Instytut Biocybernetyki i Inżynierii Biomedycznej Polska Akademia Nauk

MeMoExplorer™

An Advanced Membrane Morphology Software wersja 18.5.5.0

Instrukcja użytkownika

O programie (2) Instalacja i start programu (3) Panel konfiguracji – *Settings* (6) Panel roboczy - *Work* (12) Analiza pojedynczego obrazu - *Single Run* (14) Automatyczna analiza serii obrazów - *Batch Run* (19) Generator raportów (Adobe Reader PDF) (20)

O programie

Oprogramowanie *MeMoExplorer* jest przeznaczone do analizy obrazów mikroskopowych różnych typów membran.

Jego głównym zadaniem jest pełna automatyzacja procesu przetwarzania obrazów membran oraz precyzyjne pomiary morfometryczne obecnych w membranach porów w celu obiektywnego oszacowania rozkładu ich wielkości i przygotowania danych do jakichkolwiek, dowolnych analiz statystycznych, które mogą być przeprowadzane za pomocą narzędzi zewnętrznych (np. Excel). Komputerowa analiza membran - a dokładniej ich obrazów uzyskiwanych z mikroskopu elektronowego - ma na celu ocenę parametrów morfologicznych porowatej powtarzalności uzyskiwania mikrostruktury oraz tych parametrów w skomplikowanym procesie wytwarzania membran.

Szczególną uwagę przy projektowaniu aplikacji zwracaliśmy na łatwość oraz intuicyjność obsługi programu dla końcowego użytkownika (technika, biochemika).

Program *MeMoExplorer* jest opracowaniem oryginalnym od początku do końca. Jest wynikiem współpracy kilku pracowni naszego Instytutu, przeznaczonym dla systemu operacyjnego Microsoft Windows 10. W najniższej warstwie programowej wykorzystuje jedną z najlepszych (i najszybszych) bibliotek niskopoziomowego przetwarzania obrazów *Intel Open Computer Vision Library (OpenCV)*. Jest napisany w najbardziej zaawansowanym i efektywnym języku programowania, C++, z wykorzystaniem dwóch środowisk programistycznych: Microsoft Visual Studio (przetwarzanie obrazów) oraz Embarcadero (dawniej Borland) RAD Studio (interfejs użytkownika – GUI – Graphical User Interface).

2

Instalacja i start programu

Używanie programu *MeMoExplorer* wymaga jego zainstalowania na Twoim komputerze. Instalator aplikacji jest dostępny w postaci pliku o nazwie *instMeMoExplorer.exe*, który możesz uzyskać pobierając bezpośrednio ze strony Pracowni Membran Półprzepuszczalnych i Bioreaktorów (na dole strony):

http://ibib.waw.pl/pl/o-instytucie/zaklad-ii/pracownia-membran-polprzepuszczalnych-i-bioreaktorow).

Jeśli już posiadasz ten plik, uruchom go i postępuj zgodnie z instrukcjami na ekranie. W trakcie instalacji akceptuj proponowane (domyślne) ustawienia.

Po zakończeniu procedury instalacyjnej poszukaj na ekranie ikony **MeMoExplorer**. To będzie skrót do uruchamiania zainstalowanej aplikacji, teraz i w przyszłości. Zapamiętaj lub zmień położenie ikony zgodnie ze swoimi preferencjami.



Podwójne kliknięcie tej ikony startuje program *MeMoExplorer*.

The MeMoExplorerTM An Advanced Membrane Morphology Software

Laboratory of Fundamentals of Computer-Aided Image Diagnostics Laboratory of Semipermeable Membranes and Bioreactors

Institute of Biocybernetics and Biomedical Engineering Polish Academy of Sciences

Click here or go to Help menu for a User Guide

Zwróć uwagę na możliwość wyświetlenia już teraz instrukcji obsługi programu, co może być istotne dla niedoświadczonego operatora, który uruchamia program po raz pierszy. Wiersz *Click here or go to Help menu*

Bardzo istotne, przy każdym starcie programu, jest sprawdzenie, czy na serwerze w sieci jest dostępna jego aktualizacja. Kliknij w tym celu klawisz **Try update**.



Możliwe są teraz dwie sytuacje. Pierwsza, to brak aktualizacji oprogramowania na serwerze. Zobaczysz wtedy komunikat, jak na poniższym obrazku.



Druga możliwość, aktualizacja jest dostępna. W tym przypadku z serwera zostaną automatycznie pobrane nowsze pliki. Zobaczysz wtedy komunikat *Downloading …* oraz rosnący wskaźnik postępu pobierania na klawiszu *Try update*.



Po zakończeniu pobierania wszystkich nowych elementów pojawi się prośba o ostateczną akceptację na przeprowadzenie aktualizacji . Kliknij klawisz *Finalize ...*



Panel konfiguracji - Settings

Przejdź na zakładkę *Settings*.

The MeMoExplorer™ Build		Build 17.10.2	4.0 Copyright @	Copyright © 2017 IB&BE PAS		All rights reserved	
File	Help						
	Welcome	ĺ.	Sett	tings		Work	
	Basic Set	tings	Advanced Set	tings			

Ustawienia zostały podzielone na dwie grupy: podstawowe (*Basic*) oraz zaawansowane (*Advanced*). Wybierz teraz zakładkę *Basic Settings*.

Przyjmujemy, że wiesz co robisz i jaki typ obrazów aktualnie chcesz badać. Kluczowe dla poprawnego działania programu jest wybranie na początku właściwego typu obrazu. W przeciwnym razie wyniki przetwarzania i analizy obrazu mogą nie być poprawne i dokładne. Aby wybrać typ obrazu kliknij odpowiednią ikonę.



Wybrany typ obrazu zostanie otoczony ramką.

Ponieważ jednym z głównych zadań programu jest analiza rozkładów wielkości porów, a wyniki analizy opisywane są dla wygody użytkownika w μ^2 , konieczna jest odpowiednia kalibracja (*Object size calibration*). Do użytkownika aplikacji należy podanie prawidłowego przelicznika μ m na punkty obrazowe (*pixels*).





Kolejne ustawienie w grupie podstawowych decyduje o tym, jak należy postępować z obiektami (porami) znajdującymi się na krawędziach obrazu, a więc nie w pełni widocznymi (*Border objects*).



Obiekty mniejsze od dolnej wartości ostatniego słupka histogramu (domyślnie 300µ²) powinny być usuwane z analizy zawsze, ponieważ nie jest możliwe określenie ich rzeczywistej wielkości (*Remove small*).

Ostatni słupek histogramu zawiera obiekty większe od ustalonej przez użytkownika wartości granicznej (domyślnie 300µ²). Jeśli więc duży obiekt nie jest widoczny w całości ale jego fragment ma powierzchnię większą od wartości granicznej to nie powinien być usuwany, bo trafia w sposób naturany do ostatniego słupka histogramu. *Remove large* nie dotyczy więc tych przypadków i należy to dokładnie zrozumieć. Ale, czy jest jakaś górna granica wielkości obiektu (pora)? Opcja *Remove large* pozwala użytkownikowi na decyzję w tej kwestii. Mowa tu o sytuacji pokazanej na poniższym obrazku.



Wydaje się oczywiste, że ciemny obszar po prawej stronie nie powinien być traktowany jako por. Nie jest porem, tylko efektem niepoprawnego pozycjonowania membrany w mikroskopie. Nie zajmuje ona całej powierzchni obrazu (a powinna, nie należy rejestrować takich obrazów). Ale jeśli już się zdarzy, to zaznaczenie pola **Remove large** eliminuje ze zbioru wydzielonych obiektów te, których wielkość przekracza pewną ustaloną wartość. Wartość ta jest zdefiniowana w μ^2 w pliku **MeMoExplorer.ini**, w katalogu roboczym aplikacji C:\MeMoExplorer, parametr **TooLargeThr** w sekcji **BinThrMicro**.

... [Work] Report=1 [Files] LastLoad=Sample.tif [BinThrMicro] bthr1=3 bthr2=8 bthr3=20 bthr4=80 bthr5=100 bthr6=150 bthr7=300 TooLargeThr=76953 [SizeCalib] MagIndex=2 100um=258 [Border] RemoveSmall=1 RemoveLarge=1 •••

Trzecim, ostatnim ustawieniem w grupie podstawowych jest konfiguracja procedury klasyfikacji obrazów, czyli sposobu wyliczania podobieństwa do wzorców. Wybierasz tutaj, które słupki histogramu (zakresy wielkości obiektów) mają być brane pod uwagę przy obliczaniu tego podobieństwa.



Wybór całego histogramu do wyliczania podobieństwa do wzorców i klasyfikacji.

Wybór słupków 2, 3, 5 i 8 do wyliczania podobieństwa do wzorców i klasyfikacji.



Wybierz teraz zakładkę *Advanced Settings*.

... i nic na razie nie zmieniaj, dopóki nie uzyskasz pewności, co oznaczają te ustawienia.

Optimize for object size pozwala na dopasowanie metod przetwarzania do konkretnego typu membran, a dokładniej – następuje takie skonfigurowanie algorytmów przetwarzania, aby w najlepszy sposób wydzielać pory wskazanej wielkości. Ustawienie *Medium* jest najlepsze dla większości obrazów.



Object appearance pozwala na optymalizację metod obróbki obrazów i wydzielania obiektów w zależności od preferowanego wyglądu porów. Istotę problemu pokazują obrazy poniżej.



Wydzielanie obiektów z opcją Uniform dark gray levels



Wydzielanie obiektów z opcją *Floating gray leves*

Panel roboczy - Work

Przejdź na zakładkę **Work**.



Jesteś teraz w panelu roboczym aplikacji. Większość pracy z programem odbywa się właśnie w tym miejscu. Po lewej stronie wyświetlane są analizowane obrazy. Po prawej znajduje się konsola sterowania zadaniami.





Funkcje trzech pierwszych klawiszy są dokładnie takie jak ich nazwy i nie wymagają wyjaśnień. *Single Run* (po wcześniejszym załadowaniu obrazu TIFF z pliku za pomocą *Load*) startuje analizę pojedynczego obrazu. Tego, który został załadowany i jest aktualnie wyświetlany. *Batch Run* startuje automatyczną analizę wszystkich obrazów w aktualnym katalogu. Tym, z którego pochodzi załadowany aktualnie obraz. A więc, aby przeprowadzić *Batch Run* załaduj najpierw dowolny plik obrazowy z wybranego katalogu.

Zwróć jeszcze uwagę na panel zawierający obrazy wzorcowe **Predefined Reference Patterns**.



Są to arbitralnie wybrane wzorce różnych typów membran. Jednym z elementów każdej analizy obrazu jest jego klasyfikacja do grupy, reprezentowanej przez wzorzec, którego cechy są najbliższe badanemu przypadkowi. Pod pojęciem "najbliższe" należy rozumieć podobieństwo histogramów opisujących rozkłady wielkości porów.

Analiza pojedynczego obrazu – Single Run

Załaduj obraz. Może to być na początek plik *Sample.tif* z głównego katalogu aplikacji C:\MeMoExplorer (jak na obrazku poniżej). Potem kliknij klawisz *Single Run*.





Następuje automatyczne wydzielenie porów oraz pomiar ich wielkości. Dodatkowo, przeprowadzane jest porównanie aktualnego obrazu ze wszystkimi obrazami wzorcowymi (*Reference Patterns*) i klasyfikacja do najbardziej podobnego typu (zielone podświetlenie).



Wyświetlane są również rozkłady wielkości porów w wybranych zakresach.





Szczegółowe dane pomiarowe są DOPISYWANE!!! do kilku plików, w podkatalogu *OutFiles*:

_AreaOrVolumeFreq.txt – histogram bezwzględnej ilości porów w ustalonych 8 zakresach
_AreaOrVolumeFreq%.txt - histogram względnej ilości porów w ustalonych 8 zakresach
_AreaOrVolumeCum.txt – histogram bezwzględnej sumarycznej powierzchni w zakresach
_AreaOrVolumeCum%.txt – histogram względnej sumarycznej powierzchni w zakresach

Jeśli zamierzasz analizować dane w Excelu, kliknij klawisz **Data for Excel** i wszystkie wymienione wyżej pliki tekstowe (txt) zostaną "przetłumaczone" na pliki Excela (xls) i umieszczone w podkatalogu **Excel**:

_AreaOrVolumeFreq.xls _AreaOrVolumeFreq%.xls _AreaOrVolumeCum.xls _AreaOrVolumeCum%..xls

Przykładowa zawartość plików z danymi:

_AreaOrVolumeFreq.txt

Bin1 Bin2 Bin3 Bin4 Bin5 Bin6 Bin7 Bin8 Image 89 46 97 266 47 60 59 20 D:_PROJECTS\Embarcadero\MeMoExplorer\Win32\Release\RefPatterns\Pattern11.tif 72 38 61 140 38 71 132 89 D:_PROJECTS\Embarcadero\MeMoExplorer\Win32\Release\RefPatterns\Pattern11.tif 510 236 167 126 12 14 22 49 C:\Users\Clevo\Desktop\PSfPU-1H-WSx500mp.tif 510 236 167 126 12 14 22 49 C:\Users\Clevo\Desktop\PSfPU-1H-WSx500mp.tif 721 275 210 157 8 20 21 29 C:\Users\Clevo\Desktop\PSfPU-2H-WSx500-1mp.tif 721 275 210 157 8 20 21 29 C:\Users\Clevo\Desktop\PSfPU-2H-WSx500-1mp.tif 61 34 20 32 7 11 13 24 C:\Users\Clevo\Desktop\PSfPU-2-WSx500-2mpbez tła.tif 62 34 20 32 7 11 13 22 C:\MeMoExplorer\RefPatterns\Pattern13.tif 100 50 52 41 1 5 12 23 C:\MeMoExplorer\RefPatterns\Pattern01.tif 131 69 70 46 4 9 9 26 C:\MeMoExplorer\RefPatterns\Pattern02.tif 184 105 88 61 2 7 7 31 C:\MeMoExplorer\RefPatterns\Pattern03.tif 79 31 33 34 2 4 10 30 C:\MeMoExplorer\RefPatterns\Pattern04.tif 122 62 51 64 6 9 15 29 C:\MeMoExplorer\RefPatterns\Pattern05.tif 67 27 22 26 1 4 6 24 C:\MeMoExplorer\RefPatterns\Pattern06.tif 72 41 24 35 2 9 8 21 C:\MeMoExplorer\RefPatterns\Pattern07.tif 70 34 26 26 2 5 6 19 C:\MeMoExplorer\RefPatterns\Pattern08.tif 74 30 32 34 1 6 9 27 C:\MeMoExplorer\RefPatterns\Pattern09.tif 61 35 25 24 5 3 4 17 C:\MeMoExplorer\RefPatterns\Pattern10.tif

_AreaOrVolumeFreq.xls

M	Microsoft ExcelAreaOrVolumeFreq.xls									
8	<u>F</u> ile	<u>E</u> dit <u>V</u> i	ew <u>I</u> ns	sert F <u>o</u>	rmat	Tools	<u>D</u> ata <u>V</u>	<u>V</u> indow	<u>H</u> elp	
D	൙ 🖪	🔁 é	3 🗋 🕯	** ¥	B	- 🝼	K) + C	a 🗸 🎑	Σ - 2 Ζ Ι ΙΙΙ 🖓 100% - 🖉 🗸 Ι	
M14 ▼ <i>f</i> _x										
	Α	В	С	D	E	F	G	Н	1	
1	Field1	Field2	Field3	Field4	Field5	Field6	Field7	Field8	Field9	
2	Bin1	Bin2	Bin3	Bin4	Bin5	Bin6	Bin7	Bin8	Image	
3	89	46	97	266	47	60	59	20	D:_PROJECTS\Embarcadero\MeMoExplore	
4	72	38	61	140	38	71	132	89	D:_PROJECTS\Embarcadero\MeMoExplore	
5	510	236	167	126	12	14	22	49	C:\Users\Clevo\Desktop\PSfPU-1H-WSx500r	
6	721	275	210	157	8	20	21	29	C:\Users\Clevo\Desktop\PSfPU-2H-WSx500-	
7	61	34	20	32	7	11	13	24	C:\Users\Clevo\Desktop\PSfPU-2-WSx500-2	
8	62	34	20	32	7	11	13	22	C:\MeMoExplorer\RefPatterns\Pattern13.tif	
9	100	50	52	41	1	5	12	23	C:\MeMoExplorer\RefPatterns\Pattern01.tif	
10	131	69	70	46	4	9	9	26	C:\MeMoExplorer\RefPatterns\Pattern02.tif	
11	184	105	88	61	2	7	7	31	C:\MeMoExplorer\RefPatterns\Pattern03.tif	
12	79	31	33	34	2	4	10	30	C:\MeMoExplorer\RefPatterns\Pattern04.tif	
13	122	62	51	64	6	9	15	29	C:\MeMoExplorer\RefPatterns\Pattern05.tif	
14	67	27	22	26	1	4	6	24	C:\MeMoExplorer\RefPatterns\Pattern06.tif	
15	72	41	24	35	2	9	8	21	C:\MeMoExplorer\RefPatterns\Pattern07.tif	
16	70	34	26	26	2	5	6	19	C:\MeMoExplorer\RefPatterns\Pattern08.tif	
17	74	30	32	34	1	6	9	27	C:\MeMoExplorer\RefPatterns\Pattern09.tif	
18	61	35	25	24	5	3	4	17	C:\MeMoExplorer\RefPatterns\Pattern10.tif	
19	72	38	61	140	38	71	132	89	C:\MeMoExplorer\RefPatterns\Pattern11.tif	
20	283	179	157	240	57	101	122	51	C:\MeMoExplorer\RefPatterns\Pattern12.tif	
21	137	68	61	67	10	8	19	44	C:\MeMoExplorer\RefPatterns\Pattern14.tif	
22	72	37	34	41	3	17	19	25	C:\MeMoExplorer\RefPatterns\Pattern15.tif	
00										

Zapamiętaj !

Wyniki każdej analizy obrazu (obrazów), inicjowanej za pomocą *Single* lub *Batch Run*, są DOPISYWANE!!! do ustalonych plików wynikowych. Kopiuj pliki lub zmieniaj ich nazwy w odpowiednim momencie, jeśli chcesz mieć rozdzielone dane z różnych badań.

Automatyczna analiza serii obrazów – Batch Run

Załaduj dowolny obraz z katalogu, którego cała zawartość ma być przedmiotem analizy. Może to być na początek podkatalog **RefPatterns**, znajdujący się w głównym katalogu aplikacji, C:\MeMoExplorer\RefPatterns (jak na obrazku poniżej). Potem kliknij klawisz **BatchRun**.



Przetwarzanie obrazów i pomiary parametrów przebiegają dokładnie tak samo, jak w przypadku pojedynczego obrazu, tylko kolejne pliki obrazowe z katalogu są ładowane i obrabiane jeden po drugim automatycznie. Przy pracy "batchowej" nie ma również wyświetlania rozkładów wielkości porów dla każdego analizowanego obrazu. Podobnie jak w przypadku badania pojedynczego obrazu, wyniki pomiarów serii obrazów z wybranego katalogu są DOPISYWANE!!! do ustalonych na sztywno wynikowych plików danych:

_AreaOrVolumeFreq.txt – histogram bezwzględnej ilości porów w ustalonych 8 zakresach _AreaOrVolumeFreq%.txt - histogram względnej ilości porów w ustalonych 8 zakresach _AreaOrVolumeCum.txt – histogram bezwzględnej sumarycznej powierzchni w zakresach _AreaOrVolumeCum%.txt – histogram względnej sumarycznej powierzchni w zakresach

Generator raportów

Jeśli zaznaczysz pole *Generate PDF report after each Run* to po każdej analizie pojedynczego obrazu zostanie wytworzony i wyświetlony raport/podsumowanie. Do wyświetlenia zostanie użyta domyślna przeglądarka plików PDF. Zalecane jest zainstalowanie Adobe Acrobat Reader.

Część 1



Część 2



Raport generowany po analizie serii obrazów będzie miał inną postać, jak niżej.

C:\MeM	oExplorer\RefPatter	ns ns	epon_20	10-04-19_	d foldor	.pui				
THE IISt	or an batch processe	eu illiage	5 110111 (1	ie selecte						
#)	Image file name	Clas	sification	result (cl	osest refe	erence pa	attern iden	tifier)		
1)	Pattern01.tif	01								
2)	Pattern02.tif	02								
3)	Pattern03.tif				03					
4)	Pattern04.tif				04					
5)	Pattern05.tif				05					
6)	Pattern06.tif				06					
7)	Pattern07.tif				07					
8)	Pattern08.tif				08					
9)	Pattern09.tif				09					
10)	Pattern10.tif				10					
11)	Pattern11.tif				06					
12)	Pattern12.tif				02					
13)	Pattern13.tif	05								
14)	Pattern14.tif	05								
15)	Pattern15.tif				02					
Overall	group statistics in pr	edefined	l ranges							
Ave:	25.12	16.98	16.83	21.93	3.35	3.70	3.30	8.80		
Std:	6.75	3.62	2.11	6.33	1.91	2.03	2.47	4.71		
Std/Ave	. 0.27	0.21	0.13	0.29	0.57	0.55	0.75	0.54		

W raporcie podawana jest lokalizacja i nazwa wygenerowanego pliku PDF, lokalizacja katalogu, którego zawartość była przedmiotem zbiorczej analizy oraz lista plików (obrazów) , które były obecne w wybranym katalogu. Dodatkowo, dla każdego obrazu podawany jest wynik jego klasyfikacji. Jest to identyfikator (numer) wzorca, do którego obraz jest najbardziej podobny (w sensie rozkładów wielkości porów).

Wszelkie problemy, pytania oraz sugestie zmian lub rozszerzeń w oprogramowaniu proszę kierować do osoby odpowiedzialnej za informatyczne aspekty projektu: *darek@ibib.waw.pl*