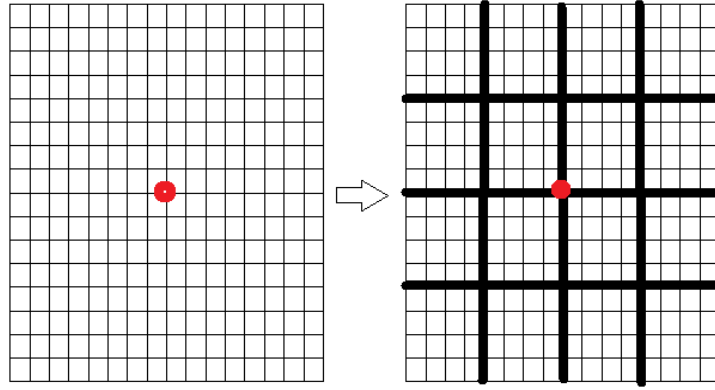
$$m(x, y) = \sqrt{(L(x+1, y) - L(x-1, y))^2 + ((L(x, y+1) - L(x, y-1)))^2} \quad (1.46)$$

$$\theta(x, y) = \tan^{-1} \frac{L(x, y+1) - L(x, y-1)}{L(x+1, y) - L(x-1, y)} \quad (1.47)$$

Özellik noktaları etrafında her biri 10 derecelik 36 aralıktan oluşan bir histogram oluşturulmaktadır. Özellik noktası etrafındaki her piksel gradyan büyüklükleri ile bu histograma eklenmektedir. Eklenen gradyan büyüklükleri ile %80' i aşan komşu pikseller yeni özellik noktası olarak kabul edilmekte ve orijinal özellik noktası ve yeni özellik noktası aynı konuma ve ölçüğe sahip olmaktadır. Böylece dönmeden bağımsızlık garanti edilmektedir.

- SIFT Özellik Tanımlayıcısı

Bu adımda birbirinden ayırt edilebilmesi için her özellik noktasına özel tanımlayıcılar oluşturulmaktadır. İlk olarak, özellik noktası etrafındaki 16x16 lık blok alınmakta ve 4x4 lük on altı bloğa bölünmektedir.



Şekil 1.15. Özellik noktası etrafındaki 16x16 lık blok ve 4x4 lük bloklar

4x4 lük bütün blokların gradyan büyüklüğü ve yönü hesaplanmakta ve histogram oluşturulmaktadır. 4x4 lük bloklardaki her piksel gradyan ağırlıkları ile histograma eklenmektedir. Sonuç olarak $4 \times 4 \times 8 = 128$ elemanlı bir özellik tanımlayıcısı elde edilmektedir.

1.5.3.1.3. SURF Özellik Çıkarma Algoritması

SURF algoritması bir görüntüde yerel özellik noktalarının belirlenmesi için kullanılmakta olup ilk olarak 2006 yılında Herbert Bay tarafından geliştirilmiştir [78-79]. SURF algoritması nesne tanıma, 3 boyutlu uygulamalar gibi birçok bilgisayarla görme alanında sıkça kullanılmaktadır. SIFT algoritması ile benzer adım ve prensiplere sahiptir, fakat SURF algoritması SIFT algoritmasına göre daha hızlı olduğu literatürde yapılan çalışmalarda ispatlanmaktadır [80-81].

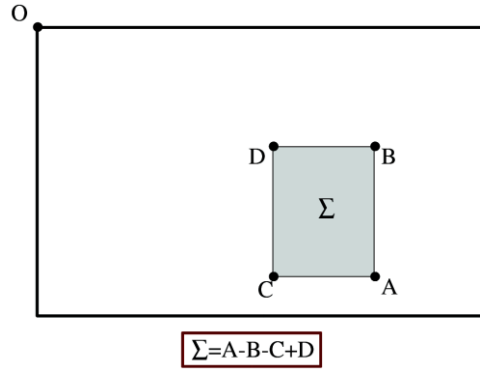
SURF özellik çıkarma algoritması görüntülerin özellik noktalarını bulmak için Hessian matris yaklaşımını kullanmaktadır. Bu yaklaşım Viola ve Jones tarafından geliştirilmiş olan tümlev görüntülerin kullanılmasını sağlamaktadır. Tümlev görüntü yaklaşımı hesaplama süresini oldukça düşürmektedir. Hessian matris determinanti ölçüt olarak kullanılmakta ve bölgeler arasındaki değişimler hakkında bilgi vermektedir.

$$H = \begin{bmatrix} L_{xx}(x, \sigma) & L_{xy}(x, \sigma) \\ L_{xy}(x, \sigma) & L_{yy}(x, \sigma) \end{bmatrix} \quad (1.48)$$

$$L_{xx}(x, \sigma) = I(x) * \frac{d^2}{dx^2} g(\sigma)$$

$$L_{xy}(x, \sigma) = I(x) * \frac{d^2}{dxy} g(\sigma)$$

Formüldeki $L_{xx}(x, \sigma)$ görüntünün gauss fonksiyonunun ikinci dereceden türevi ile konvelüsyonundan elde edilmektedir. Konvelüsyon işlemleri hem hesaplama karmaşıklığını düşürmekte hem de tümlev görüntülerin hesaplanmasını kolaylaştırmaktadır.



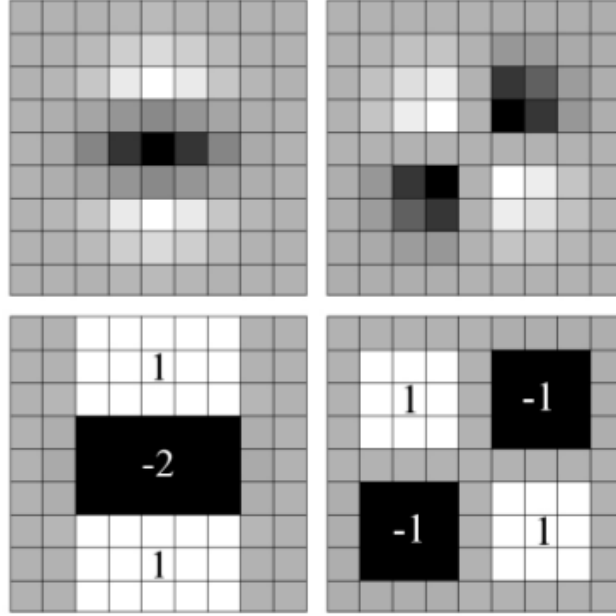
Şekil 1.16. Tümlev görüntü elde edilmesi

Tümlev görüntü ($I(x)$) formül kullanılarak görüntünün her pikseli için hesaplanmakta ve yeni bir görüntü elde edilmektedir. Bu görüntü x ve etrafındaki pikseller arasında kalan dikdörtgen bölgesinin piksel değerlerinin toplamından oluşmaktadır. Tümlev görüntü elde edildikten sonra dikdörtgen bir alanda piksel büyüklüklerinin toplamlarının sonucu sadece üç toplama işlemiyle hesaplanabilmektedir.

$$I(x) = \sum_{i=0} \sum_{j=0} I(x, y) \quad (1.49)$$

Hessian matris için kullanılan gauss süzgeçleri ($g(\sigma)$) uygulanmadan önce ayrıklaştırılıp kırılması gerekmektedir. SURF algoritması bu süzgeçleri kutu süzgeçlerle birlikte kullanmaktadır. Şekil 1.17 de 9×9 boyutunda $\sigma = 1.2$ değerli Gauss filtresi

kullanılarak elde edilmiş ölçek uzayın en alt seviyesi bulunmaktadır. Şekilde gri alanlar 0'ı, beyazlar pozitif ve siyahlar ise negatif temsil etmektedirler.



Şekil 1.17. 9x9 boyutunda $\sigma = 1.2$ değerli Gauss filtresi kullanılarak elde edilmiş ölçek uzayın en alt seviyesi

Bütün ölçeklerde ilgi noktası tespit etmek için değişik boyutlarda ve ölçeklerde kutu süzgeçleri aynı anda tümlev görüntülere uygulayarak ölçek-uzay yapısı çıkarılmaktadır. Bu ölçek-uzay yapısında Hessian determinantlarının sonuç tespiti yapılarak özellik noktaları çıkarılmaktadır.

1.5.3.2. Özellik Noktası Eşleme

Bu adımda bir önceki adımda elde edilen özellik noktaları arasındaki ilişki bulunmaktadır. Bu adımda eşleşmiş özellik noktalarını bulmak için Çapraz korelasyon ve Öklid uzaklığı kullanılmaktadır [82-83]. Bu uzaklık ölçütleri için P ($p_1, p_2, p_3, \dots, p_n$) ve Q ($q_1, q_2, q_3, \dots, q_n$) noktaları arasındaki benzerliğin hesaplanması aşağıdaki formüller kullanılarak bulunmaktadır.

Çapraz Korelasyon:

$$d_{\text{ÇK}} = \frac{\sum_{i=1}^M \sum_{j=1}^N R_{ij} * T_{ij}}{\sum_{i=1}^M \sum_{j=1}^N (R_{ij})^2} \quad (1.50)$$

Öklid Uzaklığı:

$$d_{\text{öklid}} = \sqrt{\sum_{i=1}^n (q_i - p_i)^2} \quad (1.51)$$

1.5.3.3. Eşleştirme Hatalarının Minimize Edilmesi

Homograf matrisi, iki görüntü arasında dönüşüm matrisi olup bir önceki aşamada oluşan eşleştirme hatalarını minimize etmek ve görüntüler arasında model oluşturmak için kullanılmaktadır. Homograf matrisi formül (1.52) kullanılarak hesaplanmaktadır. Formülde p_b ve p_a görüntü özellik noktalarını, H_{ab} ise homograf matrisi temsil etmektedir.

$$P_b = H_{ab}P_a \quad (1.52)$$

1.5.3.3.1. RANSAC (Random Sample Consensus)

RANSAC (Random Sample Consensus) eşleşme hatalarını minimize etmek ve görüntüler arası model oluşturmak için Homograf matrisi hesaplama aşamasında kullanılmaktadır. RANSAC yönteminin adımları şu şekildedir: (1) N çift özellik noktasından dört çift özellik noktası seçilir. (2) Formül (1.52) kullanılarak Homograf matrisin parametreleri hesaplanır. (3) Bulunan parametrelere göre kalan N - 4 özellik noktası çiftinin mesafeleri hesaplanır. (4) Hesaplanan mesafeler belirlenen eşik değeri ile karşılaştırılarak aykırı durumda olup olmadıkları kontrol edilir. (5) Minimum aykırı durumda olmayan özellik noktası içeren Homograf matrisi hesaplanana kadar adımlar tekrar edilir [74].

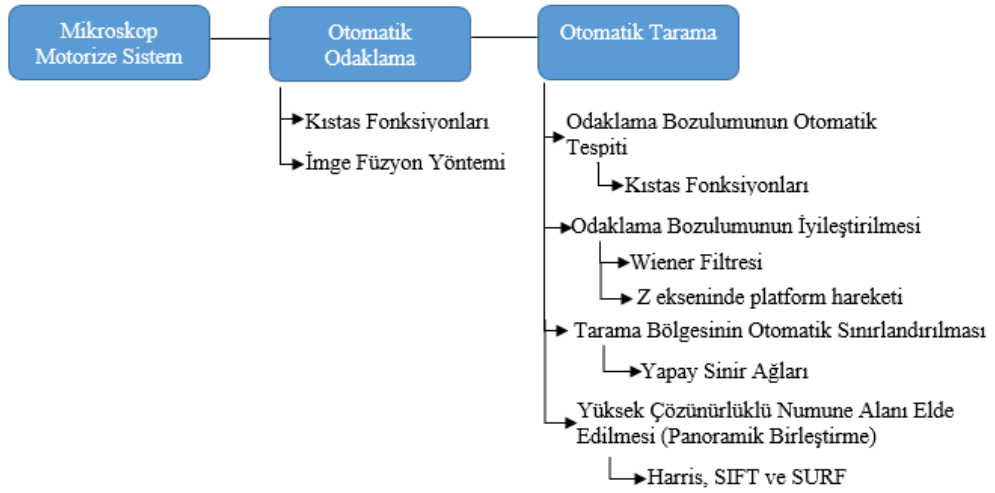
1.5.3.4. Görüntü Birleştirme

Bir önceki adımda RANSAC yöntemiyle bulunan modele göre görüntüler birleştirilmektedir.

2. YAPILAN ÇALIŞMALAR, BULGULAR VE İRDELEME

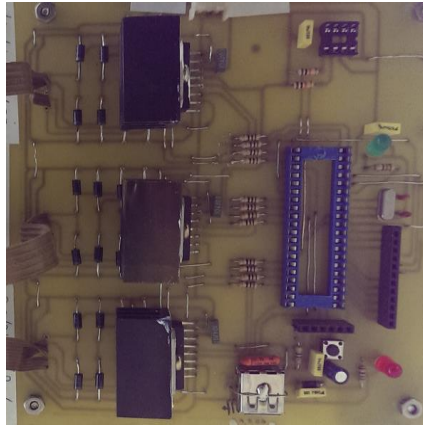
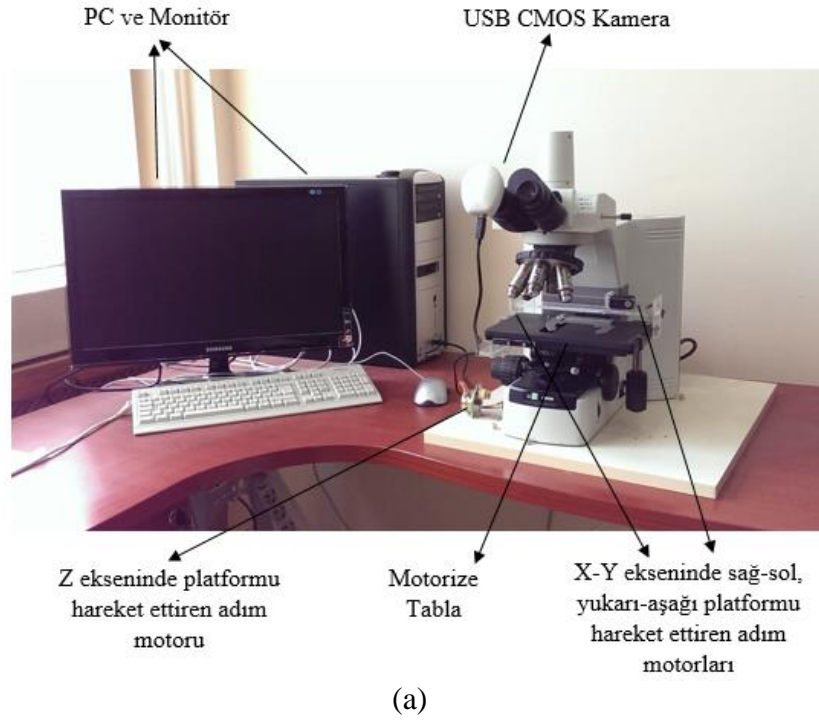
2.1. Giriş

Bu tez çalışmasında CMOS kamera ile bilgisayara aktarımı sağlanan mikroskobik görüntüler üzerinde otomatik odaklama ve tarama yapabilen yeni bir motorize mikroskop sistemi geliştirilmiştir. Çalışmada mikroskop Z ekseninde otomatik odaklama gerçekleştirmek için ilk olarak adım motoru hareket ettirilerek aynı görüş alanına sahip görüntüler art arda alınmış ve kıstas fonksiyonları kullanılarak odaklanmış görüntü bulunmuştur. Bulunan odaklanmış görüntüdeki bölgesel bulanıklıkları minimize etmek ve Z ekseninde en odaklanmış görüntünün bulunduğu garanti edilmesi için kıstas fonksiyon sonucuna göre odaklanmış bulunan görüntü referans olarak kabul edilerek Z ekseninde art arda alınan görüntüler imge füzyon yöntemleri ile birleştirilmiştir. Z ekseninde en odaklanmış görüntü bulunduktan sonra mikroskop tablası adım motorları yardımıyla X-Y yönünde sağ-sol, yukarı-aşağı hareket ettirilerek otomatik tarama süreci başlatılmıştır. Otomatik tarama yapılırken netliğin otomatik sürdürülmesi, saha alanının dışına çıktığının otomatik algılanması ve mikroskobik görüntülerin panoramik birleştirilmesi amaçlanmıştır. Tarama süreci boyunca X-Y ekseninde görüntüler arası odaklama bozulmasının tespiti için kıstas fonksiyonları kullanılmıştır. Tespit edilen bozulumlarda görüntülerin iyileştirilmesi için Wiener filtresi kullanılmış, sayısal iyileştirmenin yeterli olmadığı durumlarda ise Z eksenindeki adım motoru hareket ettirilerek iyileştirme yapılmıştır. Saha alanının dışına çıktığının otomatik algılanması ise çok katmanlı yapay sinir ağına dayalı saha alanı içi/dışı yorumu ile başarılmıştır. Mikroskobik görüntülerin panoramik birleştirilmesi için ilk olarak Harris köşe bulma algoritması, SIFT ve SURF özellik çıkarma algoritmaları kullanılarak görüntülerin özellik noktaları çıkarılmıştır. Çıkarılan özellik noktaları arasında Çapraz Korelasyon ve Öklid uzaklığı kullanılarak eşleme yapılmış, RANSAC yöntemi kullanılarak yanlış eşleştirmeler minimize edilmiş ve görüntüler arasında model oluşturmuştur. Son olarak da oluşturulan modele göre X-Y yönünde ortak bölgelere sahip mikroskobik görüntüler birleştirilmiştir.



Şekil 2.1. Sistemin temel işlem adımları

Bu çalışmada gerçekleştirilen sistemin performansı, TB (Tüberküloz) bakterisinin mikroskopik görüntülerinden oluşan veri tabanı üzerinde değerlendirilmiştir. ZN lekelenme tekniği ile boyanmış balgam yayma örnekleri, Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Mikrobakteriyoloji Laboratuvarında hazırlanmış olup 5 farklı hastadan 5 yayma-pozitif örnekleri içermektedir. Her bir hasta örneğinden örnekler alınmış ve çalışmada gerçekleştirilen gerçek zamanlı uygulamalarda kullanılmıştır.



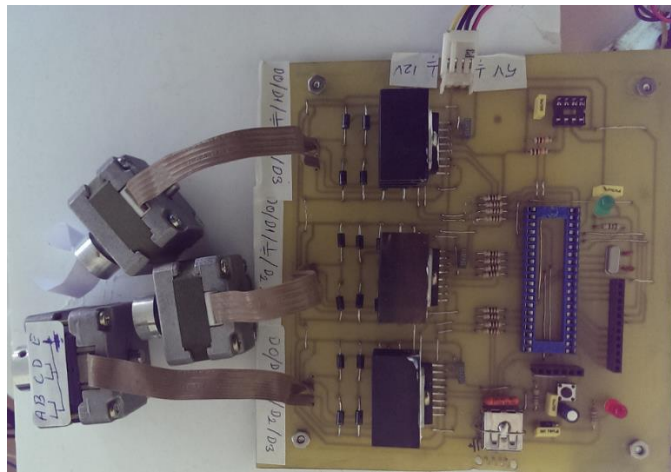
Şekil 2.2. (a) Otomatik mikroskop görüntüleme sistemi (b) USB arayüz devresi

Şekil 2.2 gösterilen mikroskobik görüntüler üzerinde otomatik odaklama ve tarama yapabilen motorize mikroskop sistemi, Karadeniz Teknik Üniversitesi Bilgisayar Mühendisliği Bölümü Bilgisayarla Görü Laboratuvarında kurulmuştur. Kurulan sistem, bir masaüstü bilgisayar, motorize sisteme sahip Nikon Eclipse 80i ışık mikroskobu, Premiere Digital Microscope Eyepiece MA88-300 marka mikroskop okülerle uyumlu dijital mikroskobik kameradan oluşmaktadır. Numune örnekleri 100X büyütme objektif altında alınmıştır.

2.2. Mikroskop Motorize Sistem

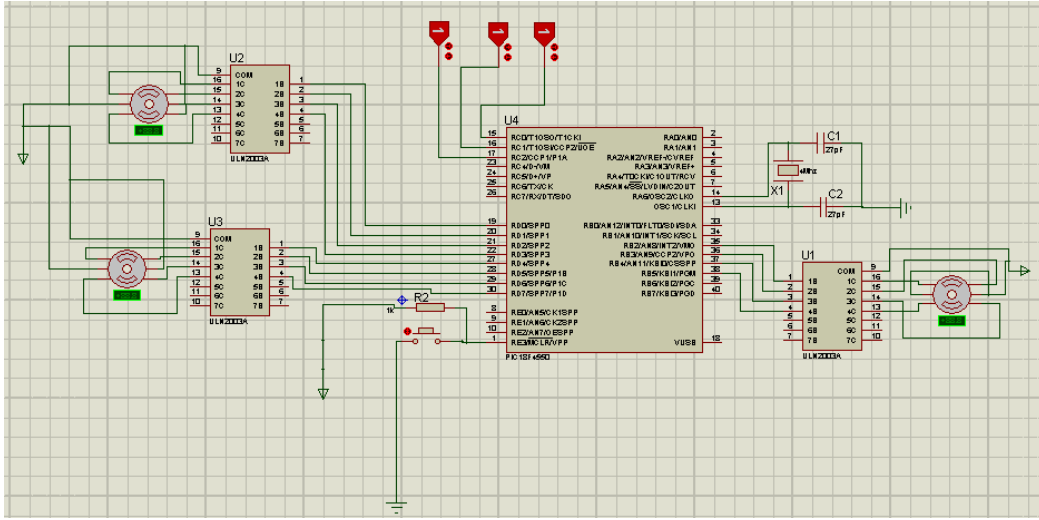
Bu tez çalışmasında CMOS kamera ile bilgisayara aktarımı sağlanan mikroskobik görüntüler üzerinde adım motoru hareketiyle otomatik odaklama ve tarama yapabilen yeni bir motorize sistem geliştirilmiştir. Geliştirilen motorize sistemde biri numunenin üzerinde bulunduğu tabla ile mikroskop merceğinin mesafe kontrolünde diğer ikisi ise X-Y yönünde hareket edebilen tablanın kontrolünde kullanılmak üzere toplam üç tane adım motoru kullanılmıştır. Yapılan çalışmada bilgisayar ile adım motorları kontrol edilerek mikroskobik görüntüler üzerinde otomatik odaklama ve tarama işlemleri gerçekleştirilmiştir. Bilgisayar ile adım motorlarının kontrolü için PIC18F4550 USB arayüz devresi kullanılmıştır.

Geliştirilen çalışmada ilk olarak PIC18F4550 kullanılarak adım motorlarının birbirinden bağımsız olarak hareketini sağlayan açık devre şeması Proteus ISIS programında çizilmiştir. Bu aşamada motorların birbirinden bağımsız çalışması amaçlanmış ve devreye üç ayrı buton eklenmiştir. Motorların saat yönünde veya saat yönünün tersine dönüşleri butonlar yardımıyla gerçekleştirilmiştir. Adım motorlarının ayrı ayrı butonlarla kontrolünü sağlayan kaynak kod derlenerek .hex uzantılı dosya elde edilmiştir. Elde edilen .hex uzantılı dosya ile devrenin çalışıp çalışmadığı bu program aracılığıyla kontrol edilmiştir. Hazırlanan devre ve kaynak kodun çalışabilirliği test edildikten sonra Proteus ARES programı kullanılarak uygulama kartı için baskı devre çıkarılmış ve bakır plaketlere şekil 2.3 de gösterilen baskı devre gerçekleştirilmiştir.



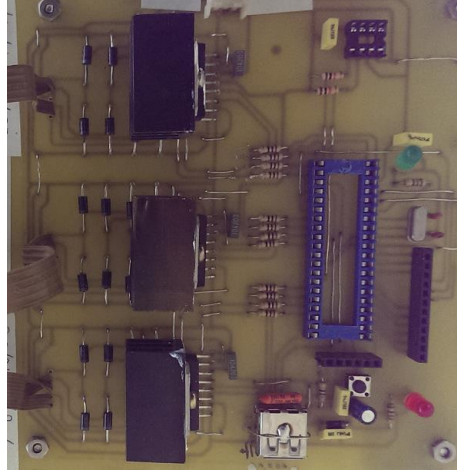
Şekil 2.3. Butonlarla adım motorlarının hareketini sağlayan baskı devre

Şekil 2.4 de üç ayrı adım motorun üç ayrı butonla kontrolünü gerçekleştiren Proteus'da çizilmiş açık devre bulunmaktadır. Butonların açık kapalı olmasına göre adım motorları saat yönünde veya saat yönünün tersinde hareket etmektedirler. PIC18F4550 mikrodenetleyicisinin pinlerinden gelen voltaj adım motorlarının çalışması için yeterli olmadığından adım motorları ile PIC18F4550 mikrodenetleyici arasına yüksek voltaj çevirici konulmuştur.



Şekil 2.4. Butonlarla adım motorlarının hareketini sağlayan Proteus da çizilmiş açık devre

Önceki aşamada bilgisayardan bağımsız olarak butonlar aracılığıyla üç ayrı adım motorunun kontrolü gerçekleştirilmiştir. Bu aşamada ise adım motorlarından oluşan mikroskop motorize sistemin bilgisayar tarafından kontrol edilmesi için PIC18F4550 kullanılarak hazırlanan USB arayüz devre tasarımı gerçekleştirilmiştir. Önceki aşamada oluşturulan devreye USB konektör eklenerek açık devre şeması Proteus ISIS programında tekrar çizilerek güncellenmiştir. Hazırlanan devre çizildikten sonra Proteus ARES programı kullanılarak uygulama kartı için şekilde gösterilen baskı devre çıkarılmış ve bakır plaketlere baskı devre gerçekleştirilmiştir. Yapılan baskı devre ile PIC yardımıyla bilgisayar ile adım motorlarının haberleşmesi sağlanmıştır. Yapılan diğer çalışmalarında Microchip firmasının geliştirdiği hazır kartlar kullanılmasına rağmen bu çalışmada kendimizin geliştirdiği devre kullanılmıştır.



Şekil 2.5. Bilgisayar ile adım motorlarının hareketini sağlayan USB arayüz devresi

Şekil 2.5 de gösterilen USB ile bilgisayar ve adım motorlarının yönetilmesi için gerçekleştirilen devrede basitçe şu malzemeler kullanılmıştır:

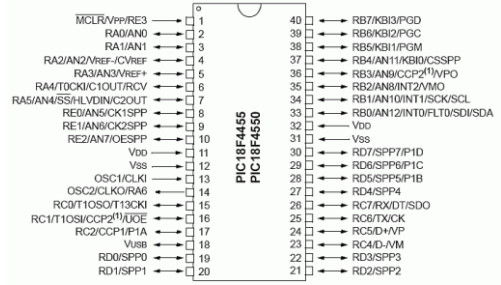
- 1 adet PIC18F4550
- X-Y-Z yönünde tabla hareketini sağlamak için 3 adet adım motoru
- 3 adet L298 Yüksek Voltaj Çevirici
- USB konnektör

➤ PIC18F4550

PIC18F4550 Microchip teknoloji firması tarafından üretilmiş en gelişmiş mikrodenetleyiciler arasındadır. Bu mikrodenetleyici 32 tanesi giriş/çıkış ara birimi olmak üzere toplam 40 pine sahiptir. Geri kalan 8 pin besleme gerilim, osilatör, reset (MCLR) gibi mikrodenetleyicinin çalışması için kullanılmaktadır. PIC18F4550 endüstriyel, medikal, otomotiv başta olmak üzere birçok uygulamada kullanılmaktadır. Diğer mikrodenetleyicilere göre üstün olan hızıyla kullanıcılar tarafından birçok uygulamada sıkça tercih edilmektedir. Ucuz olması, yüksek hesaplama hızına sahip olması, dayanıklılığının yüksek olması gibi PIC18F ailesinin de sahip olduğu özellikler dışında PIC18F4550 mikrodenetleyicisinin genel özellikleri şu şekildedir:

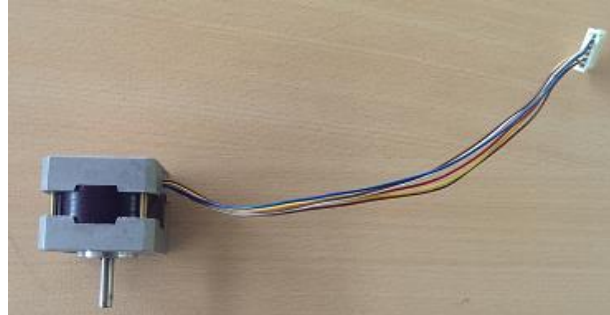
- USB 2.0 versiyonu ile tam uyumludur.
- Kontrol, kesme, eşzamanlı ve yığın tipi veri transferlerini desteklemektedir.
- 32 adet giriş-çıkış pinine sahiptir.

- 1K RAM belleğe sahiptir.
- Çevresel aygıtlarla iletişim kurabilmek için USB arabirimine sahiptir.
- Yazılıp silinebilen EEPROM'a sahiptir.
- Yazılım kontrolü ile kolayca programlanabilir.
- 4 adet giriş/çıkış portuna sahiptir.



Şekil 2.6. PIC18F4550 ve pin yapısı

➤ Adım Motoru



Şekil 2.7. Çalışmada kullanılan adım motorları

Yapılan çalışmada şekil 2.7 de gösterilen adım motorları kullanılmıştır. Genel özellikleri şu şekildedir:

- ◆ Motor Tipi: Bipolar adım motoru
- ◆ Adım Derecesi: 1,8 derece
- ◆ Maksimum Hızı: 600 rpm
- ◆ Volt: 12-24V

➤ L298 Entegresi

Yapılan devrede şekil 2.8 gösterilen L298 entegresi yüksek voltaj çevirici olarak kullanılmıştır.



Şekil 2.8. L298 Entegresi

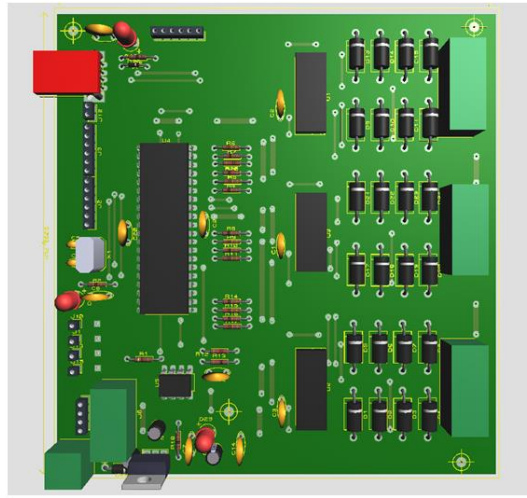
➤ USB Konnektörler

Günümüzde üretilen dizüstü bilgisayarların herhangi bir paralel porta sahip olmamaları, USB veri iletişim kullanımının oldukça kolay olması, USB konnektörlerin herhangi bir dış cihaza göre daha az yer kaplamaları, paralel port metotlarına göre daha az karmaşık olmaları yapılan çalışmalarda paralel portların tercih edilmemesine neden olmaktadır. Bu olumsuzlukları minimize etmek için yapılan çalışmalarda genellikle USB konnektörler kullanılmaktadır. USB konnektörlerin porta takılınca otomatik tanıma, tak çalıştır, ayar gerektirmeme özellikleri de mevcuttur.

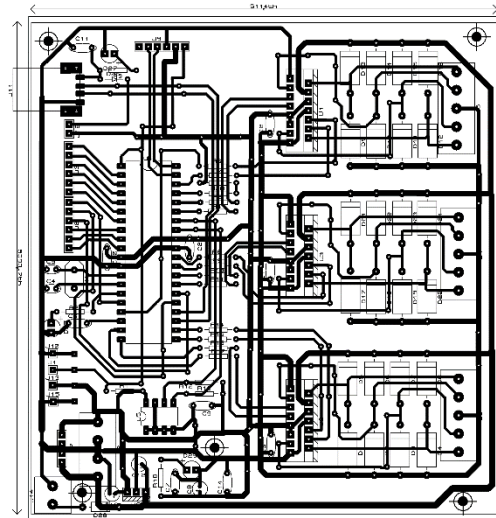
Şekil 2.9 da örnek bir USB konnektör tipi bulunmaktadır. USB ile haberleşme kablosu içinde bulunan birbirinden ayrı 4 adet kablo ile gerçekleştirilmektedir. Bu uçlar VCC, GND, D- ve D+ hatlarını temsil etmektedirler.



Şekil 2.9. USB konnektör



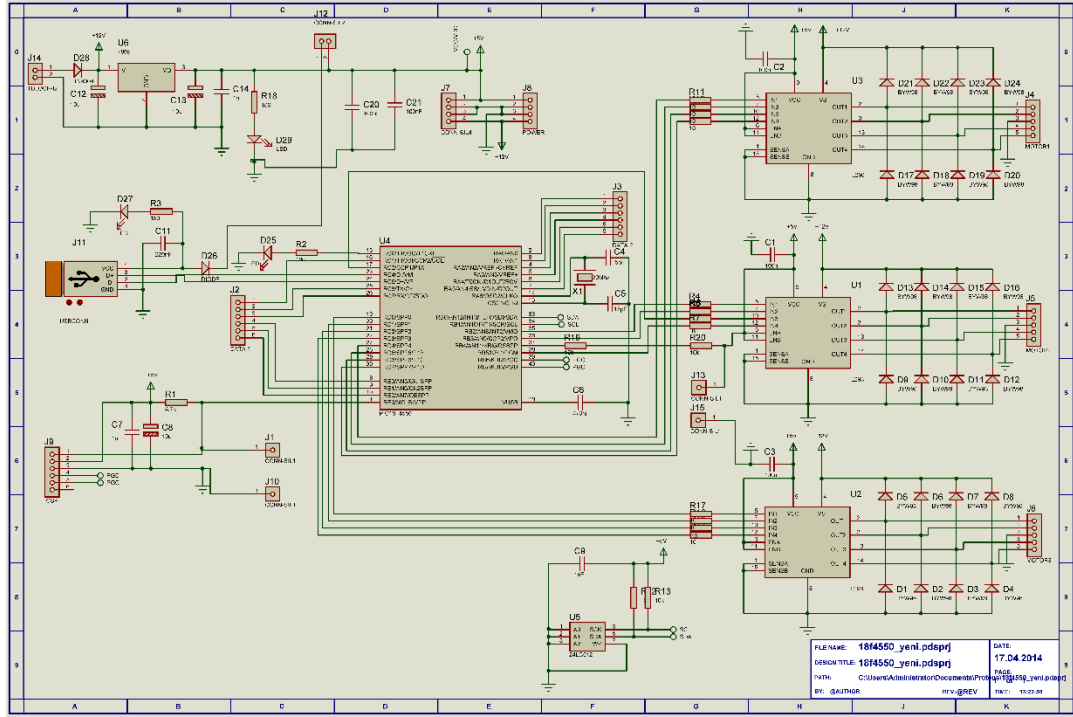
(a)



(b)

Şekil 2.10. Bilgisayar ile adım motorlarının hareketini sağlayan USB arayüz devresinin şemaları

Şekil 2.10' un devamı



(c)

Bilgisayar ile adım motorlarının yönetilmesi için gerçekleştirilen devre tasarlandıktan sonra devre ile bilgisayar USB aracılığıyla birbirine bağlanmaktadır. USB kablo aracılığıyla birbirine bağlanan devre ve bilgisayar direkt olarak çalışmaya başlayamaz. Bilgisayarın devreyi bir dış cihaz olarak görebilmesi için devrenin sürücü yardımıyla tanıtılması gerekmektedir. Bilgisayarın hazırlanan devreyi USB aracılığıyla tanınması için gerçekleştirilen adımlar şu şekildedir:

- PIC18F4550 mikrodenetleyicisinin USB aracılığıyla bilgisayarla haberleşmesi için ilk olarak firmware denilen hex dilinde yazılmış kodun mikro denetleyicisine yüklenmesi gerekmektedir. Microchip firması ürettiği her PIC için MCHPFSUSB denilen bir yapı üretmiştir. Bu yapı içinde mikro denetleyicinin bilgisayar tarafından tanınmasını sağlayan firmware bulunmaktadır. Bu çalışmada da MCHPFSUSB v1.2 versiyonu kullanılarak hex dosyası elde edilmiştir.
- Firmware dosyası (hex uzantılı kod) mikrodenetleyiciye yüklenmesi için özel bir donanıma ihtiyaç duyulmaktadır. Ek olarak herhangi bir yazılımla da mikrodenetleyiciye hex uzantılı dosyalar yüklenebilmektedir. Fakat

mikrodenetleyiciye ilk defa hex dosyası yükleniyorsa (bilgisayar tarafından tanınması için) genelde özel donanım tercih edilir. Picket2 bu donanımlardan bir tanesi olup çalışmada bu donanım aracılığıyla firmware dosyası PIC18F4550 mikrodenetleyicisine yüklenir. Picket2, mikrodenetleyicilere hex uzantılı dosya yüklemeye yarayan ve programlanmasını sağlayan bir donanımdır.

- Firmware dosyası mikrodenetleyiciye yüklendikten sonra devre USB aracılığıyla bilgisayara bağlanır ve bilgisayarda "Yeni donanım bulundu." bilgisinin ekrana gelmesi beklenir.
- Bilgisayar yeni donanımı bulduktan sonra yüklenen yapı içinde bulunan sürücü yardımıyla devrenin bilgisayar tarafından tanınması sağlanır.

Bilgisayarın hazırlanan devreyi USB aracılığıyla tanınması için gereken adımlar gerçekleştirildikten sonra bilgisayarda bulunan yazılım aracılığıyla aldığı emirlerle adım motor kontrolünü sağlayan hex dosyası elde edilmelidir. Çalışmada bunun için MPLAB platformunda gerekli kodlar yazılmış, C18 derleyicisi kullanılarak kodlar makine diline çevrilmiş ve hex dosyası elde edilmiştir.

Gerçekleştirilen devrenin bilgisayar tarafından tanınması kısmında da anlatıldığı gibi hex uzantılı dosyaların mikro denetleyiciye yüklenmesi için hazır yazılımlar ya da özel donanımlar kullanılmaktadır. Özel donanım kullanılması en basit yol olmasına rağmen mikrodenetleyicinin sürekli devreden çıkarılıp takılması gerektirdiği için bu donanımlar genelde sadece ilk aşamada tercih edilmektedir. Programcı yazdığı kodu sürekli mikrodenetleyiciye atarak denemeler yapacağı için mikrodenetleyicinin sürekli devreden takılıp çıkartılması hem programcıya yük getirecek hem de mikrodenetleyicinin bozulmasına sebep olabilecektir. Bu durumu engellemek için genelde bootloader yazılımı kullanılmaktadır. Bu yazılım mikrodenetleyiciyi devreden çıkarmadan yeni kodun yüklenmesine ya da güncellenmesine olanak sağlamaktadır. Bu yazılımın çalıştırılması için mikrodenetleyicinin bootload moduna alınması gerekmektedir. Mikro denetleyiciler iki modda çalışmaktadırlar:

- Okuma Modu: Bilgisayardan emir alarak bağlı olduğu donanıma iletir. Normal çalıştığı moddur.
- Okuma/Yazma Modu: Bootload modu. Bu modda mikrodenetleyiciye hex dosyaları yüklenebilir.

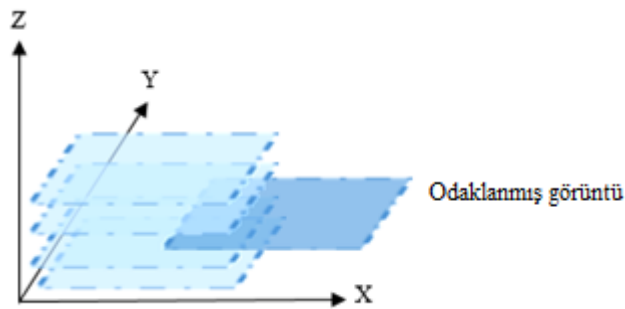
Çalışmada bilgisayar tarafından adım motorlarının hareket kontrolünü sağlayan bir önceki adımda elde edilmiş hex dosyasının mikrodenetleyiciye yüklenmesi için gerçekleştirilen adımlar şu şekildedir:

- Mikrodenetleyici devreden çıkartılmadan bootload ve reset tuşuna basılarak bootload moduna alınır.
- USB bilgisayara bağlı değilse bilgisayar ile bağlanır.
- Bootload yazılımı çalıştırılır.
- Elde edilen hex uzantılı kod yazılıma atılır.
- Yazılan kod yazılıma atıldıktan sonra mikrodenetleyiciye yüklenir.

Burada önceki adımlarda mikrodenetleyicinin tanınması için atılan hex kodunun silinmemesine dikkat edilmelidir. Eğer silindiyse mikrodenetleyiciye tekrar yüklenmelidir.

2.3. Kıstas Fonksiyonlarına Dayalı Mikroskobik Görüntüleme Otomatik Odaklama

Mikroskobik görüntüler üzerinde otomatik bakteri analizi süreçlerinde öncelikli işlem görüntüleme optimum odaklamanın gerçekleştirilmesidir. Bu çalışmada mikroskobik görüntüleri netleştirmek, mercek ile numune arasında kalan Z-ekseni yönündeki mesafenin imge dizilerinin kıstas fonksiyon analizine dayalı optimize edilmesine dayalıdır.

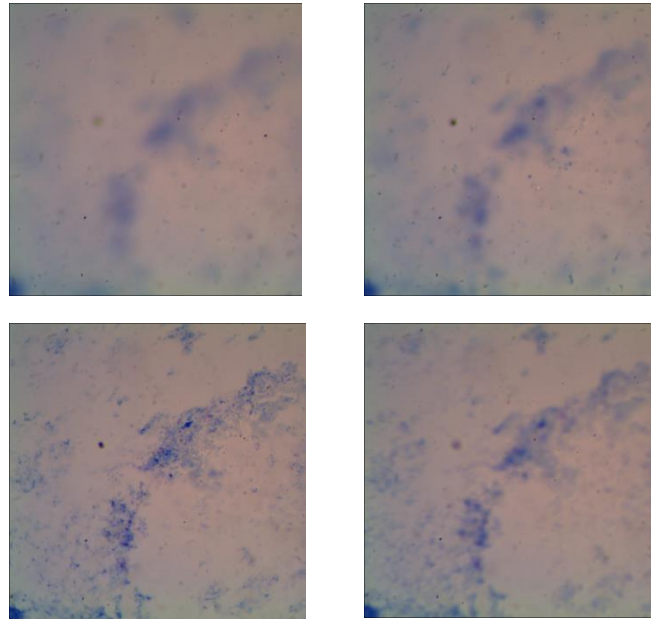


Şekil 2.11. Kıstas fonksiyonlarına dayalı otomatik odaklama

Mikroskobik görüntülerde Z eksenini yönünde otomatik odaklama yaparken gerçekleştirilen işlem adımları şu şekildedir:

- Mikroskop tablası Z eksenindeki adım motor yardımıyla hareket ettirilerek aynı görüş alanına sahip imgeler bilgisayara aktarılır.
- Aktarılan imge dizisindeki her imge için kıstas fonksiyon sonuçlarının elde edilir.
- Kıstas fonksiyon sonuçlarına göre olasılık yoğunluk fonksiyonunun oluşturulur.
- Elde edilen olasılık yoğunluk fonksiyonunda en yüksek kıstas fonksiyon sonucuna sahip imge belirlenir.
- Yeni alınan imge dizisinin en yüksek kıstas fonksiyon sonucunun bir önceki imge dizisinin en yüksek sonucundan büyük olduğu sürece adım1'e dönülerek tekrar imge dizisi alınır ve işlem adımlarına devam edilir.
- Yeni alınan imge dizisinin en yüksek kıstas fonksiyon sonucunun bir önceki imge dizisinin en yüksek sonucundan küçük olduğu tespit edildiğinde önceki imge dizisinin en yüksek kıstas fonksiyon sonucuna sahip imgesinin odaklanmış olduğuna karar verilir ve Z eksenindeki adım motoru bu mesafede durdurulur.

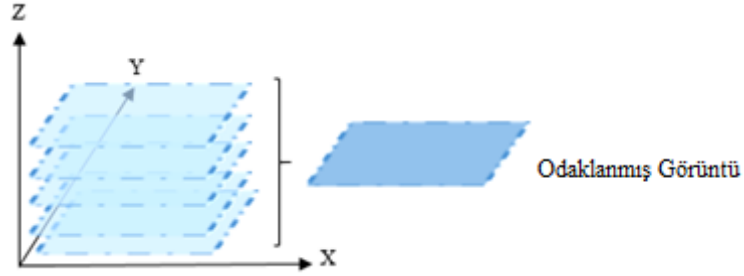
Şekil 2.12 de aynı Z ekseninden alınmış, kıstas fonksiyon sonuçları farklı görüntüler gösterilmektedir.



Şekil 2.12. Aynı Z ekseninde netlikleri farklı görüntüler

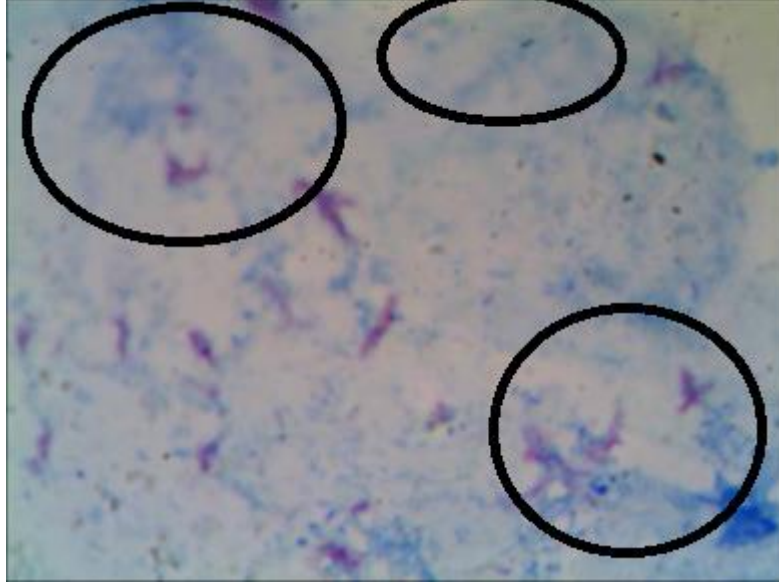
2.4. İmge Füzyon Yöntemine Dayalı Mikroskopik Görüntülemeye Otomatik Odaklama

Bir önceki adımda mikroskop üzerine yerleştirilen kamerayla aynı Z ekseninde art arda görüntüler alınmış ve kıstas fonksiyonu kullanılarak en odaklanmış görüntü bulunmuştur. Fakat alınan imge dizilerinde kıstas fonksiyon verilerine dayalı gerçekleştirilen otomatik odaklama ile bulunan odaklanmış imgede bölgesel bulanıklıkların olduğu fark edilmiştir. Art arda alınmış yani aynı görüş alanına sahip görüntülere bakıldığında kıstas fonksiyon sonuçlarıyla odaklanmış olarak bulunan görüntüde bulanık olan bölgenin kıstas fonksiyon değeri daha düşük olan görüntülerde bulanık olmadığı görülmüştür. Bu çalışmada, bulanık bölgeleri minimize etmek ve en odaklanmış görüntüyü sadece kıstas fonksiyon sonuçlarını kullanarak bulmak yerine, en yüksek odaklama değerine sahip (referans) görüntü ve kendi odaklama değerine en yakın sonuca sahip görüntüler imge füzyon yöntemleri kullanılarak birleştirilmesiyle görüntünün tüm alanında optimum odaklama elde edilmesi amaçlanmıştır.



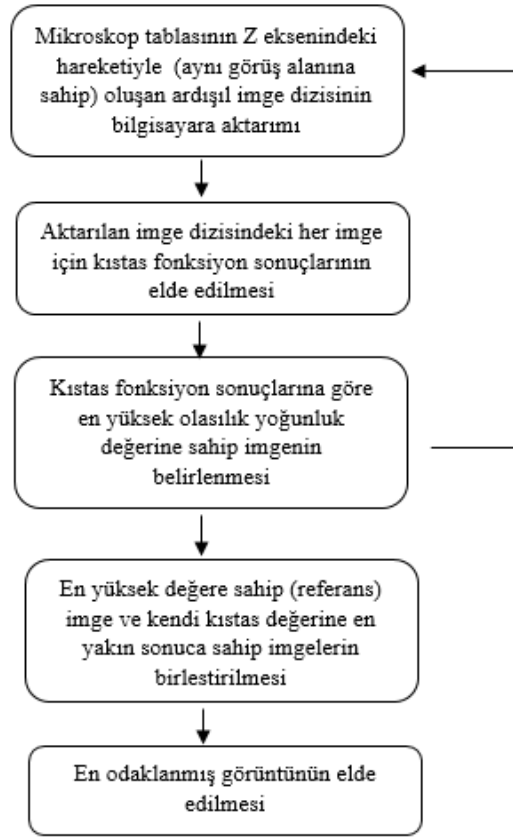
Şekil 2.13. İmge füzyon yöntemine dayalı otomatik odaklama

Şekil 2.14 de kıstas fonksiyonuna dayalı otomatik odaklama sürecinde bulunan bölgesel bulanıklıklara sahip odaklanmış görüntü bulunmaktadır.



Şekil 2.14. En yüksek kıstas fonksiyon sonucuna sahip bulanık görüntü

Önerilen yöntemde ilk olarak mikroskop objektifinin mikroskop lameline ait görüş alanını içeren mikroskobik görüntüler bilgisayar ortamına taşınır. Mikroskop tablasının yalnızca Z eksenindeki hareketiyle (aynı görüş alanına sahip) oluşan ardışıl imge dizilerinde netleştirme süreçleri gerçekleştirilir. Bu amaçla alınan imge dizilerinde kıstas fonksiyon verilerine dayalı görüntülerin netlik bilgileri hakkında netlik olasılık yoğunluğu elde edilir. İmge dizisindeki her bir imge için hesaplanan kıstas fonksiyon sonuçlarına göre en yüksek olasılık yoğunluk değerine sahip imge odaklanmış görüntü referans imge olarak belirlenir. Görüntünün tüm alanında optimum netliğin sağlanması ise en yüksek değere sahip (referans) imge ve kendi kıstas değerine en yakın sonuca sahip imgeler imge füzyonu yöntemleri kullanılarak birleştirilerek görüntünün tüm alanında optimum odaklanma elde edilir. Görüntü birleştirme aşamasında farklı renk uzayları ile dalgacık dönüşümü tabanlı görüntü birleştirme algoritmaları kullanılmıştır.



Şekil 2.15. İmge füzyon yöntemine dayalı otomatik odaklama akış diyagramı

2.5. Mikroskopik Görüntülerde Otomatik Tarama

Mikroskop Z ekseninde imge odaklamasının otomatik gerçekleştirilmesinden sonra mikroskop tablası X-Y yönünde hareket ettirilerek mikroskopik görüntüler üzerinde otomatik imge analizi yapılmaya başlanır.

Bu çalışmada tarama süreci anında ilk olarak Z ekseninde olası mesafe değişiminden dolayı meydana gelen odaklama bozulmalarının otomatik olarak tespiti ve düzeltilmesi amaçlanmaktadır. X-Y düzleminde görüntüler arası odaklama bozulmasının otomatik algılanması için kıstas fonksiyonları kullanılmaktadır. X-Y yönünde otomatik tarama yapılırken mikroskopik görüntüler üzerinde netliğin otomatik sürdürülmesi için gerçekleştirilen işlem adımları şu şekildedir:

- Otomatik odaklama yapılarak bulunan odaklanmış görüntü ardından mikroskop tablası X-Y eksenlerindeki adım motorları yardımıyla hareket

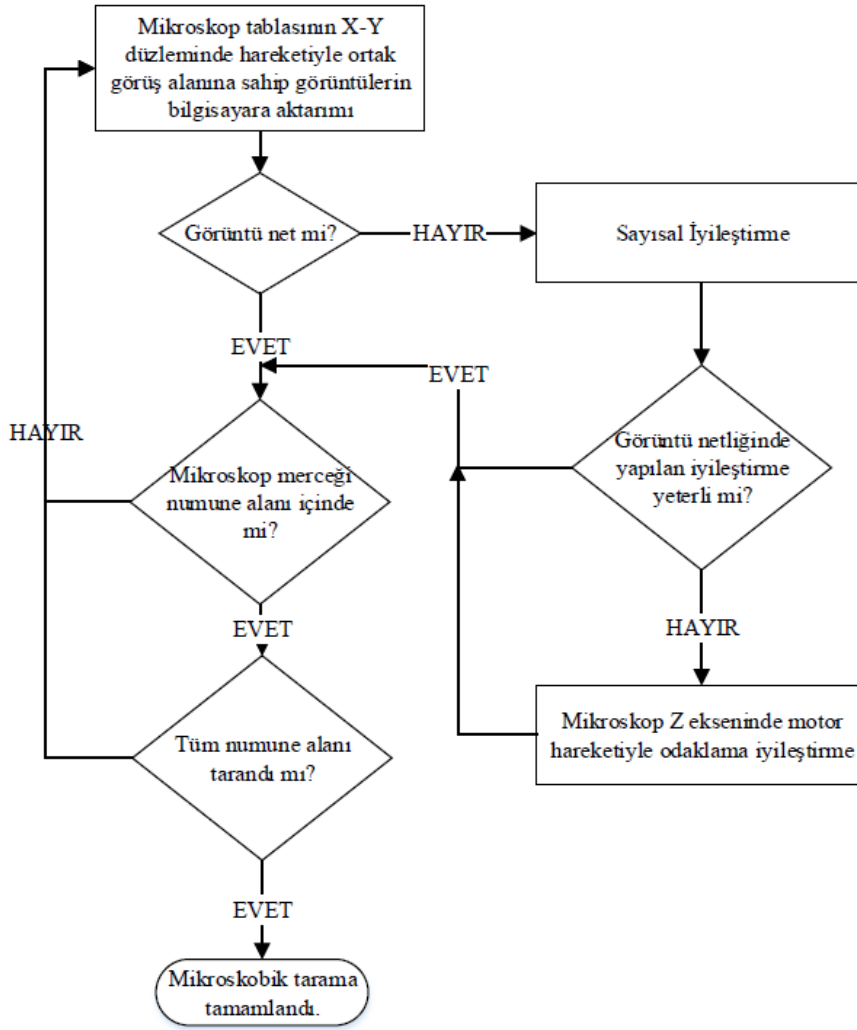
ettirilerek odaklanmış imge ile ortak görüş alanına sahip imge bilgisayara aktarılır.

- Aktarılan imge için kıstas fonksiyon sonucu hesaplanır.
- Odaklanmış imge ile bilgisayara aktarılan imgenin kıstas fonksiyon sonuçlarının farkları alınarak belirlenen eşik değeri ile karşılaştırılır.
- Eğer aradaki fark belirlenen eşik değerinden büyük ise odaklama bozulumu olduğuna karar verilir. Odaklama bozulumunun düzeltilmesi için ilk olarak sayısal iyileştirme yapılır. Sayısal iyileştirmenin yeterli olmadığı durumlarda Z eksenindeki motor hareket ettirilerek motorize iyileştirme yapılır ve odaklama tekrar elde edilmiş olur.
- Eğer aradaki fark belirlenen eşik değerinden az ise adım 1'e dönülerek tekrar imge alınır ve diğer adımlar tekrarlanır.

Yapılan çalışmada sayısal iyileştirme yöntemi olarak Wiener filtresi kullanılmaktadır.

Mikroskop tablası X-Y yönünde hareket ettirilerek numune sahası üzerinde tarama yapılırken amaçlanan diğer bir işlem ise numune sahası alanının dışına çıkılıp çıkılmadığının otomatik tespitidir. Bu aşamada amaç taranacak numune sahası X-Y yönünde kısıtlanarak üzerinde numune olmayan bölgelerin gereksiz yere incelenmemesidir. Numune alanı sınırına gelinip gelinmediğinin tespiti Yapay Sinir Ağları kullanılarak belirlenir. Yapılan çalışmada yapay sinir ağı modeli olarak İleri Beslemeli Hata Geri Yayılımlı Öğrenme Algoritması kullanılmıştır. Yapay sinir ağı modelinin eğitilmesi için cam tabakanın örüntü yapısı, numune bölgesi ve numunenin cam tabaka üzerinde kapsadığı alanın bölgesi ile cam tabakanın örüntü yapısı (numune sınır bölgeleri) giriş olarak kullanılmıştır.

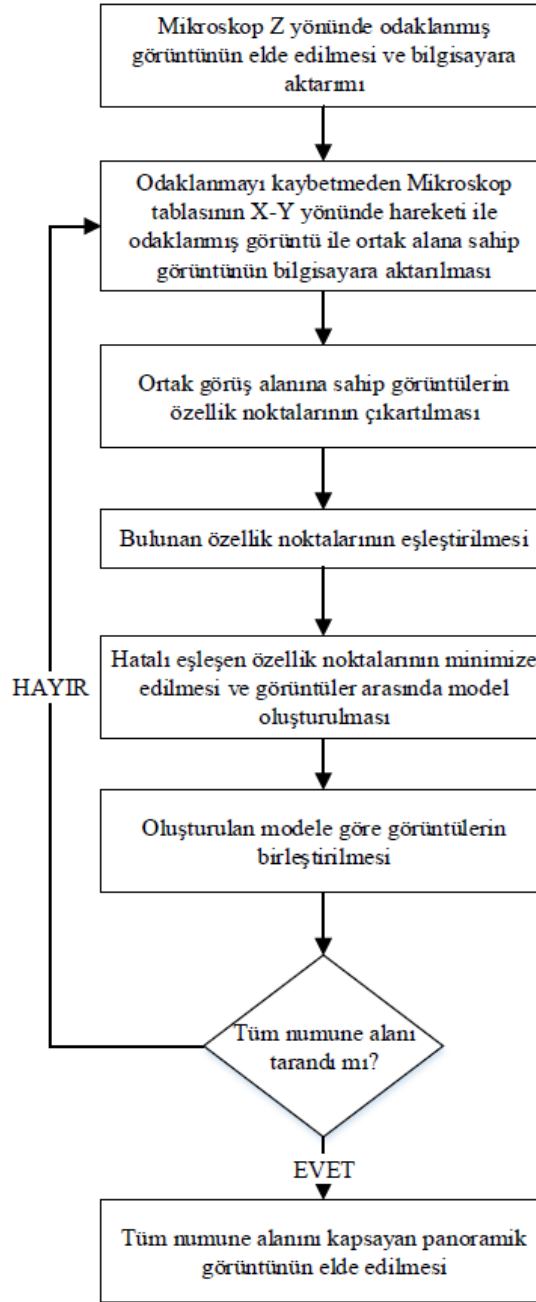
Şekil 2.16 da yapılan çalışmada gerçekleştirilen mikroskobik görüntülerde otomatik tarama işleminin akış diyagramı bulunmaktadır.



Şekil 2.16. Otomatik tarama akış diyagramı

2.6. Mikroskopik Görüntülerde Panoramik Birleştirme

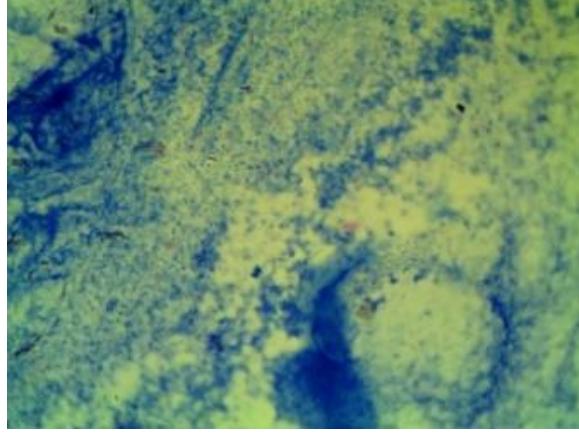
Mikroskop tablasına yerleştirilen numune üzerinde bakteri analizi yapılırken numunenin sadece belirli kısmı görülebilmektedir. Mikrobiyoloji laboratuvar teknisyenleri numunenin bütün alanını görebilmek için el-göz kontrolü yaparak numunenin üzerinde bulunduğu tablayı X-Y yönünde hareket ettirmeye başlamaktadırlar. Bu çalışmada numunenin tüm alanının odaklanmış bir şekilde görüldüğü tek bir görüntü elde etmek amaçlanmakta ve uygulanan akış ve adımlar şekil 2.17 de gösterilmektedir.



Şekil 2.17. Panoramik görüntü birleştirme adımları

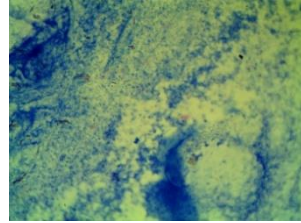
Mikroskop üzerinde X-Y yönünde art arda alınan görüntülerin birleştirilme adımları ve kullanılan yöntemler şu şekildedir:

1. İlk olarak mikroskop tablası adım motoru yardımıyla hareket ettirilerek en odaklanmış görüntü elde edilir ve bilgisayar ortamına aktarılır. Şekil 2.18 de mikroskop Z yönünde bulunmuş odaklanmış görüntü gösterilmektedir.

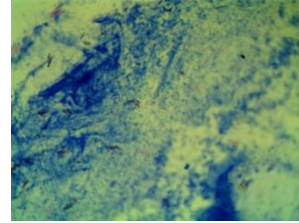


Şekil 2.18. Z yönünde bulunmuş odaklanmış görüntü

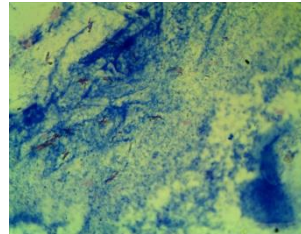
2. Odaklanmış görüntü elde edildikten sonra tabla odaklanmayı kaybetmeden X-Y yönünde adım motoru kontrolüyle hareket ettirmeye başlanır ve odaklanmış görüntüyle ortak alana sahip görüntüler bilgisayara aktarılır. Şekil 2.19 da odaklanması bozulmadan elde edilmiş X-Y yönünde ortak alanlara sahip görüntüler bulunmaktadır.



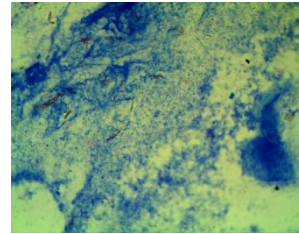
(a)



(b)



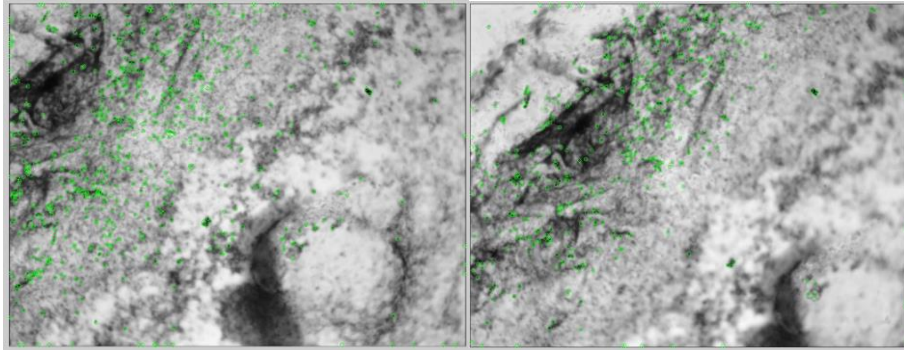
(c)



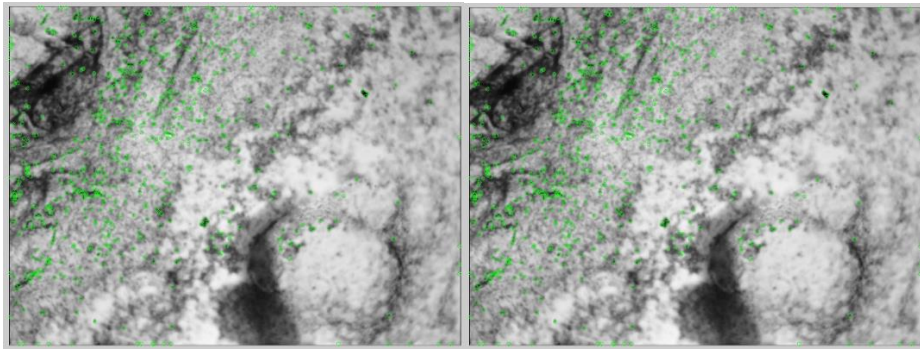
(d)

Şekil 2.19. Odaklanması bozulmadan elde edilmiş X-Y yönünde ortak alanlara sahip görüntüler

3. Birleştirilecek görüntülerin özellik noktaları çıkarılır. Yapılan tez çalışmasında görüntülerin özellik noktalarının belirlenmesi için Harris köşe bulma algoritması, SIFT ve SURF özellik çıkarma algoritmaları kullanılmıştır. Şekil 2.20 de (a) ve (b) görüntülerinin Harris köşe bulma, SIFT ve SURF özellik çıkarma algoritmaları kullanılarak elde edilmiş özellik noktaları bulunmaktadır. Harris köşe bulma algoritması ve SIFT özellik çıkarma algoritması ile özellik noktaları bulunan görüntülerdeki yeşil noktalar özellik noktalarını ifade etmektedir. SURF özellik çıkarma algoritması ile özellik noktaları bulunan görüntülerdeki daireler özellik noktalarını göstermektedir. Daire boyu ölçeklemeyi, yeşil çizgiler yönü, kırmızı koyu bölgelerdeki açıklığı ve mavi ise açık bölgelerdeki koyuluğu temsil etmektedir.



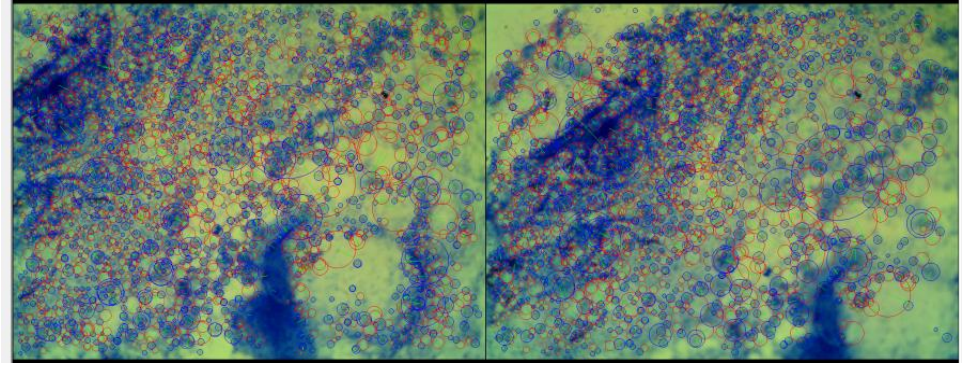
(a)



(b)

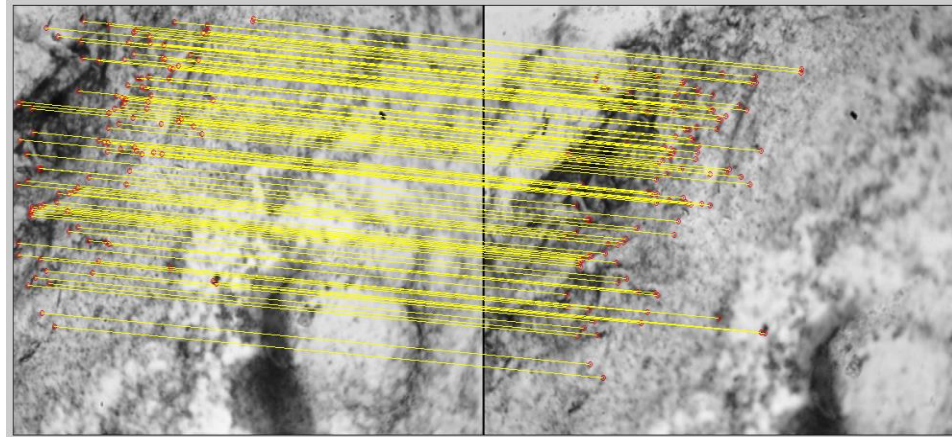
Şekil 2.20. (a) Harris köşe bulma algoritması, (b) SIFT ve (c) SURF algoritmaları ile elde edilen özellik noktaları

Şekil 2.20'nin devamı



(c)

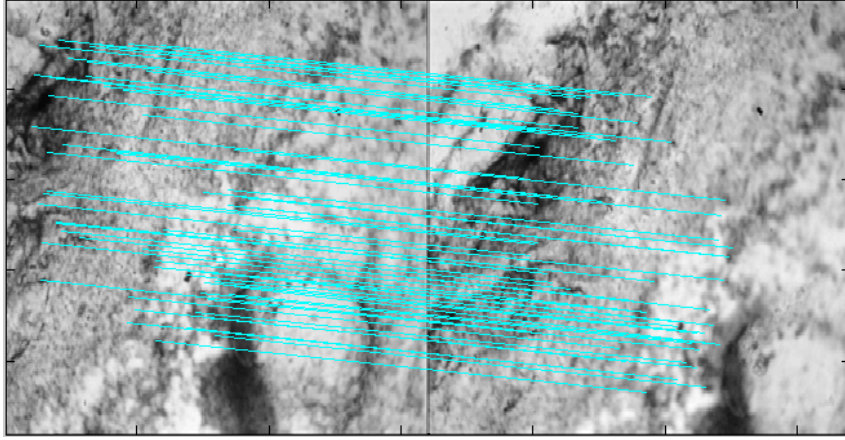
4. Bu aşamada iki görüntüde bulunan özellik noktalarının birbirleri ile eşleştirilmesi yapılır. Bu aşamada Harris köşe bulma algoritması ile bulunan özellik noktalarının eşleştirilmesi için Çapraz Korelasyon yöntemi, SIFT ve SURF yöntemleri ile bulunan özellik noktalarının eşleştirilmesi için ise Öklid uzaklığı kullanılmaktadır. Şekil 2.21 de bir önceki aşamada elde edilen özellik noktalarının eşleştirilmesi bulunmaktadır.



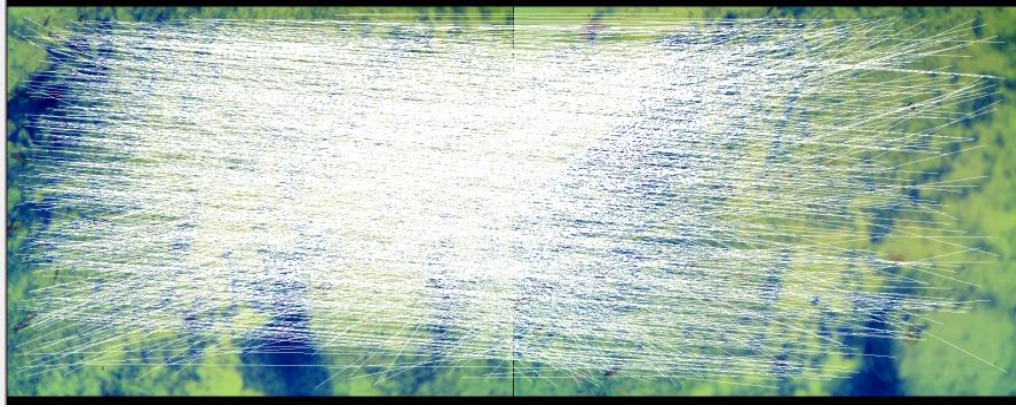
(a)

Şekil 2.21. (a) Harris köşe bulma algoritması, (b) SIFT ve (c) SURF algoritmaları ile elde edilen özellik noktalarının eşleştirilmesi

Şekil 2.21'in devamı

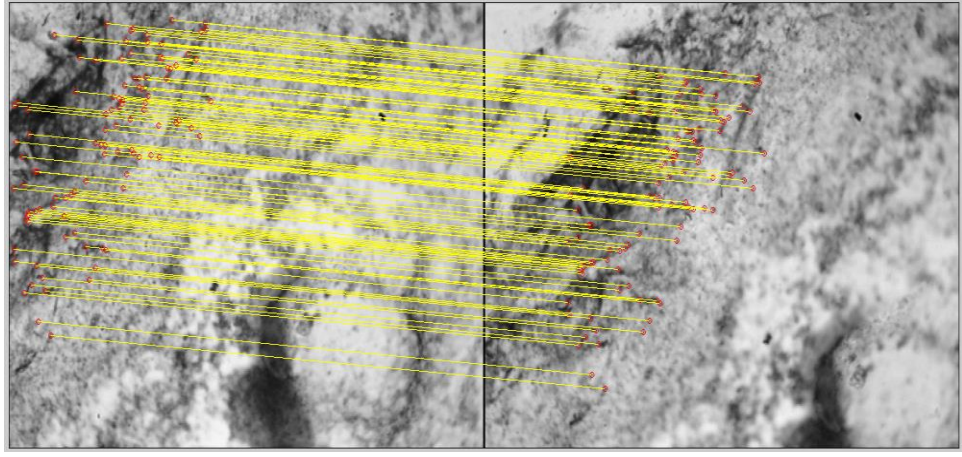


(b)

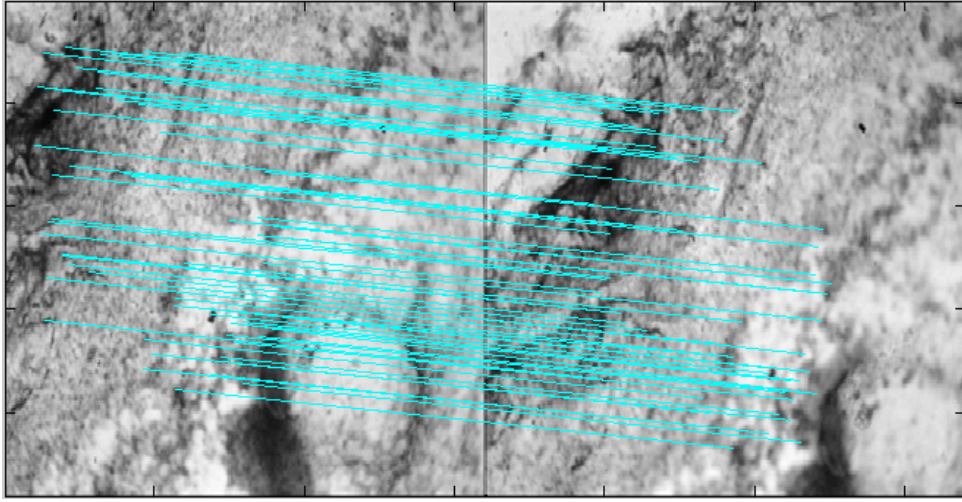


(c)

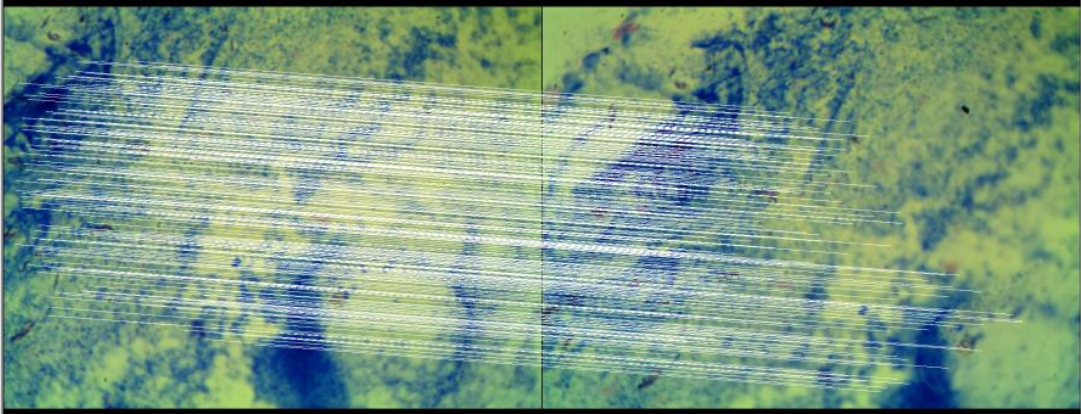
5. Bir önceki aşamada bulunan özellik noktaları arasındaki eşleşmelerde bazı hatalar meydana gelmektedir. Bu hataları minimize etmek ve görüntüler arasında model oluşturmak için görüntüler arasında RANSAC metodu uygulanmaktadır. Şekil 2.22 de önceki aşamada eşlenmiş bulunan noktaların RANSAC metodu uygulanmış hali bulunmaktadır.



(a)



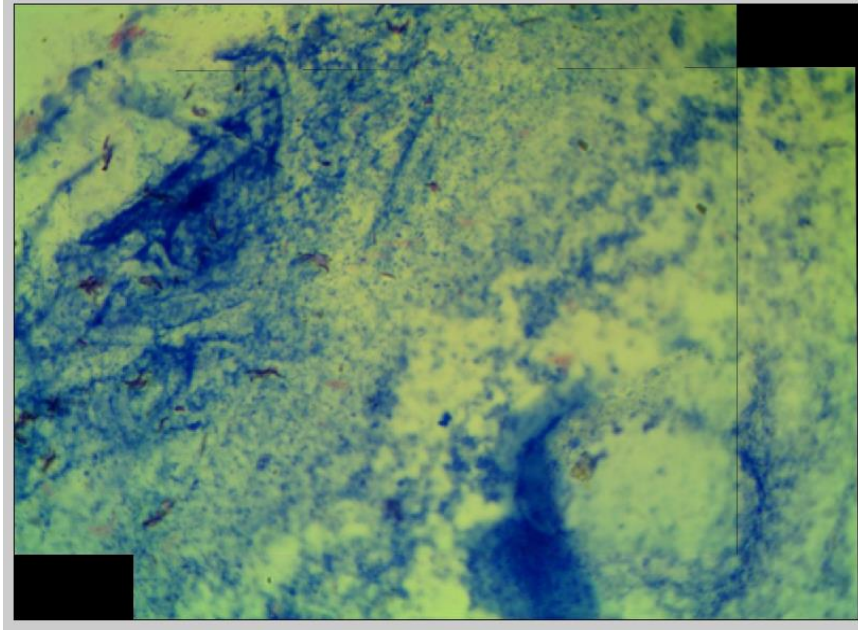
(b)



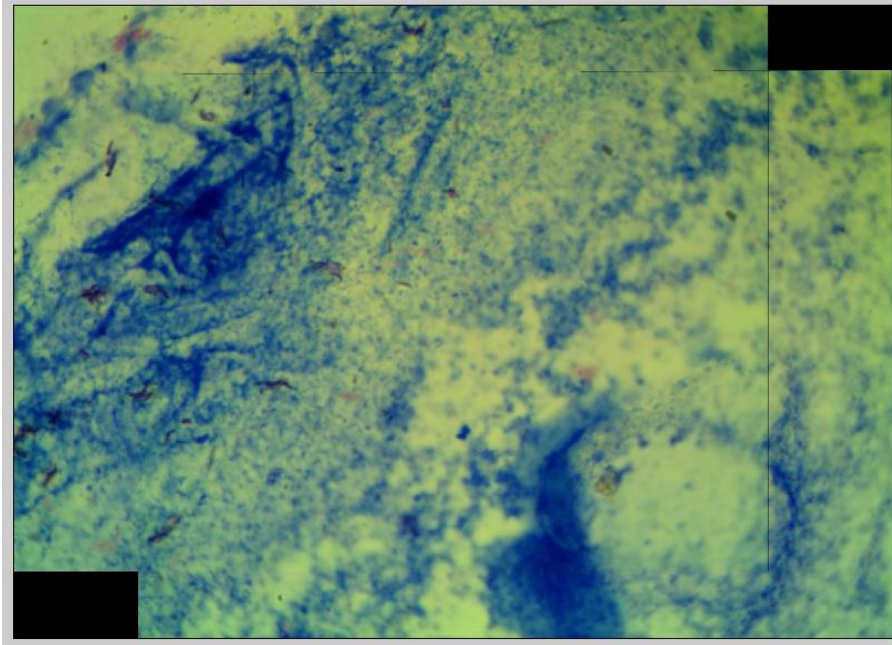
(c)

Şekil 2.22. (a) Harris köşe bulma algoritması, (b) SIFT ve (c) SURF algoritmaları ile elde edilen özellik noktalarının RANSAC yöntemi ile minimize edilmesi

6. Bir önceki adımda elde edilen modele göre görüntüler birleştirilir.



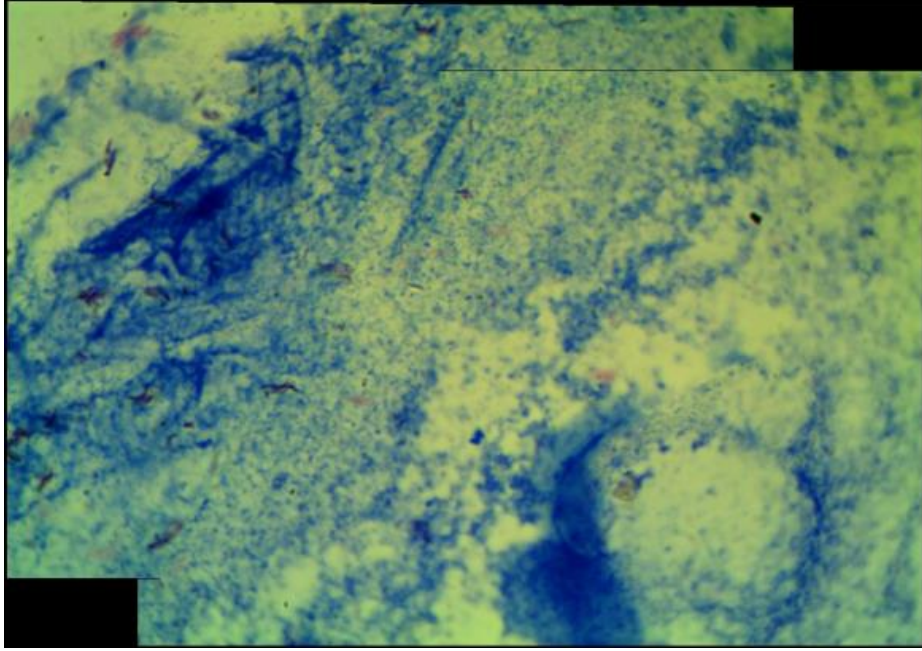
(a)



(b)

Şekil 2.23. (a) Harris köşe bulma algoritması, (b) SIFT ve (c) SURF algoritmaları elde edilen panoramik görüntüler

Şekil 2.23'ün devamı.



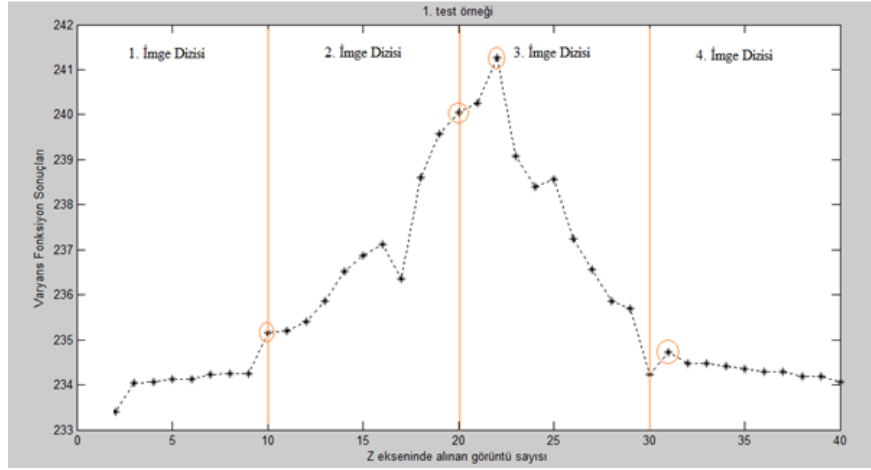
(c)

2.7. Deneysel Sonuçlar ve Karşılaştırmalar

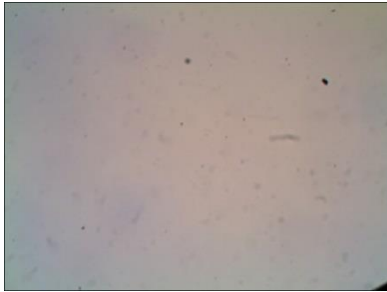
Yapılan çalışmada ilk olarak Z eksenindeki motor yardımıyla mikroskop tablası Z yönünde hareket ettirilmiş ve art arda görüntü dizileri alınarak kıstas fonksiyonlarına dayalı otomatik odaklama işlemi gerçekleştirilmiştir. Uygulama için test işlemi TB (Tüberküloz) tanısı amaçlı ARB ile boyanmış balgam yaymaları içeren farklı lamlardan alınan imge dizilerinde gerçekleştirilmiştir. Yapılan çalışmada kıstas fonksiyonu olarak görüntü kontrastı tabanlı Varyans, histogram tabanlı Entropy ve görüntü farklılaşması tabanlı Tenengrad fonksiyonları kullanılmıştır.

Mikroskopik görüntülerde kıstas fonksiyonlarına dayalı otomatik odaklamayla Z ekseninde odaklanmış görüntüyü bulmak için yapılan test işleminde ilk olarak 10 tane imge içeren imge dizileri alınmış ve kıstas fonksiyon sonuçları hesaplanmıştır. Bölüm 1.4.2 de anlatılan maksimum bulma yöntemine göre en yüksek odaklama sonucuna sahip görüntü bulunmuş ve daha sonra art arda alınan imge dizilerinde aynı adımlar tekrarlanarak maksimum netliğe sahip görüntü elde edilmiştir. Şekil 2.24 de 10 tane imgeden oluşan imge dizilerinin Varyans fonksiyon sonuçları gösterilmektedir. Daire içine alınmış

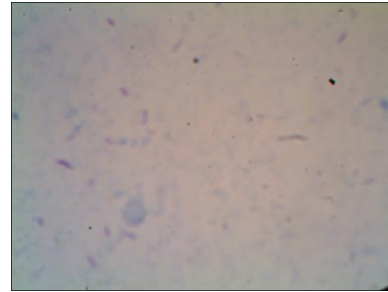
sonuçlar imge dizileri içinde maksimum sonuca sahip görüntüleri göstermektedir. Ek olarak test işleminde literatürde kullanılan maksimum arama yöntemlerinden Tepe Tırmanma algoritması kullanılmıştır. Tez çalışmasında önerilen maksimum arama metoduyla 22. görüntü odaklanmış bulunmuşken, Tepe Tırmanma algoritması ile 17. görüntü odaklanmış bulunmuştur.



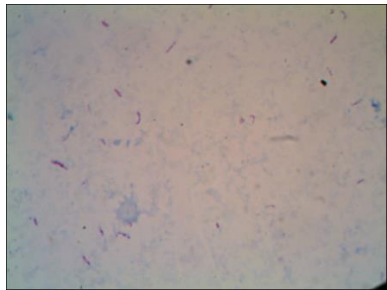
Şekil 2.24. İmge dizisinin Varyans fonksiyon sonuçları



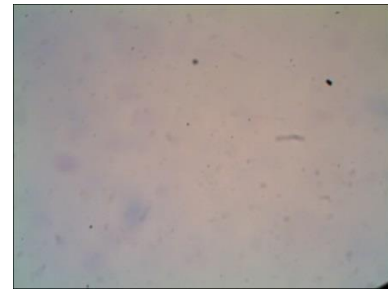
Varyans fonksiyon sonucu = 235.153



Varyans fonksiyon sonucu = 240.059



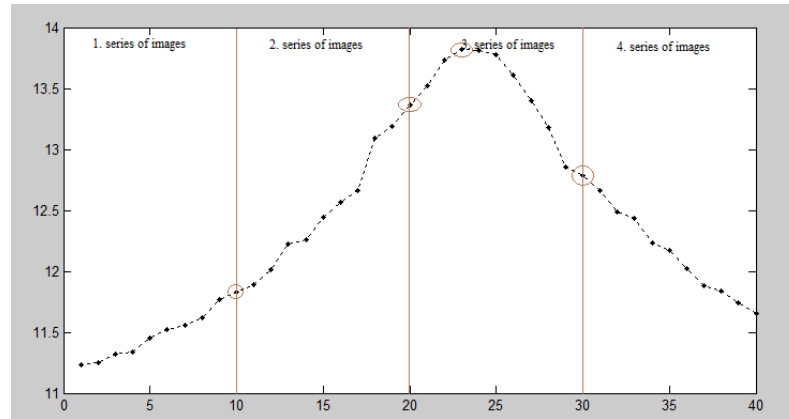
Varyans fonksiyon sonucu = 241.271



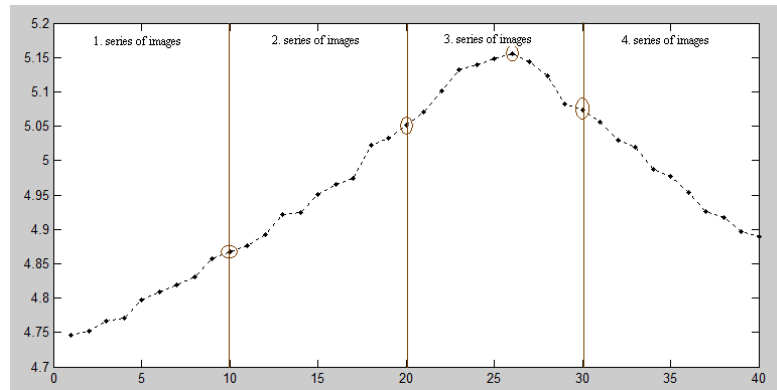
Varyans fonksiyon sonucu = 234.731

Şekil 2.25. İmge dizilerindeki maksimum Varyans fonksiyon sonucuna sahip görüntüler ve değerleri

Mikroskobik görüntülerde kıstas fonksiyonlarına dayalı otomatik odaklamayla Z ekseninde odaklanmış görüntüyü bulmak için yapılan ikinci test işleminde ise tekrar 10 tane görüntü içeren imge dizileri alınmış ve kıstas fonksiyon sonuçları hesaplanmıştır. Bu test işleminde otomatik odaklamanın kıstas fonksiyon çeşidine bağlı olup olmadığını incelenmiştir. Bunun için Varyans, Entropy ve Tenengrad olmak üzere 3 farklı çeşit kıstas fonksiyonu kullanılmıştır. Bölüm 1.4.2 de anlatılan maksimum bulma yöntemine göre en yüksek sonuca sahip görüntü bulunmuş ve daha sonra art arda alınan imge dizilerinde adımlar tekrarlanarak maksimum netliğe sahip görüntüler elde edilmiştir. Şekil 2.26 da 10 tane imgeden oluşan imge dizilerinin kıstas fonksiyon sonuçları gösterilmektedir. Daire içine alınmış sonuçlar imge dizileri içinde maksimum sonuca sahip görüntüleri göstermektedir.



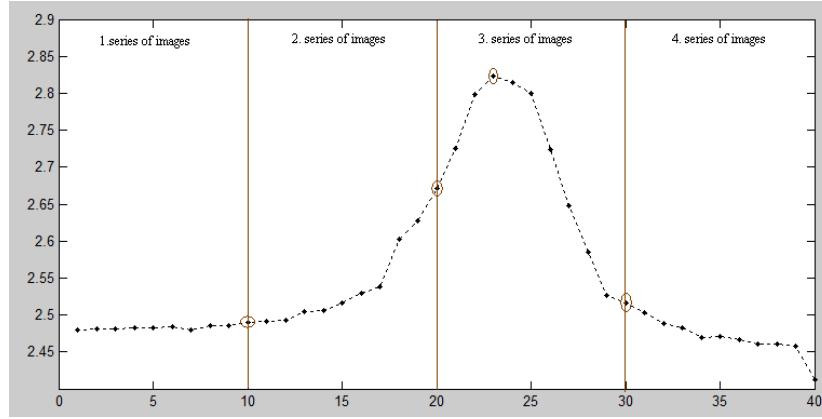
(a) Varyans Fonksiyonu



(b) Entropy Fonksiyonu

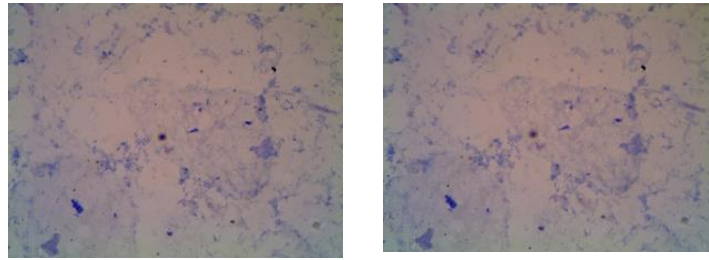
Şekil 2.26. İmge dizisinin Varyans, Entropy ve Tenengrad fonksiyon sonuçları

Şekil 2.26'nın devamı.



(c) Tenengrad Fonksiyonu

Kıstas fonksiyonu tabanlı otomatik odaklama işlemine göre şekil 2.27 de görüldüğü gibi kullanılan fonksiyon çeşitlerine göre aynı imge dizisi içerisinde farklı odaklanmış görüntüler bulunmuştur. Varyans ve Tenengrad fonksiyonları kullanıldığında aynı görüntü odaklanmış olarak bulunmuş ve imge dizisi içerisinde 23. görüntünün odaklanmış olduğuna karar verilmiştir. Entropy fonksiyonu kullanıldığında ise diğer fonksiyonlarından farklı bir görüntü odaklanmış bulunmuştur. Bu fonksiyona göre ise 26. görüntü odaklanmış olduğuna karar verilmiştir.



(a)

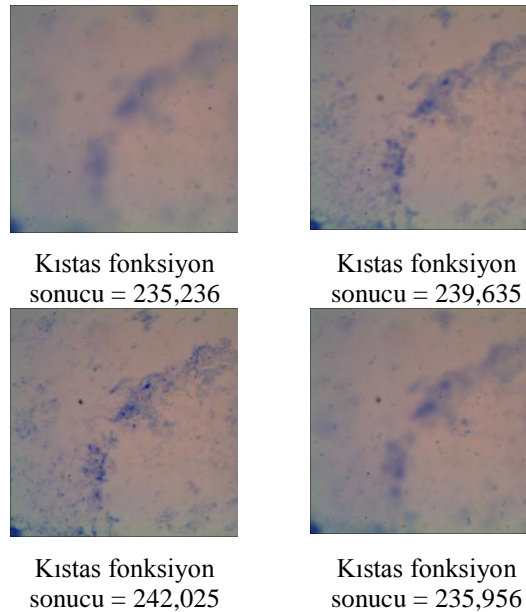
(b)

Şekil 2.27. (a) Varyans ve Tenengrad, (b) Entropy fonksiyonları sonuçlarına göre bulunan odaklanmış görüntüler

Bir önceki adımda mikroskop üzerine yerleştirilen kamerayla aynı Z ekseninde art arda görüntüler alınmış ve kıstas fonksiyonu kullanılarak en odaklanmış görüntü bulunmuştur. Fakat alınan imge dizilerinde kıstas fonksiyon verilerine dayalı otomatik

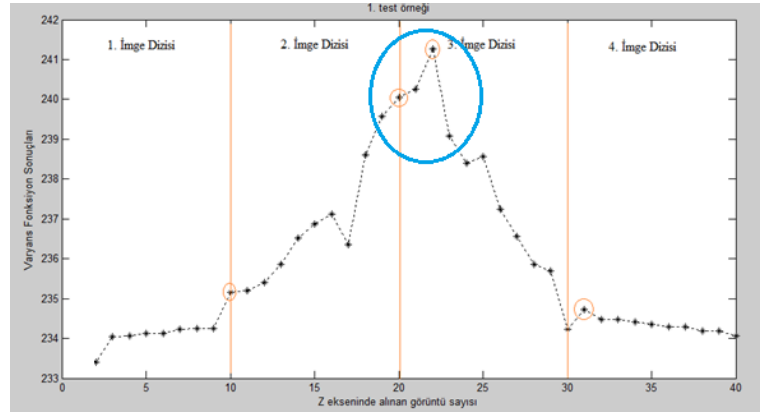
odaklama ile odaklanmış bulunan imgede bölgesel bulanıklıkların olduğu fark edilmiştir. Art arda alınmış yani aynı görüş alanına sahip görüntülere bakıldığında kıstas fonksiyon sonuçlarıyla odaklanmış olarak bulunan görüntüde bulanık olan bölgenin kıstas fonksiyon değeri daha düşük olan görüntülerde bulanık olmadığı fark edilmiştir. Bu çalışmada, bu bulanık bölgeleri minimize etmek ve en odaklanmış görüntüyü sadece kıstas fonksiyon sonuçlarını kullanarak bulmak yerine, en yüksek değere sahip (referans) görüntü ve kendi kıstas değerine en yakın sonuca sahip görüntüler imge füzyon yöntemleri kullanılarak birleştirilmiştir. Yapılan tez çalışmasında görüntünün tüm alanında optimum odaklanma elde edilmesi amaçlanmış ve imge füzyon yöntemine dayalı otomatik odaklama önerilmiştir.

Mikroskobik görüntülerde imge füzyon yöntemlerine dayalı otomatik odaklamayla Z ekseninde odaklanmış görüntüyü bulmak için yapılan test işlemi önceki test işlemlerinde kullanılan numunelerden farklı, başka bir hastaya ait olan balgam yayma örneğinden alınan görüntüler üzerinde yapılmıştır. İlk aşama olarak mikroskop tablası Z ekseninde hareket ettirilerek ardışıl imge dizisi bilgisayara aktarılmış ve aktarılan dizideki her imge için kıstas fonksiyon (Varyans Fonksiyonu) sonuçlarına göre odaklanmış görüntü bulunmuştur. Şekil 2.28 de aynı Z ekseninden alınmış (aynı görüş alanına sahip) imge dizilerin maksimum sonuca sahip görüntüleri ve kıstas fonksiyon sonuçları gösterilmektedir.



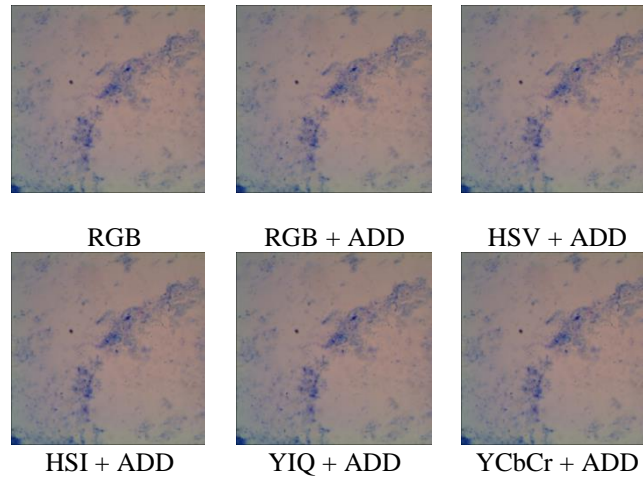
Şekil 2.28. Aynı Z ekseninden alınmış (aynı görüş alanına sahip) imge dizilerin maksimum sonuca sahip görüntüleri ve kıstas fonksiyon sonuçları

Sonraki aşamada aktarılan imge dizisinin kıstas fonksiyon sonuçlarına göre bulunan odaklanmış görüntü referans görüntü kabul edilmiştir. Şekil 2.29 da görüldüğü gibi referans görüntü ve bu görüntüye yakın kıstas fonksiyon sonucuna sahip 4 görüntü RGB ve farklı renk kanalları + ADD tabanlı imge füzyon yöntemleri kullanılarak birleştirilmiş ve imge füzyon yöntemine dayalı otomatik odaklama işlemi gerçekleştirilmiştir.



Şekil 2.29. İmge füzyonunda kullanılan görüntülerin kıstas fonksiyon sonuçları

Şekil 2.30 da farklı renk uzayları ve ADD tabanlı imge füzyonu yöntemlerine dayalı otomatik odaklama ile elde edilmiş görüntüler bulunmaktadır.



Şekil 2.30. RGB ve farklı renk uzayları + ADD tabanlı imge füzyon yöntemlerine dayalı otomatik odaklama ile elde edilmiş görüntüler

Tablo 2.1. İmge füzyon yöntemine dayalı otomatik odaklamadan elde edilmiş görüntülerin kıstas fonksiyon sonuçları

İmge füzyon metodu	Varyans	Entropy	Tenengrad
Kıstas fonksiyonuna dayalı otomatik odaklama	242,025	5.1231	2.8233
RGB	243,056	5.1368	2.9563
RGB +ADD	244.308	5.1496	3.0525
HSV +ADD	244.526	5.1521	3.0658
HSI +ADD	244.459	5.1529	3.0756
YIQ +ADD	245.086	5.1685	3.0984
YCbCr +ADD	245.268	5.1690	3.1065

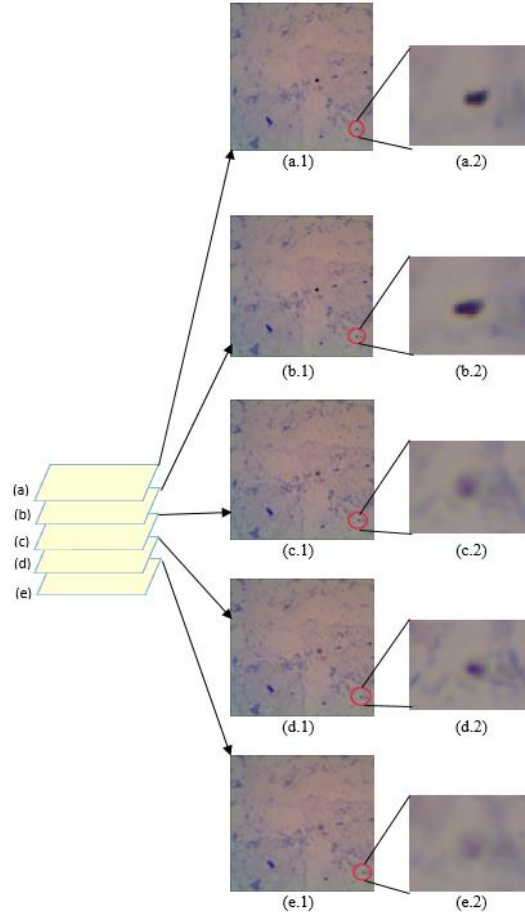
Yapılan çalışmada kıstas fonksiyonlarına dayalı otomatik odaklama yapmak yerine mikroskop Z ekseninde en odaklanmış görüntüyü bulmak için imge füzyon yöntemine dayalı otomatik odaklama önerilmiştir. Kullanılan metotların hangisinin daha başarılı olduğu, hangi renk modelinin imge füzyonu için uygun olduğunu ispatlamak için tez çalışmasında bazı değerlendirme kriterleri kullanılmıştır.

Tablo 2.2. İmge füzyon yöntemine dayalı otomatik odaklamadan elde edilmiş görüntülerin istatistiksel sonuçları

İmge füzyon metodu	PSNR	OH	RMSE	KK
RGB	37.210	0.029	0.0015	0.5269
RGB + ADD	40.682	0.075	0.0265	0.7589
HSV + ADD	42.568	0.105	0.0625	0.8692
HSI + ADD	41.965	0.101	0.0958	0.9482
YIQ + ADD	43.763	0.107	0.1052	0.9952
YCbCr + ADD	45.436	0.206	0.2105	0.9999

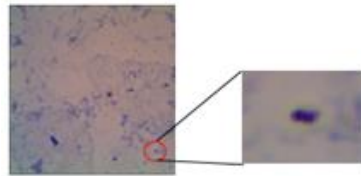
Tablo 2.1 ve tablo 2.2 RGB, farklı renk modelleri + ADD tabanlı imge füzyon yöntemlerine dayalı otomatik odaklamadan elde edilmiş görüntülerin istatistiksel sonuçlarını ve kıstas fonksiyon değerlerini göstermektedirler. Tablo 2.1. sonuçlarına göre önerilen

otomatik odaklama yöntemiyle elde edilmiş görüntüler kıstas fonksiyon tabanlı otomatik odaklama ile elde edilmiş görüntüden daha yüksek kıstas fonksiyon sonuçlarına sahiptir. Ek olarak tablo 2.2 de önerilen otomatik odaklama yöntemi PSNR, ortalama hata (OH), RMSE ve korelasyon katsayısı (KK) yöntemleri ile karşılaştırılmıştır. Tablo 2.2 sonuçlarına göre ayırık dalgacık dönüşümü uzaysal domene göre imge füzyon yöntemleri için daha uygundur. ADD görüntülerin belirgin özelliklerinin elde edilmesinde önemli role sahip olmaktadır. Tablo 2.2 sonuçlarına bakıldığında RGB renk uzayı ile elde edilen görüntülerin sonuçları daha düşük olduğundan renkli görüntülerin füzyonu için uygun olmadığı görülmüştür. Ek olarak, YCbCr renk uzayı en yüksek sonuçları vermiş ve bu uzayın renkli görüntülerin füzyonu için en uygun renk uzayı olduğu görülmüştür.

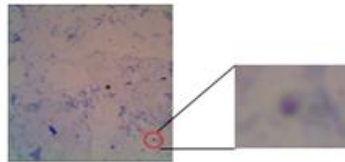


Şekil 2.31. Mikroskop Z ekseninden alınmış aynı görüş alanına sahip görüntüler (a.1, b.1, c.1, d.1, e.1) ve olası bakteri bölgelerinin yakınlaştırılmış hali (a.2, b.2, c.2, d.2, e.2)

Şekil 2.31 de mikroskop üzerine kamera yerleştirilerek sayısala dönüştürülmüş aynı Z ekseninde (aynı görüş alanına sahip) art arda alınmış görüntüler bulunmaktadır. İlk olarak alınan görüntülerin kıstas fonksiyon sonuçları hesaplanmış ve en net görüntünün (c.1) görüntüsü olduğuna karar verilmiştir. Bilgisayar sistemlerinde (c.1) görüntüsü üzerinde yapılan bakteri analizinde (c.2) görüntüsünün bakteri olduğu bulunmuştur. Kıstas fonksiyon sonucu daha düşük ve net görüntüye yakın görüntülerde aynı bölge üzerinde inceleme yapıldığında, odaklanmış görüntüde bakteri bölgesi olarak bulunan bölgenin renginin değiştiği (a.2, b.2) ve bakteri olmadığı gözükmemektedir. Bunun için tek görüntü üzerinde olası bakteri bölgesi analizi yapmak yerine en odaklanmış görüntü referans olarak kabul edilerek referans görüntü ve kıstas fonksiyon sonucu referans görüntüye yakın görüntüler birleştirilerek elde edilen sonuç görüntüde bakteri analizi yapmak amaçlanmıştır. Şekil 2.31 de referans görüntü ve kıstas fonksiyon sonucu referans görüntüye yakın görüntüler (a.1, b.1, d.1, e.1) imge füzyon yöntemi ile birleştirilerek elde edilmiş görüntü bulunmaktadır. Elde edilen sonuç görüntüde, referans görüntüde olası bakteri bölgesi olarak bulunan bölgenin renginin değiştiği ve bakteri bölgesi olmadığı gözlemlenmektedir. Böylece mikroskop üzerinde bakteri analizi yapılırken Z ekseninde birden fazla görüntü işlem sürecine eklenmiş ve böylece bakteri analiz sürecinin doğruluğu ve güvenilirliği artırılmıştır.



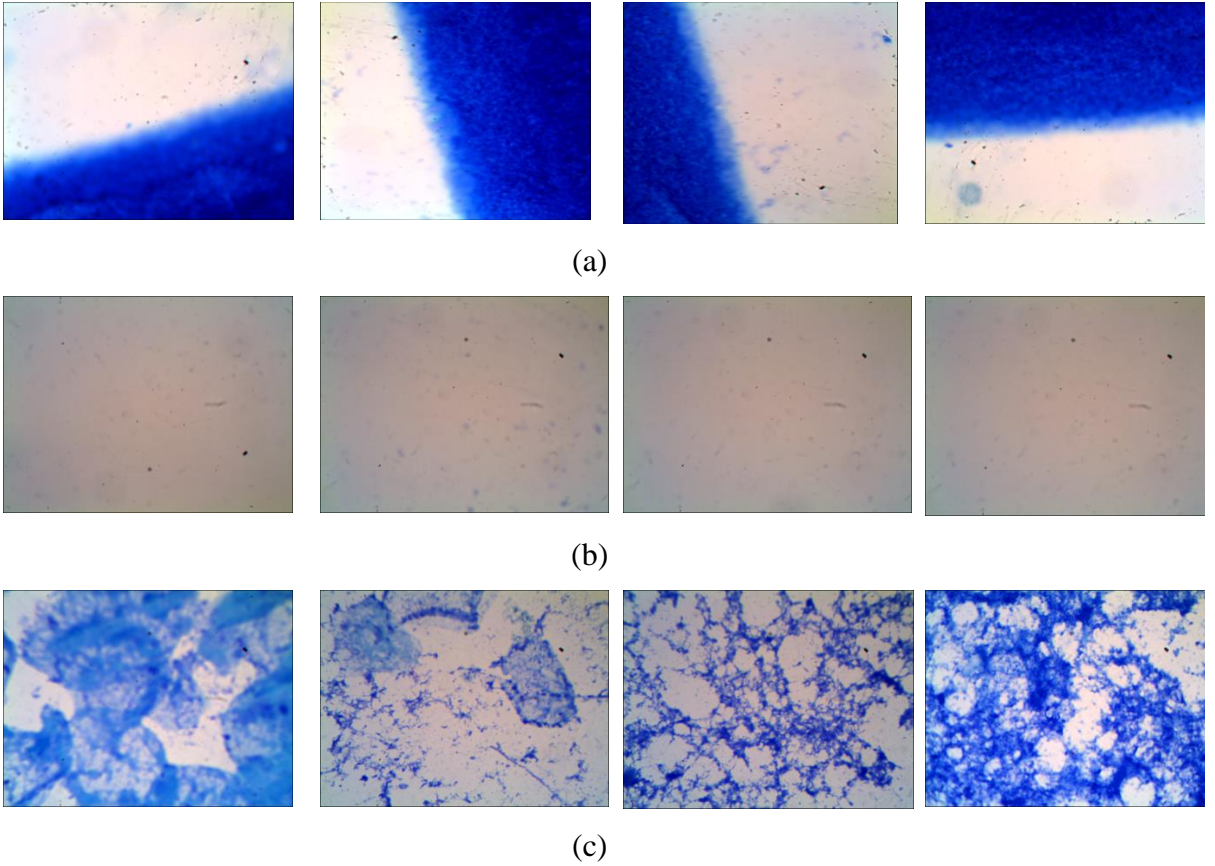
(a)



(b)

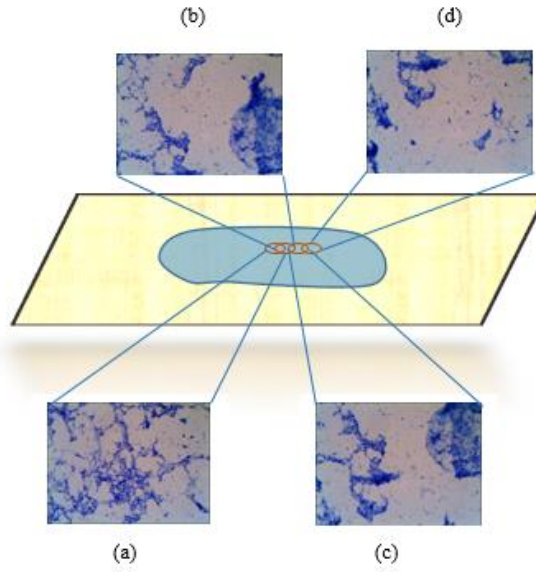
Şekil 2.32. (a) İmge füzyon yöntemi ile elde edilmiş görüntü ve olası bakteri bölgesinin yakınlştırılmış hali, (b) Referans görüntü ve olası bakteri bölgesinin yakınlştırılmış hali

Mikroskop üzerinde otomatik odaklama işlemi gerçekleştirildikten sonra mikroskop tablası adım motorları yardımıyla X-Y yönünde hareket ettirilerek otomatik tarama sürecine başlanmıştır. İlk olarak mikroskop tablası X-Y yönünde hareket ettirilerek numune üzerinde tarama yapılırken numune saha alanının dışına çıkılıp çıkmadığının otomatik tespiti için yapay sinir ağları kullanılmıştır. Yapılan çalışmada yapay sinir ağı modeli olarak İleri Beslemeli Hata Geri Yayımlı Öğrenme Algoritması tercih edilmiştir. Kurulan yapay sinir ağı modeli 2500 giriş katmanı, 100 ara katman ve 2 çıkış katmanından oluşmaktadır. Yapay sinir ağı modelinin eğitilmesi için cam tabakanın örüntü yapısı, numune bölgesi ve numunenin cam tabaka üzerinde kapsadığı alanın bölgesi ile cam tabakanın örüntü yapısı (numune sınır bölgeleri) giriş olarak kullanılmıştır. Şekil 2.33 de eğitim için kullanılan örüntü yapıları gösterilmiştir. Sonraki aşamada lamın farklı bölgelerinden alınan görüntülerle ağın test işlemi gerçekleştirilmiştir.



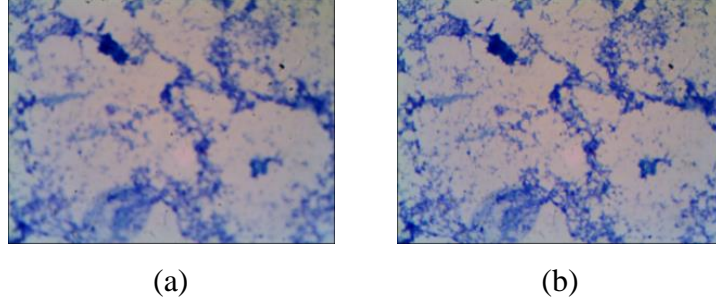
Şekil 2.33. (a) Numune sınır bölgeleri, (b) lamın cam bölgesi, (c) numune bölgesi

Mikroskop üzerinde tarama süreci anında bilgisayara aktarılan ortak alana sahip görüntülerin odaklanmasının kaybedilmemesi amaçlanmıştır. Bunun için ilk olarak mikroskop X-Y ekseninde taramaya başlamadan önce Z ekseninde otomatik odaklama ile odaklanmış olarak bulunan görüntü referans görüntü kabul edilmiştir. Daha sonra X-Y yönünde tabla hareket ettirilmiş ve şekil 2.34 de gösterildiği gibi referans görüntü ile ortak alana sahip görüntüler bilgisayar ortamına aktarılmaya başlanmıştır.



Şekil 2.34. Mikroskop X-Y yönünde ortak alana sahip görüntüler

Mikroskop üzerinde X-Y yönünde tarama anında görüntülerin odaklanmış olup olmadığına referans görüntü ile kıstas fonksiyon sonuçları karşılaştırılarak karar verilmiştir. Eğer odaklanma kaybolmadıysa X-Y yönünde alınmış görüntü referans kabul edilmiş ve tarama sürecine devam edilmiştir. Tarama anında alınan görüntülerde odaklanma kaybedildiyse ilk olarak Wiener filtresi kullanılarak sayısal iyileştirme yapılmıştır. Sayısal iyileştirmenin yeterli olmadığı durumlarda platform Z ekseninde hareket ettirilerek şekil 2.35 de görüldüğü gibi tekrar otomatik odaklama işlemi gerçekleştirilmiştir. Tablo 2.3 de görüldüğü gibi iyileştirilmiş görüntü bozulmuş görüntüye göre daha yüksek kıstas fonksiyon sonucuna sahip olmuştur.

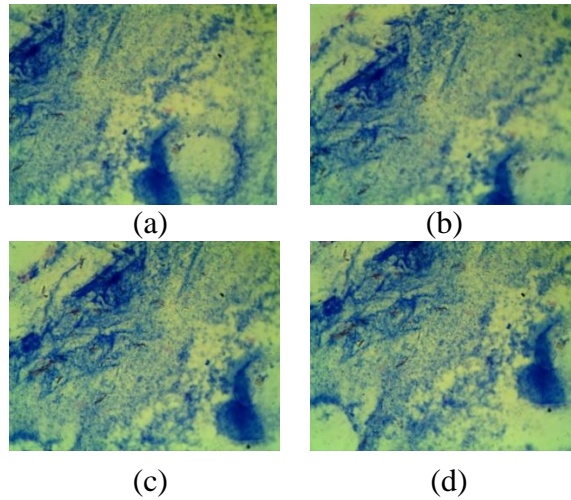


Şekil 2.35. (a) Odaklaması bozulmuş görüntü, (b) Z ekseninde platform hareketiyle elde edilmiş odaklanmış görüntü

Tablo 2.3. Şekil 2.35 (a) ve 2.35 (b) görüntülerinin kıstas fonksiyon sonuçları

Kıstas fonksiyonu	(a)	(b)
Varyans	13.8208	13.9999
Entropy	5.1552	5.0816
Tenengrad	2.6485	2.8233

Diğer bir test işleminde odaklanma kaybedilmeden ve numune sahası içi / dışı kontrolü yapılarak elde edilen görüntüler birleştirilerek tüm numune alanına sahip tek bir görüntü elde etmek amaçlanmıştır. Bunun için diğer test işlemlerinde kullanılanlardan farklı numune örneğinden şekil 2.36 da gösterilen görüntüler bilgisayar ortamına aktarılmıştır.



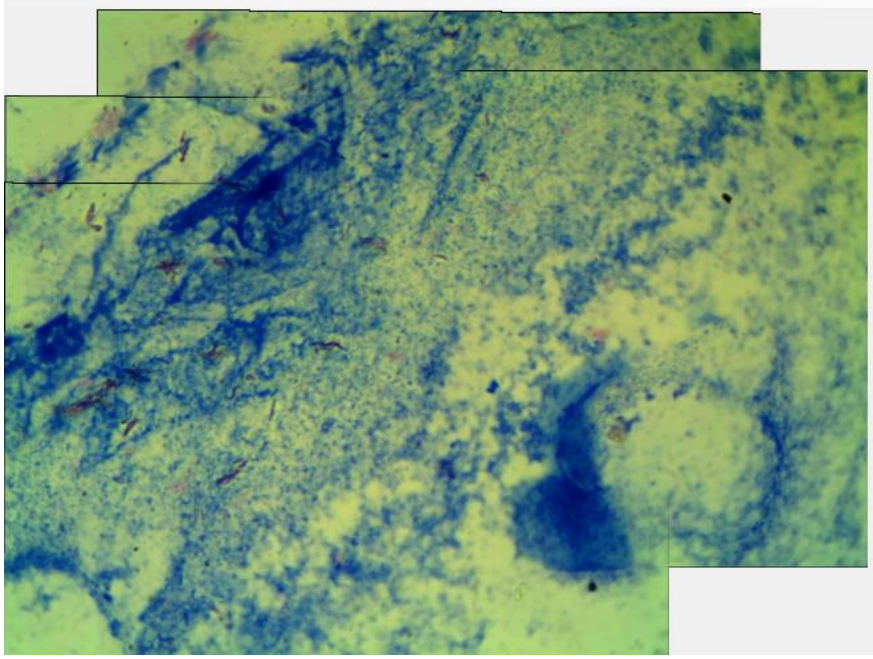
Şekil 2.36. Mikroskop X-Y yönünde alınmış numune örnekleri

Mikroskobik görüntülerin panoramik birleştirilmesi için önerilen yöntemin doğruluğunu göstermek için Harris köşe bulma algoritması, SIFT ve SURF özellik çıkarma algoritmaları kullanılarak odaklama korunarak ve odaklanma korunmadan birleştirme işlemleri gerçekleştirilmiştir. Şekil 2.36 (a-b) görüntüleri kullanılarak yapılan birleştirme işlemi sonuçları tablo 2.4 te gösterilmiştir. Tablo 2.4 odaklama korunmadan ve korunarak elde edilen özellik noktaları ve eşleşmiş özellik noktaları sayılarını göstermektedir. Tablo 2.4 sonuçlarına göre odaklama korunarak elde edilen özellik noktası sayısı odaklanma korunmadan elde edilen özellik noktaları sayısından fazladır. Ek olarak SURF mikroskobik görüntülerde özellik noktası çıkarmak için en uygun algoritma olduğu gözlemlenmektedir. SURF + odaklanma korunarak yapılan birleştirme işleminin en iyi sonuç verdiği tablo 2.4 te görülmektedir.

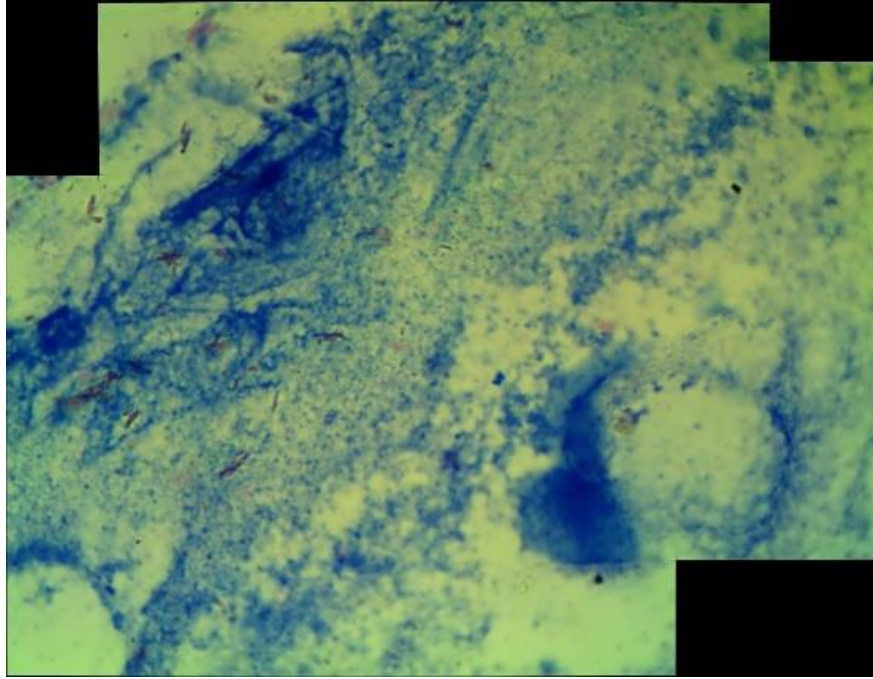
Tablo 2.4. Şekil 2.36 (a) ve şekil 2.36 (b) görüntülerinin panoramik birleştirilmesi sonucu elde edilen özellik noktalarının karşılaştırılması

Algoritma	Özellik noktası sayısı		Eşleşen noktalar
	a	b	
Harris + odaklanma korunarak	652	326	185
Harris + odaklanma korunmadan	605	296	161
SIFT + odaklanma korunarak	965	452	289
SIFT + odaklanma korunmadan	890	406	256
SURF + odaklanma korunarak	1048	506	380
SURF + odaklanma korunmadan	1102	540	332

Şekil 2.37 de şekil 2.36 daki görüntülerin SURF + odaklama korunarak ve SURF + odaklanma korunmadan gerçekleştirilen panoramik birleştirme sonuçları gösterilmektedir. Elde edilen sonuçlara göre mikroskop X-Y ekseninde yapılan tarama sürecinde odaklanmanın kaybolmasından dolayı panoramik birleştirme sonucu elde edilen görüntüde alt görüntüler arasında dikişler meydana gelmiştir. Ek olarak odaklanma korunarak yapılan panoramik birleştirme işleminde bu dikişler oluşmadığı görülmektedir.



(a)



(b)

Şekil 2.37. Şekil 2.36 daki görüntülerin (a) SURF + odaklama korunmadan (b) SURF + odaklanma korunarak gerçekleştirilerek elde edilmiş panoramik görüntüler

3. SONUÇLAR VE TARTIŞMA

Çalışmamızda, mikrobiyoloji laboratuvar teknisyenlerinin el-göz kontrolü ile yaptıkları mikroskopik inceleme sürecini otomatikleştiren bir sistem gerçekleştirilmiştir. Geliştirilen bilgisayar destekli sistem ile otomatik mikroskopik görüntüleme hedeflenmektedir.

Yapılan çalışmada mikroskopik inceleme sürecinin otomatikleştirilmesi ile mikrobiyoloji laboratuvar teknisyenlerinin iş yükünü azaltılması ve hastalık ön teşhis sürecinin kısaltılması amaçlanmıştır. Laborantın mikroskop okülerine bakmadan, hiçbir kontrol yapmadan numune görüntülerini bilgisayar ekranından görebilmesi ve numune ile ilgili istatistiksel sonuçları alabilmesi çalışmada amaçlanan diğer işlemlerdendir. Böylece hastalık tanı doğruluğu arttırılacak ve hata minimuma indirilecektir.

Yapılan çalışma, motorize sistem, otomatik odaklama ve otomatik tarama olmak üzere üç ana kısımda incelenmiştir. Bu çalışmada gerçekleştirilen sistemin performansı, TB (Tüberküloz) bakterisinin mikroskopik görüntülerinden oluşan veri tabanı üzerinde değerlendirilmiştir. ZN lekelenme tekniği ile boyanmış balgam yayma örnekleri, Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Mikrobakteriyoloji Laboratuvarında hazırlanmış olup 5 farklı hastadan 5 yayma-pozitif örnekleri içermektedir. Her bir hasta örneğinden örnekler alınmış ve çalışmada gerçekleştirilen gerçek zamanlı uygulamalarda kullanılmıştır.

Yapılan çalışmada CMOS kamera ile bilgisayara aktarımı sağlanan mikroskopik görüntüler üzerinde adım motoru hareketiyle otomatik odaklama ve tarama yapabilen yeni bir motorize sistem geliştirilmiştir. Yapılan motorize sistemde bilgisayar ile adım motorları kontrol edilerek mikroskopik görüntüler üzerinde otomatik odaklama ve tarama işlemleri gerçekleştirilmiştir. Bilgisayar ile adım motorlarının kontrolü için PIC18F4550 USB arayüz devresi kullanılmıştır. Böylece bilgisayarla adım motorları yardımıyla mikroskopun iletişim kurması sağlanmış ve mikroskopun otomatik kontrolü gerçekleştirilmiştir.

Çalışmada ilk olarak kıstas fonksiyonuna dayalı otomatik odaklama işlemi gerçekleştirilmiş ve literatürdeki çalışmalara göre Z ekseninde odaklanmış görüntü bulunmuştur. Kıstas fonksiyonu olarak Varyans, Entropy ve Tenengrad fonksiyonlarının sonuçları incelenmiş ve sonuç olarak kullanılan kıstas fonksiyon çeşidine göre Z ekseninde farklı odaklanmış görüntülerin bulunduğu ve bulunan odaklanmış görüntülerde de bölgesel

bulanıklıkların olduğu görülmüştür. Çalışmada kıstas fonksiyonlarına dayalı otomatik odaklamanın yeterli olmadığı görülmüş ve Z ekseninde en odaklanmış görüntünün bulunduğu garanti edilmesi için imge füzyon yöntemlerine dayalı otomatik odaklama işlemi önerilmiştir. Yapılan çalışmada kıstas fonksiyonuna dayalı otomatik odaklama yapılarak Z ekseninde alınmış art arda görüntülerden maksimum değere sahip görüntüyü bulmak yerine birden çok görüntü işleme dâhil edilerek imge füzyon yöntemine dayalı otomatik odaklama işlemi gerçekleştirilmiştir. İmge füzyon yöntemlerine dayalı otomatik odaklama işlemi sırasında farklı renk modellerine dayalı görüntü birleştirme teknikleri kullanılmıştır. Çalışmada farklı renk uzaylarına dayalı imge füzyon yöntemleri ve kıstas fonksiyonuna dayalı otomatik odaklama ile elde edilmiş odaklanmış görüntüleri karşılaştırma ölçütleri olarak Uzaysal Frekans, Korelasyon Katsayısı, RMSE, Mutual Information, Ortalama Hata ve PSNR algoritmaları kullanılmıştır. Sonuç olarak önerilen yöntemle elde edilen odaklanmış görüntüden literatürde kullanılmış diğer yöntemlerle elde edilen görüntülere göre daha çok bilgi ve detay elde edildiği görülmüştür.

Otomatik odaklamanın gerçekleştirilmesinden sonraki aşamada mikroskop tablası adım motorları yardımıyla X-Y yönünde sağ-sol, yukarı-aşağı hareket ettirilerek otomatik tarama süreci başlatılmıştır. Otomatik tarama sürecinde mikroskop X-Y yönünde ortak alana sahip görüntüler odaklama bozulmadan ve numune içi/dışı kontrolü yapılarak panoramik birleştirme işlemi gerçekleştirilmiştir. Otomatik tarama süreci boyunca X-Y ekseninde görüntüler arası odaklama bozulmasının tespiti için kıstas fonksiyonları kullanılmıştır. Tespit edilen bozulumlarda görüntülerin iyileştirilmesi için Wiener filtresi kullanılmış, sayısal iyileştirmenin yeterli olmadığı durumlarda ise Z eksenindeki adım motoru hareket ettirilerek iyileştirme yapılmıştır. Ek olarak tarama sürecinde saha alanının dışına çıkıldığının otomatik algılanması ise çok katmanlı yapay sinir ağına dayalı saha alanı içi/dışı yorumu ile gerçekleştirilmiştir. Mikroskobik görüntülerin panoramik birleştirilmesi sürecinde Z ekseninde meydana gelen değişimlerden dolayı görüntülerin birleştiği yerlerde dikişler ve bulanıklıkların olduğu görülmüştür. Bu çalışmada önerilen yöntemlerle bulanıklıklar minimize edilmiş ve dikiş izleri yok edilmiştir. Çalışmada kullanılan panoramik görüntü birleştirme aşamaları şu şekildedir: İlk olarak Z ekseninde otomatik odaklama işlemi gerçekleştirilerek odaklanmış görüntü bulunmuştur. Bulunan odaklanmış görüntü referans görüntü kabul edilerek odaklanmanın sürekliliği sağlanmış ve sınır tespiti ile birlikte X-Y yönünde görüntüler bilgisayara aktarılmıştır. Aktarılan görüntülerin Harris köşe bulma algoritması, SIFT ve SURF özellik çıkarma algoritmaları

kullanılarak özellik noktaları çıkarılmıştır. Çıkarılan özellik noktaları arasında Çapraz Korelasyon ve Öklid uzaklığı kullanılarak eşleme yapılmış, RANSAC yöntemi kullanılarak yanlış eşleştirmeler minimize edilmiş ve görüntüler arasında model oluşturmuştur. Son olarak da oluşturulan modele göre X-Y yönünde ortak bölgelere sahip mikroskobik görüntüler birleştirilmiştir.

Tüm çalışma incelendiğinde hastalardan alınan yayma örneklerinin farklı kalınlıkta yayılmış olmaları, farklı renkte olmaları sistemin başarısını etkilemektedir. Bunun yanında mikroskoptan bilgisayara görüntü aktarımını sağlayan kameranın çözünürlüğü, ışığın şiddeti de başarıyı etkileyen problemlerdendir.

Sonuç olarak önerilen yöntemler güncel yaklaşım olup mikroskobik görüntüleme sistemlerinde kullanılmayan yaklaşımlar olduğundan ve diğer yöntemlerle kıyaslandığında performans açısından başarılı sonuçlar verdiğiinden değişik alanlardaki birçok probleme de genelleştirilebilir.

Çalışma sırasında geliştirilen yaklaşımın bir bölümünün yer aldığı 2 adet bildiri yayınlanmıştır. Bu bildirimler 2013 ve 2014 yıllarında yapılan Sinyal İşleme ve İletişim Uygulamaları Kurultaylarında sunulmuş ve bildiri kitapçıklarında basılmıştır [29, 84].

4. ÖNERİLER

Bilgisayarla mikroskop bağlantısını sağlayan motorize sistem yenilenebilir. Her mikroskop için uyumlu, maliyeti düşük, daha az yer kaplayan ve daha hızlı bir sistem geliştirilebilir. Mikroskoptan bilgisayara görüntü aktarımını sağlayan kameranın rezolasyonu arttırılabilir. Böylece kameradan kaynaklanan olumsuzluklar minimize edilebilir. Motor titreşimlerini engellemek için hassasiyeti daha yüksek değişik adım motorları kullanılabilir.

Otomatik odaklama için kullanılan kıstas fonksiyonları sonuçları hesaplanırken görüntünün tüm pikselleri işleme katıldığı için bu süreç hem çok zaman almakta hem de görüntü hakkında genel bilgi vermektedir. Önerilen yöntemde Z ekseninde birden fazla görüntü alındığı için tüm bilgilere sahip görüntü elde edilmiş fakat yapılan işlem süresi uzatılmıştır. Bunun için daha az zaman gerektiren yeni bir otomatik odaklama yöntemi önerilebilir.

Otomatik tarama anında numune sınır tespiti öğrenme algoritmasına dayalı gerçekleştirilmiştir. Yapılan çalışmada YSA modeli kullanılmıştır. Bu yönteme ek olarak farklı sınıflandırma algoritmaları kullanılarak sonuçlar karşılaştırılabilir. Ek olarak tarama anında odaklamanın kaybolmaması için çalışmada kullanılan kıstas fonksiyonuna dayalı yöntem yerine yeni bir yöntem geliştirilebilir.

5. KAYNAKLAR

1. Veropoulos, K., Machine Learning Approaches to Medical Decision Making, Doktora tezi, University of Bristol, Faculty of Engineering, Department of Engineering Mathematics, Bristol, 2001.
2. Yasuda, N., Namiki, K., Honma, Y., Umeshima, Y., Marumo, Y., Ishii, H. ve Benton, E. R., Development of High Speed Imaging Microscope and New Software for Nuclear Track Detector Analysis, Radiation Measurements, 311-315, 2005.
3. Smochina, C., Herghelegiu, P. ve Manta, V., Image Processing Techniques Used in Microscopic Image Segmentation, Buletinul Institutului Politehnic Din Iași, LVII, LXI (2011) 83-98.
4. Güven, S. ve Ekinçi, M., Tüberküloz Bakterisinin Mikroskopik Görüntü Analiziyle Algılanması, 21. IEEE Sinyal İşleme ve İletişim Uygulamaları Kurultayı, Nisan 2013, Kıbrıs, 1-4.
5. Song, Y., Li, M. ve Sun L., A New Auto-focusing Algorithm for Optical Microscope Based Automated System, 9th International Conference on Control, Automation, Robotics and Vision, 2006, Singapore, 1-5.
6. Tang, W., Liao, Y., Chen Z., Cai, L., Yang, T. ve Guo, D., Auto-focusing System for Microscope Based on Computational Verb Controllers, 2nd International Conference on Anti-counterfeiting, Security and Identification, 2008, Guiyang, 84-87.
7. Gang, H. Li, J., Huang, X. ve Zou, Y., An Integrated Auto-focusing System for Biomedical Digital Microscope, 3rd International Conference on Biomedical Engineering and Informatics (BMEI), 2010, Yantai, 1420-1423.
8. Guojin, C., Miaofen, Z., Yongning L. ve Wanqiang, W., Research on Image Focusing Method and System with Wavelet Filtering, International Conference on Optoelectronics and Image Processing (ICOIP), 2010, Haiko, 236-239.
9. Hamm, P., Schulz, J. ve Englmeier, K., Content-Based Autofocusing in Automated Microscopy, Image Anal Stereol, 29 (2010) 173-180.
10. Liu, X., Yu, M., Wang Y., Jiang, G., Fu, S. ve Luo, T., A Novel Time-domain Focusing Method for Microscope Imaging, Procedia Engineering, 15 (2011) 2660-2664.
11. Hatiboğlu, C. ve Akın, S., A New Computerized Moving Stage for Optical Microscopes, Computers & Geosciences, 30 (2004) 471-481.
12. Huang, Z., Li, L. ve Guo, D., Design of Stepping Motor Driving Module for Automatic Microscopy System, 3rd International Conference on Anti-counterfeiting, Security and Identification in Communication, 2009, Hong-Kong, 328-331.

13. Ma, B., Zimmermann, T., Rohde, M., Winkelbach, S., He, F., Lindermaier, W. ve Dittmar, E., J., Use of Autostitch for Automatic Stitching of Microscope Images, Micron, 38 (2007) 492-499.
14. Steckhan, D., Bergen, T., Wittenberg, T. ve Rupp, S., Efficient Large Scale Image Stitching for Virtual Microscopy, 30th Annual International IEEE EMBS Conference, Vancouver, 2008, 4019-4023.
15. Yongwei, M., Xinke, G., Xianjun, D. ve Jiayin, X., A New Method of Microscopic Images' Automatic Mosaicing, 3rd International Conference on Bioinformatics and Biomedical Engineering , 2009, Beijing, 1-5.
16. Kaynig, V., Fischer, B., Müller, E. ve Buhmann, J., M., Fully Automatic Stitching and Distortion Correction of Transmission Electron Microscope Images, Journal of Structural Biology, 171(2010) 163-173.
17. Wortmann, T., Automatic Stitching of Micrographs Using Local Features, International Symposium on Optomechatronic Technologies (ISOT), 2010, Toronto, 1-6.
18. Yang, F., Deng, Z. ve Fan, Q., A Method for Fast Automated Image Stitching, Micron 48, (2013) 17-25.
19. Zhang, Y., Pang, B., Yu, Y. ve Zhang, C., Automatic Microscopy Image Stitching Based on Geometry Features, 6th International Congress on Image and Signal Processing (CISP), 2013, Hangzhou, 927-931.
20. Piccini, F., Bevilacqua, A. ve Lucarelli, E., Automated Image Mosaics by Non-Automated Light Microscope: the MicroMos Software Tool. Journal of Microscopy, 252 (2013), 226-250.
21. Shi, H., Shi, Y. ve Xiaojia, Study on Auto-focus Methods of Optical Microscope, 2nd International Conference on Circuits, System and Simulation (ICSS 2012), 2012, Singapore, 176.
22. Santos, A., Solozano, C., Vaquero, J., Pena, J., M., Malpica, N. ve Pozo, F., D., Evaluation of Autofocus Functions in Crytogenetic Analyses, Journal of Microscopy, 188 (1997), 264-272.
23. Aslantaş, V., Özer, Ş. ve Öztürk, S., Yapay Sinir Ağları Temelli Resim Kıstası, IEEE 13. Sinyal İşleme ve İletişim Uygulamaları Kurultayı, 2005, Kayseri, 617-620.
24. Aslantaş, V. ve Kurban, R., Çok-odaklı Gürültülü Resimlerin Birleştirilmesinde Kıstas Fonksiyonlarının Değerlendirilmesi, IEEE 17. Sinyal İşleme ve İletişim Uygulamaları Kurultayı, 2009, Antalya, 492-495.
25. Öztürk, S., Otomatik Odaklama için Netlik Kıstasları, Yüksek Lisans Tezi, Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Elektronik Mühendisliği, 121616, Temmuz 2002.

26. Florian, D., Einspieler, S., Köck, H., Glavanovics, M. ve Wischounig-Struel, D., Implementation of real time auto focus methods for static and dynamic infrared imaging of power semiconductor chips, 11th International Conference on Quantitative InfraRed Thermography, 2012, Naples, 65-67.
27. Liao, W. ve Fuh, C., Autofocus, Bilgisayar Bilimleri Mühendisliği Bölümü, National Taiwan University, Taipei, Taiwan.
28. Liao, W. ve Fuh, C., Autofocus with Automatic Block Selection, 18th IPPR Conference on Computer Vision, Graphics and Image Processing, 2005, Taipei, 21-23.
29. Yaldiz, H. ve Ekinci, M., Microscopic Imaging with Automatic Scanner, Signal Processing and Communicatios Applications Conference (SIU), Haspolat, 2013, 1-4.
30. Sahu, D. K. ve Parsai, M. P., Different Image Fusion Techniques, International Journal of Modern Engineering Research, 2 (2012) 4298-4301.
31. Bedi, S. S. ve Khandelwal, R., Comprehensive and Comparative Study of Image Fusion Techniques, International Journal of Soft Computing and Engineering, 3 (2013), 2237-2241.
32. Goshtasby, A. A., Fusion of Multifocus Image to Maximize Image Information, Defense and Security Symposium, Intelligent Computing Theory and Applications, 2006, 17-21.
33. Bulatov, A., Çok Odaklı Görüntü Füzyonu, Yüksek Lisans Tezi, Erciyes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bilgisayar Mühendisliği Anabilim Dalı, 2006.
34. Malviya, A. ve Bhirud, G. S., Multi-Focus Image Fusion of Digital Images, International Conference on Advence in Recent Technologies in Communications and Computing, Kerela, 2009, 887-889.
35. Aslantaş, V. ve Bulatov, A., Farklı Netlikteki Resimlerin Birleştirilmesi için Bölge Bazlı Yeni Bir Metod, Elektrik, Elektronik ve Bilgisayar Mühendisliği Sempozyumu, Bursa, 2006.
36. Shi, H. ve Fang, M., Multi-Focus Color Image Fusion Based on SWT and IHS, Fourth International Conference on Fuzzy Systems and Knowledge Discovery, Haikou, 2007, 461-465.
37. Rattanapitak, W. ve Udomhunsakul, S., Comparative Efficency of Color Models for Multi-focus Color Image Fusion, International Multi Conference of Engineers and Computer Scientist, Hong Kong, 2010, 1461-1466.
38. Penmetsa, K., R., Narahariseti, V., G. ve Rao, N., V., An Image Fusion Technique for Colour Images Using Dual-Tree Complex Wavelet Transform, International Journal of Engineering Research & Technology, 1 (2012).

39. Li, G. Image Fusion Based on Color Transfer Technique, Image Fusion and its Applications, Alcorn State University, USA, 2011.
40. Al-Wassai, F., A., Kalyankar, N., V. ve Ali Al-Zuky, A., The IHS Transformations Based Image Fusion, International Journal of Advanced Research in Computer Science, Vol (2011).
41. Leung, Y., Liu, J. ve Zhang, J., An Improved Adaptive Intensity–Hue–Saturation Method for the Fusion of Remote Sensing Images, Geoscience and Remote Sensing Letters, 11 (2014), 985-989.
42. Sharma, J., B., Sharma, K., K. ve Sahula, V., Hybrid image fusion scheme using self-fractional Fourier functions and multivariate empirical mode decomposition, Signal Processing, 100 (2014), 146–159.
43. Yong, J. ve Wang, M., Image fusion with morphological component analysis, Information Fusion, 18 (2014), 107–118.
44. Patil, U., Image Fusion using Hierarchical PCA, 2011 International Conference on Image Information Processing, Himachal Pradesh, 2011, 1-6.
45. Doğan, A., Diferansiyel Gelişim Algoritması İle Medikal Görüntü Birleştirme, Yüksek Lisans Tezi, Erciyes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bilgisayar Mühendisliği Anabilim Dalı, 2008.
46. Ünlüsoy, D., Image Fusion for Improving Spatial Resolution of Multispectral Satellite Images, Yüksek Lisans Tezi, Middle East Technical University, Master of Science in Geological Engineering Department, 2013.
47. Doğanlarlıoğlu, A., Uzaktan Algılamada Geliştirilmiş Temel Bileşen Analizi ile Görüntü Birleştirme, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Telekomünikasyon Mühendisliği Anabilim Dalı, Haziran 2009.
48. Bedi, S., S. ve Khandelwal, R., Various Image Enhancement Techniques – A Critical Review, International Journal of Advanced Research in Computer and Communication Engineering Vol (2013).
49. Maini, R. ve Aggarwai, H., A Comprehensive Review of Image Enhancement Techniques, Journal of Computing, 2 (2010).
50. Hossain, F., Alsharif, M., R. ve Yamashita, K., An Approach to Color Image Enhancement Using Minimum Mean Brightness Error Dynamic Histogram Equalization, International Journal of Innovative Computing, Information and Control, 7 (2011) 827-840.
51. Karkuş, M., Ö., Görüntü İyileştirme ve Onarma Teknikleri, Yüksek Lisans Tezi, Fırat Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, 2010.

52. Bahçebaşı A., Gece Görüş Cihazından Alınan Görüntülerinin İyileştirilmesi, Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Haziran 2006.
53. Weidong, C., Xuegang, M. ve Haoge, M., Low Contrast Microscope Image Enhancement based on Multi-technology Fusion, IEEE International Conference on Intelligent Computing and Intelligent Systems (ICIS), 3, 2010 , Xiamen 891-895.
54. Gupta, S. ve Purkayastha, S., S., Image Enhancement and Analysis of Microscopic Images Using Various Image Processing Techniques, International Journal of Engineering Research and Applications (IJERA), 2 2012, 044-048.
55. Ren, C. ve Yang, J., A Novel Color Microscope Image Enhancement Method Based on HSV Color Space and Curvelet Transform, IJCSI International Journal of Computer Science Issues, 9 (2012), 1694-0814.
56. Kong, N., Ibrahim, H., Ooi, C., Chan, D. ve Chieh, J., Enhancement of Microscopic Images Using Modify Self-Adaptive Plateau Histogram Equalization, International Conference on Computer Technology and Development, Kota Kinabalu, 2009, 308-310.
57. Ooi, C., Kong, N., İbrahim, H. ve Chieh, J., Enhancement of Color Microscopic Images Using Toboggan Method, International Conference Future Computer and Communication, Kuala Lumpur, 2009, 203-205.
58. Suresh, K., Papendra, K., Manoj, G. ve Ashok, K., Performance Comparison of Median and Wiener Filter in Image De-noising, International Journal of Computer Applications, 12 (2010).
59. Kutlu, C. ve Arserim, M., A., Spektral Çıkarma Tabanlı Kalman Filtresi ile Ses Sinyallerinin İyileştirilmesi, Dicle Üniversitesi Mühendislik Fakültesi, 2012, 49-59.
60. Bahçebaşı, A., Gece Görüş Cihazından Alınan Görüntülerinin İyileştirilmesi, Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Elektrik Elektronik Anabilim Dalı, Haziran 2006.
61. Akar, E., Tarihi Görüntülerin Kalitesinin Görüntü İşleme Teknikleri Kullanılarak Artırılması, Yüksek Lisans Tezi, Selçuk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Elektrik-Elektronik Mühendisliği Anabilim Dalı, 2006.
62. Figen, Z. ve Saldı, N., Parametresi En İyilenmiş Bir Wiener Filtresi Yardımıyla Gözü-Kapalı İmge Onarımı, Signal Processing and Communications Applications Conference (SIU), Muğla, 2012, 1-4.
63. Chen, J., Benestryu, J., Huang, Y. ve Doclo, S., New Insights into the Noise Reduction Wiener Filter, IEEE Transactions on Audio, Speech and Language Processing, 14 (2006) 1218-1234.

64. Benestry, J., Chen, J. ve Huang, Y., Study of Widely Linear Wiener Filter for Noise Reduction, IEEE International Conference on Acoustics Speech and Signal Processing (ICASSP), Dallas, 2010, 205-208.
65. Erçelebi, E. ve Koç, S., Lifting-based wavelet domain adaptive Wiener filter for image enhancement, Vision, Image and Signal Processing, IEEE Proceedings, 153 (2006), 31-36.
66. Marks, L., D., Wiener-filter Enhancement of Noisy HREM Images, Ultramicroscopy, 62 (1996), 43-52.
67. Khireddine, A., Mahammed, K. ve Puech, W., Digital Image Restoration by Wiener Filter in 2D Case, Advances in Engineering Software, 38 (2007) 513-516.
68. Ayas, S., Mikroskopik İmgelerde Tüberküloz Bakterisinin Rastgele Ormanlar Yöntemiyle Sınıflandırılması, Yüksek Lisans Tezi, Karadeniz Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bilgisayar Mühendisliği Bölümü, Ocak 2014.
69. Kröse, B. ve Smagt, P., Introduction to Neural Networks, Eighth Edition, November, 1996.
70. Kul, S., Diagnosis of Lumbar Disc Hernia From Images Using Artificial Neural Network, Yüksek Lisans Tezi, Fatih University, Institute of Science and Engineering, Computer Engineering, October 2008.
71. Zurada, J., M., Introduction to Artificial Neural Systems, Includes index, ISBN 0-314-93391-3, 1992.
72. Ali, S. ve Hussain, M., Panoramic Image Construction Using Feature Based Registration Methods, 15th International Conference on Multitopic Conference (INMIC), Islamabad, 2012, 209-214.
73. Mahesh ve Subramanyam, M., V., Automatic Image Mosaic Using Steerable Harris Corner Detector, International Conference on Machine Vision and Image Processing (MVIP), Taipei, 2012, 87-91.
74. Li, J. ve Du, J., Study on Panoramic Image Stitching Algorithm, Second Pacific-Asia Conference on Circuits, Communications and Systems (PACCS), Beijing, 2010, 417-420.
75. Özgen, N. ve Sarıtaş, M., SIFT Metodu ile Hedef Takibi, Elektrik - Elektronik, Bilgisayar Mühendisliği Sempozyumu ve Fuarı, ELECO 2008, Bursa.
76. Bai, X., Ning, X. ve Wang, L., Analysis and Comparison of Feature Detection and Matching Algorithms for Rovers Vision Navigation, 8th IEEE International Symposium on Instrumentation and Control Technology (ISICT) , London, 2012, 66-71.

77. Yıldız, C., An Implementation on Recognizing Panoramas, Department of Computer Engineering, Bilkent University, cs.bilkent.edu.tr/.../image-stitching-paper.pdf.
78. Zhang, Y., Yang, L. ve Wang, Z., Research on Video Image Stitching Technology based on SURF, 5th International Semposium on Computational Intelligence and Design (ISCID), Hangzhou, 2012, 335-338.
79. Gansawat, D. ve Sinthupinyo, W., Panorama Image Stitching on Android Phones, International Conference on Mobile IT Convergence (ICMIC), 2011, 39-41.
80. Qui, J. ve Zhang, J., An Image Matching Method Based on Harris and SIFT Algorithm, Journal of Test and Measurement Technology, 23 (2009).
81. Lowe, D., G., Distinctive Image Features from Scale-Invariant Key Points, International Journal of Computer Vision, 60 (2004), 91-110.
82. Gao, F., Wei, S. ve Wang, X., Image Matching Algorithm Based on SIFT Feature Point, Modern Electronic Technology, 18 (2010).
83. Bay, H., Ess, A., Tuytelaars, T. ve Gool, L., V., Speed-Up Robust Feature(SURF), Computer Vision and Image Understanding, 110 (2008), 346-359.
84. Doğan, H. ve Ekinci, M., İmge Füzyon Yöntemine Dayalı Mikroskobik Görüntüleme Otomatik Odaklama, Signal Processing and Communicatios Applications Conference (SIU), Trabzon, 2014.

ÖZGEÇMİŞ

Hülya DOĞAN, 1988 Bursa doğumludur. İlkokulu ve ortaokulu 11 Eylül İlköğretim Okulu'nda ve liseyi Bozüyük Anadolu Öğretmen Lisesi'nde tamamlamıştır. Karadeniz Teknik Üniversitesi Bilgisayar Mühendisliği Bölümü'nden 2011 yılında mezun olmuştur. 2012-2013 eğitim-öğretim yılının güz döneminde Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bilgisayar Mühendisliği Anabilim Dalı'nda yüksek lisans programına, bahar döneminde de aynı bölümde araştırma görevlisi olarak çalışmaya başlamıştır. Halen Bilgisayar Mühendisliği Bölümü'nde Araştırma Görevlisi olarak çalışmaktadır. İyi derecede İngilizce bilmektedir.