

Tablet Bilgisayar Aracılığıyla *Helicobacter Pylori* Testlerinin otomatik okunması

Automatic reading of *Helicobacter Pylori* Tests via Tablet Computer

Haydar Özkan, Osman Semih Kayhan

Biyomedikal Mühendisliği,
Fatih Sultan Mehmet Vakıf Üniversitesi
haydarozkan79@gmail.com, oskyhn@gmail.com

Özet

Hızlı Teşhis Testleri (HTT), hastanelerin mikrobiyoloji laboratuvarlarında birçok hastalığı kısa sürede tespit etmek amacıyla yaygın olarak kullanılan bir test yöntemidir. Bu testlerin sonuçlandırılması genellikle medikal çalışanlar tarafından göz ile manuel olarak yapılmaktadır. Test işlemleri esnasında ilgi alanı (Region of Interest (ROI)), penceresinde oluşacak çizgilerin her zaman iyi görünmesi mümkün olmamaktadır. Belirgin olmayan çizgilerden dolayı yanlış değerlendirmeler ortaya çıkabilmektedir. Bu çalışmada, *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) tespiti için kullanılan, lateral şerit tarzı (LŞT) HTT testler, tablet bilgisayar aracılığıyla analiz edildi. Sonuçlar, otomatik ve gerçek zamanlı olarak elde edildi ve hekimlerin e-posta ile bilgilendirilmesi gerçekleştirildi. 100 adet LŞT-HTT testi, geliştirilen HTT okuyucu sistemle otomatik olarak sonuçlandırıldı ve sistemin hatasız çalıştığı gözlemlendi.

Abstract

Rapid Diagnostic Tests (RDTs) are commonly used in microbiology laboratory of hospitals to diagnose many diseases in a short period of time. Conversely, the RDTs reading are carried out visually by medical workers. The lines which will appear in ROI (Region of Interest) window might not be possible to be seen clearly in each time during the test process. False evaluations can occur because of tentative lines. In this paper, the lateral flow strip based RDT tests are evaluated by a tablet computer. Automatic and real time results are achieved and the clinicians are informed by an e-mail. 100 of lateral flow strip based RDTs were analysed with the designed RDT reader automatically and it is observed that the proposed system works accurately.

1. Giriş

İnsan sağlığını büyük ölçüde etkileyen genel hastalıkların büyük bir bölümünü kronik hastalıklar ve bulaşıcı hastalıklar teşkil eder. Bu tür hastalıklar iyi bir şekilde takip edilmeli, teşhis ve tedaviler düzgünce kayıt altına alınmalıdır. Bulaşıcı hastalıklarla birlikte bazı belirti gösteren veya göstermeyen hastalıkların belirlenmesinde, HTT testleri son yıllardan itibaren sıklıkla kullanılmaya başlanmıştır. Bu testler; kan, tükürük, dışkı gibi hastalardan alınan örneklerle, çok kısa bir

zaman diliminde kolayca uygulanabilen ve teşhis ortaya konulabilen bir bio-algılama yöntemidir [1, 2]. HTT testleri, ileri teknolojiye sahip laboratuvar ve cihazlara ihtiyaç duymaz. Gerekli analiz ve incelemeler laboratuvar çalışanları tarafından gerçekleştirilmektedir. Özellikle tecrübeli ve yeterli medikal personelin bulunmadığı durumlar ile yüksek teknolojiye sahip laboratuvar ekipmanlarının bulunmadığı durumlarda, HTT testleri, hastalıkların teşhisinde önemli bir yere sahiptir [3, 4]. HIV, sıtma, adeno virüs, rota virüs, *helicobacter pylori* gibi hastalıklar ve hastalık yapıcı unsurlar HTT testleri ile tespit edilebilir. Bunların yanında, ayrıca kan şekeri, gebelik, besin zehirlenmesi, kandaki madde miktarı gibi insan vücudundaki fizyolojik ve biyokimyasal durumlar da incelenebilir [5].

Medikal alandaki gelişmelerle birlikte, bilgisayar ve tablet teknolojileri de son yıllarda hızla gelişmektedir. Ayrıca bilgisayarların medikal amaçlarla kullanımı da artış göstermektedir. Bu kullanıma paralel sağlık sektöründeki kalite de artırmaya başlamıştır. İnsan kaynaklı hatalar, bilgisayar destekli sistemlerin de bu alana girmesiyle birlikte en aza indirilmeye başlamıştır [6]. Günümüzdeki HTT karar mekanizmaları gözle ile sonucu bildirmeye yöneliktir. Bu durumun sonucunda, insan kaynaklı hataların beraberinde yanlış sonuçlar ile yanlış tedavi yöntemlerinin uygulanması ortaya çıkabilmektedir. HTT testlerinde, genel olarak çizgilerin belirgin olmaması durumunda, pozitif olarak sonuçlandırılması gereken test, yanlışlıkla negatif olarak sonuçlandırılabilir. Bu olumsuz durumdan kaçınmak için son yıllarda, HTT testlerine yönelik otomatik okuyucuların tasarımı artış görülmektedir. Bu okuyucuların birçoğu, genel olarak nicelik testi ile kontrol ve test çizgisinin varlığına göre teşhis koymaktadır [7, 8]. Mevcut bulunan HTT okuyucuların büyük bir çoğunluğu belirli marka ve modelle uyumlu olarak çalışabilen ve pahalı olan ürünlerdir.

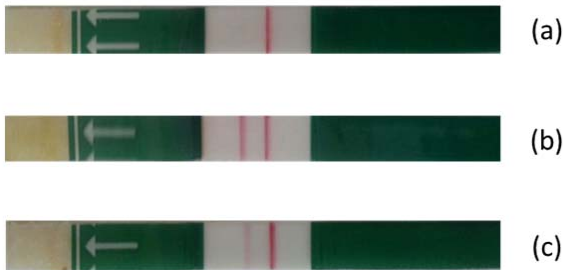
Mobil cihazların gelişimi sayesinde HTT okuyucular alanında cep telefonu tabanlı birçok çalışma yapılmış olup hala da bu çalışmalar geliştirilmeye devam etmektedir [5, 8]. Fakat akıllı telefon tabanlı HTT okuyucular yüksek fiyatlara mal olmaktadır. Bu çalışmada, tablet tabanlı otomatik bir HTT test okuyucu tasarlanmıştır. Sistem, özel olarak geliştirilmiş, üç boyutlu yazıcıdan üretilmiş ve düşük maliyete sahip iki adet tutucu aparata sahiptir. HTT görüntüleri bu aparatlar ve tablet bilgisayar kamerası ile alınmış olup, bütün analizler tablet

üzerinde gerçekleştirilmiştir. Kullanılan tablet, Windows işletim sistemine sahiptir. Görüntü elde etme, görüntü işleme ve karar mekanizmaları MATLAB programı ile gerçekleştirilmiştir. Makalenin ikinci kısmında sistemin çalışma metodları yer almaktadır. İlk olarak görüntünün nasıl elde edildiği, ikinci olarak görüntü işlemenin nasıl yapıldığı ve karar mekanizmasının nasıl çalıştığı ve son kısımda da sonuçlar ve bunların değerlendirmeleri açıklanmıştır.

2. Metot

HTT okuyucu sistemi, iki ana başlıktan oluşmaktadır: donanım araçları ve yazılım araçları. Donanım araçları Windows işletim sistemine sahip Asus marka bir tablet bilgisayar ve üç boyutlu yazıcıdan üretilmiş, hafif, kompakt ve düşük maliyetli HTT tutuculardan oluşmaktadır. Sistem aynı özelliklere sahip diğer marka ürünlerinde de çalışabilir [9]. HTT tutucu, genel olarak görüntünün kaymasını engellemek, daha iyi odaklama ve test standardı sağlamak için tasarlanmıştır. Aynı zamanda tutucular, görüntüde ROI ve içinde barındırdığı çizgilerin belirlenmesi için önemli rol oynar. Yazılım araçları ise, görüntü alma, görüntü işleme, karar verme ve sonuç oluşturarak e-posta ile hekimin bilgilendirilmesi işlemlerinin otomatik gerçekleştiği bilgisayar programından oluşur.

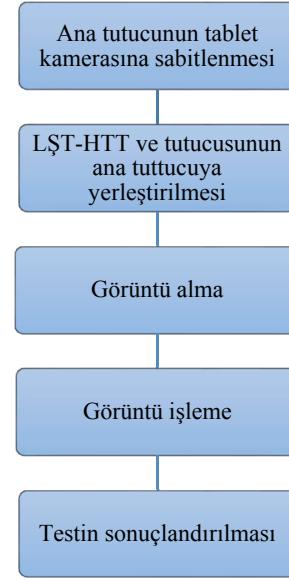
H. pylori, özellikle mide mukozasına etki eden çok yaygın bir gram negatif bakteri türüdür. *H. Pylori* kronik mide iltihabı (gastrit), ülser ve onikiparmak bağırsağı ülseri gibi hastalıklara neden olmaktadır [10-12]. Şekil 1’de LŞT-HTT test örnekleri görülmektedir. Arka planı beyaz ve üzerinde kırmızı çizgilerin belirdiği ROI’de sağdaki çizgi kontrol çizgisidir ve yapılan her testte belirmesi gerekir. Eğer yoksa test geçersizdir ve yenilenmesi gerekir. Kontrol çizgisiyle beraber, bu çizginin solunda bir çizgi belirirse sonuç; pozitif, belirmez ve sadece kontrol çizgisi görülürse sonuç; negatiftir. Şekil 1a’daki testte sadece kontrol çizgisi bulunduğu için, sonuç negatiftir. Şekil 1b ve 1c’de ise testlerin sonuçları pozitifdir. Ancak Şekil 1c’de pozitif sonuç veren test çizgisinin çok belirgin olmadığı gözlemlenmektedir. Bu gibi durumlarda, göz ile yapılan değerlendirmelerde, test çizgisinin gözden kaçırılması ile yanlış negatif sonuçlar ortaya konulabilmektedir. Geliştirilen bilgisayar tabanlı otomatik okuma sistemi sayesinde bu sorunun ortadan kaldırılması amaçlanmıştır.



Şekil 1: H. Pylori hızlı teşhis testi. a. Negatif sonuç. b. Pozitif sonuç. c. Pozitif sonuç (belirgin olmayan).

Sistemin çalışma prensibi Şekil 2’deki diyagramda kısaca açıklanmıştır. İlk olarak tutucu kameranın önüne düzgün bir şekilde yerleştirilir. Sonra içerisine HTT testi, LŞT-HTT tutucu ile birlikte, hastadan alınan örneğin konulduğu kısım

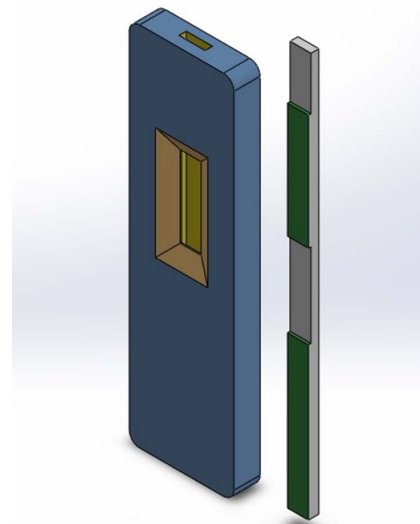
yukarı da olacak şekilde yerleştirilir. Bu sayede hastaya ait örneğin tutucuyu kirletmesi önlenmiş olur. Daha sonra görüntü alınır ve görüntü işleme teknikleri ile test otomatik sonuçlandırılır.



Şekil 2: Sistemin genel çalışma basamakları.

2.1. Dizayn edilen tutucular

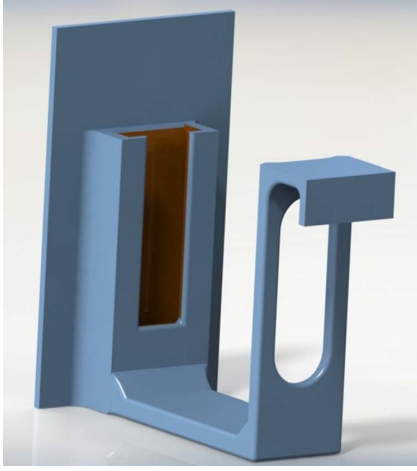
Sistem için iki adet tutucu tasarlanmıştır. Bunların ilki LŞT- HTT’leri (Şekil 3 b) içine yerleştirmek üzere tasarlanan LŞT-HTT tutucudur (Şekil 3 a). Bu tutucu sayesinde, lateral şerit HTT, tutucu içerisinde sabit kalır. Şekil 3a’daki LŞT-HTT tutucu, etrafı tamamen kapalı ve sadece HTT’ye ait ROI’nin bir pencere şeklinde görülebildiği özel bir tutucudur.



Şekil 3: a. LŞT-HTT tutucu. b. Lateral şerit tarzı HTT.

Diğer tutucu ise, LŞT-HTT tutucusunun da içine yerleştirildiği ana tutucu aparatıdır (Şekil 4). Ana tutucu

sayesinde HTT kamerasının önünde sabit bir şekilde yerleştirilir böylece odaklama daha iyi bir şekilde yapılır. Aynı zamanda tutucular, ROI'nin yerinin belirlenmesinde de büyük avantaj sağlar.



Şekil 4: Genel tutucu.

2.2. Görüntü alma

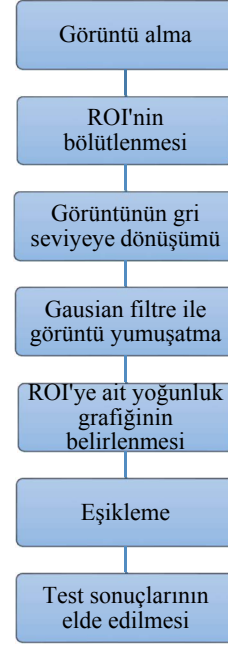
Görüntü alma işleminde geliştirilen iki adet tutucu aparatı birlikte kullanılır. Öncelikle genel tutucu, tablet kamerasının önüne yerleştirilir. Daha sonra LŞT-HTT, Şekil 3a'daki tutucusuna yerleştikten sonra bu ikisi birlikte ana tutucuda bulunan ve boyutları LŞT-HTT'yi içine alabilecek şekilde olan cep tarzı bölmeye yerleştirilirler ve görüntü alınır (Şekil 5). Görüntü alındıktan sonra, gerçek zamanlı olarak okuyucu sistem, sırasıyla; görüntü işleme, karar mekanizması ve sonuç üretme durumlarını otomatik olarak gerçekleştirir. Şekil 5'deki testte sadece kontrol çizgisi görüldüğü için sonucu negatiftir. Ayrıca görüntü alma işlemleri esnasında tablet sabitleyiciler kullanarak da daha rahat çalışma imkânı sağlanabilir.



Şekil 5: Tablet bilgisayar aracılığıyla HTT'den görüntü almadan önceki tutucu yerleşimi.

2.3. Görüntü işleme

Şekil 7'de görüntü işleme adımları görülmektedir. Ana tutucu içerisine yerleştirilmiş olan LŞT-HTT tutucu kamerasının her zaman aynı bölgesine gelir. Bu sebeple, HTT ROI görüntüsü sabit tutucular sayesinde hep aynı koordinatlara geldiğinden, ROI kolayca bölümlenebilmektedir. Tablet bilgisayarın kamerası ile 24 bit RGB (Red Green Blue) renkli görüntü elde edilir. İlk olarak, alınan renkli ROI görüntüsü, 8 bit gri seviye görüntüye dönüştürülür.



Şekil 7: Görüntü işleme ve karar mekanizması basamakları

İki boyutlu Gaussian alçak geçiren süzgeç ile görüntüdeki parlak pikseller daha yumuşak bir görünüme sahip hale getirilir ve aynı zamanda da kontrol ve test çizgilerinin kenarları yumuşatılarak daha düzgün kenarların elde edilmesi sağlanır. Gaussian x değişkenine ait, olasılık yoğunluk fonksiyonu Denklem 1'de görülmektedir.

$$\rho(x) = \frac{1}{\sigma\sqrt{2\pi}} e^{-\frac{(x-\mu)^2}{2\sigma^2}} \quad (1)$$

Bu denklemde x yoğunluk değeri, μ yoğunluk değeri x 'in ortalama değeri, σ yoğunluk değeri x 'e ait standart sapmadır. Standart sapmanın karesi (σ^2) varyanstır. Görüntünün üzerindeki piksellerin ortalama ve varyanslarını hesaplamak için Denklem 2-3 kullanılır.

$$\mu = \frac{1}{MN} \sum_{x=0}^{M-1} \sum_{y=0}^{N-1} f(x, y) \quad (2)$$

$$\sigma^2 = \frac{1}{MN} \sum_{x=0}^{M-1} \sum_{y=0}^{N-1} [f(x, y) - \mu]^2 \quad (3)$$

Gaussian filtre ile normalize edilen görüntü kullanılarak; ROI'nin piksel bazında bütün satırları, her beş dusey sıradan biri alınarak oluşturulan ortalamalar sayesinde, yukarıdan aşağı doğru tek boyutlu bir sütun vektörü yoğunluk grafiği oluşturulur. Bu ortalama vektör grafiğinde, kontrol ve test çizgilerinin bulunduğu bölgelerin yoğunluk değerleri düşük olacağından, bu bölgelerde pikler oluşur. Çizgilerin bulunduğu yerler grafikte oluşan pikler sayesinde tespit edilir. Bu pikler daha önceden belirlenmiş bir eşığe göre sınıflandırılır. Bu eşikleme sayesinde çizgilerin varlığı ve koordinatları bulunur ve bu bilgiler dâhilinde test sonuçlandırılır.

ROI'ye ait satır-sütun ortalama yoğunluk grafiğinde piklerin var olup olmadığına göre;

- Eğer kontrol çizgisi koordinatlarında bir pik yoksa sonuç geçersizdir. Test yeniden yapılmalıdır
- Eğer kontrol çizgisi olmadan sadece test çizgisi bölgesinde bir pik varsa sonuç geçersizdir. Test yeniden yapılmalıdır
- Sadece kontrol çizgisi koordinatlarında bir pik varsa sonuç negatiftir.
- Kontrol çizgisi bölgesinde oluşan pik ile beraber, eğer test çizgisi bölgesinde de ikinci bir pik belirmişse sonuç pozitifdir.

Sonuçların tespitinden sonra, bu bilgiler hastanın protokol numarasıyla birlikte otomatik olarak tablete kaydedilir. İsteğe bağlı olarak doktor, elektronik posta yoluyla bilgilendirilir.

3. Sonuçlar ve değerlendirme

Bu çalışmada, *H. pylori* HTT testine ait görüntüler tablet bilgisayar ile alınmış, otomatik ve gerçek zamanlı olarak değerlendirilme işlemleri gerçekleştirilmiştir. Bunun yanında elde edilen test sonuçları, hastanın protokol numarası ile tablet bilgisayara kaydedilerek, hastanın doktoruna e-mail ile gönderilmiş ve zamandan kazanç sağlanmıştır. Bu sistem sayesinde, HTT'lerin elektronik olarak analizi gerçekleştirilerek, normal koşullarda laboratuvarlarda manuel olarak yapılan değerlendirmelerde oluşabilecek olumsuz sonuçlar ortadan kaldırılmıştır. Uygulamada, 100 adet *H. pylori* HTT için sistem çalıştırılmış ve laboratuvar çalışanlarının gözle yaptıkları analiz sonuçlarıyla karşılaştırılmış ve sonuçların tamamının örtüştüğü gözlemlenmiştir.

Bu geliştirilen sistem kullanılarak kaydedilecek veriler ile geçmişe dönük ilgili hastalık hakkında istatistiksel bilgi bankası oluşması sağlanabilecektir. Bir bölgeye ait ilgili hastalığın yayılması; günlük, haftalık, aylık ve yıllık olarak belirlenebileceği için bu duruma ait gelecek tahminlerin yapılması ve gereken önlemlerin alınması sağlanabilecektir. Ayrıca geliştirilen bu sistemin kullanılması ile laboratuvar teknisyenleri değerlendirmelerini otomatik olarak, kolay ve daha az hata ile zamandan tasarruf ederek yapabilecek ve hastaları, hastalık bilgileri ile birlikte kayıt altına alarak hekimleri daha hızlı bir şekilde bilgilendirebileceklerdir.

4. Kaynaklar

[1] Banoo, S.; Bell, D.; Bossuyt, P.; Herring, A.; Mabey, D.; Poole, F.; Smith, P. G.; Sriram, N.; Wongsrichanalai, C.; and Linke, R. "Evaluation of diagnostic tests for infectious

diseases: general principles", *Nat. Rev. Micro.*, 8(12), 16–28, 2008.

- [2] Yager, P.; Edwards, T.; Fu, E.; Helton, K.; Nelson, K.; Tam, M. R.; and Weigl, B. H. "Microfluidic diagnostic technologies for global public health", *Nature.*, 442, 412–418, 2006.
- [3] Sista, R.; Hua, Z.; Thwar, P.; Sudarsan, A.; Srinivasan, V.; Eckhardt, A.; Pollack, M.; and Pamula, V. "Development of a digital microfluidic platform for point of care testing", *Lab Chip.*, 8, 2091–2104, 2008.
- [4] Lee, W. G.; Kim, Y.G.; Chung, B.G.; Demirci, U.; and Khademhosseini, A. "Nano/Microfluidics for diagnosis of infectious diseases in developing countries", *Adv. Drug Delivery Rev.*, 62, 449–457, 2010.
- [5] Carrio, A.; Sampedro, C.; Sanchez-Lopez, J. L.; Pimienta, M.; and Campoy, P. "Automated low-cost smartphone-based lateral flow saliva test reader for drugs-of-abuse detection". *Sensors.*, 15, 29569-29593, 2015.
- [6] Black, A.D.; Car, J.; Pagliari, C.; Anandan, C.; Cresswell, K. et al. "The Impact of eHealth on the Quality and Safety of Health Care: A Systematic Overview", *PLoS Med* 8(1): e1000387. doi: 10.1371/journal.pmed.1000387, 2011
- [7] Kim, S.; and Park, J.-K. "Development of a test strip reader for a lateral flow membrane-based immunochromatographic assay", *Biotechnol. Bioprocess Eng.*, 9, 127-131, 2011.
- [8] Mudanyali, O.; Dimitrov, S.; Sikora, U.; Padmanabhan, S.; Navruz, I.; and Ozcan, A. "Integrated rapid-diagnostic-test reader platform on a cellphone", *Lab Chip.*, 12, 2678–2686, 2012.
- [9] Ozkan, H. and Kayhan, O. S., "A Novel Automatic Rapid Diagnostic Test Reader Platform", *Computational and Mathematical Methods in Medicine*, vol. (2016) 1-10. doi:10.1155/2016/7498217, 2016
- [10] He, Q.; Wang, J.-P.; Osato, M.; Lachman, L. B. "Real-time quantitative PCR for detection of helicobacter pylori", *J. Clin. Microbiol.*, 40(10), 3720–3728, 2002.
- [11] Al-Moayad, E. E., Alghalibi, S. M., Al-Shamahy, H. A., Nasher, A. T., Al-hebshi, N. N.. "Normalized real-time PCR for diagnosis of *H. pylori* infection", *Qatar Med J.* 2014(2) 123–129, 2014.
- [12] Ribeiro, M. L., Ecclissato, C. C., Mattos, R. G., Mendonca, S., Pedrazzoli Jr, J. "Quantitative real-time PCR for the clinical detection of *Helicobacter pylori*", *Genet. Mol. Biol.* 30(2) 431-434, 2007.

Teşekkür

Bu çalışmada veriler İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesinden elde edilmiştir. Mikrobiyoloji laboratuvarı sorumlusu Prof. Dr. Betigül Öngene ve Araştırmacı Kaniye Ataseven'e teşekkür ederiz.