

ООО «Кардиопротект»

**Автоматизация микроскопического анализа
(Little 2)**

**Описание программы и
руководство пользователя**

Санкт-Петербург

2009

СОДЕРЖАНИЕ

1 Назначение программы	3
2 Системные требования	5
3 Установка программы	6
4 Система меню	9
5 Оконная система	12
6 Установка параметров программы.....	18
7 Выбор источника и получение изображения	20
8 Сохранение изображения	22
9 Проведение калибровки	23
10 Проведение измерений	25
10.1 Проведение ручных измерений	25
10.2 Анализ бинарного изображения	26
10.3 Анализ изображения по оттенкам	29
10.4 Определение краевого угла смачивания капли	32
11 Сохранение и обработка результатов	34

1 НАЗНАЧЕНИЕ ПРОГРАММЫ

Программа Little 2 предназначена для обработки изображений и получения статистических данных при автоматизированном микроскопическом анализе распределения микрообъектов по размерам. Входным параметром является растровое изображение (формат BMP, JPEG, GIF, PCX, TIF) микрообъектов, либо изображение введенное с цифрового устройства (сканер, камера и т. д.).

Little 2 позволяет автоматизировать микроскопический анализ и решать следующие задачи.

- Производить калибровку и вводить масштабный коэффициент.
- Редактировать изображение (встроенный графический редактор).
- Производить фильтрацию изображения.
- Преобразовывать изображение в негативное.
- Отражать изображение по горизонтали и вертикали.
- Разделять изображение по оттенкам.
- Преобразовывать изображение в бинарное (черно-белое).
- Проводить обработку краев изображения (удалять нежелательные объекты по краям изображения).
- Проводить ручные линейные измерения.
- Проводить ручные измерения площадей.
- Проводить автоматический анализ изображения (вычисление линейных размеров и площадей).
- Группировать данные, полученные при анализе изображения.

Для расширения функциональных возможностей программы реализовано выполнение функций пользователя.

В настоящее время реализованы следующие пользовательские функции.

- Степень заполнения.
- Определение краевого угла смачивания.

Для автоматического определения размеров объектов и фактора формы используется алгоритм прослеживания контуров либо разделения по оттенкам, что существенно повышает надежность метода. При группировке данных автоматически выбирается оптимальное число интервалов группирования (столбцов гистограммы). Реализовано описание состава объектов при помощи одного из четырех уравнений.

- Нормального распределения.
- Логонормального распределения.
- Распределения Розина-Раммлера.
- Распределения Годена-Андреева.

В результате работы программы можно получить статистические параметры распределения микрообъектов по размерам, графическое изображение гистограммы и кривых распределения.

2 СИСТЕМНЫЕ ТРЕБОВАНИЯ

Требования к компьютеру:

- частота процессора ≥ 800 МГц;
- оперативная память ≥ 1 Гб;
- разрешение видеоадаптера $\geq 1280 \times 800$;
- USB порты ≥ 1 .

Требования к операционной системе:

- Windows 2000/XP/2003/Vista;
- драйвера шины USB 2.0.

3 УСТАНОВКА ПРОГРАММЫ

Для начала установки необходимо запустить файл Little2.31.exe. На экране появится приветственное окно (Рисунок 1).

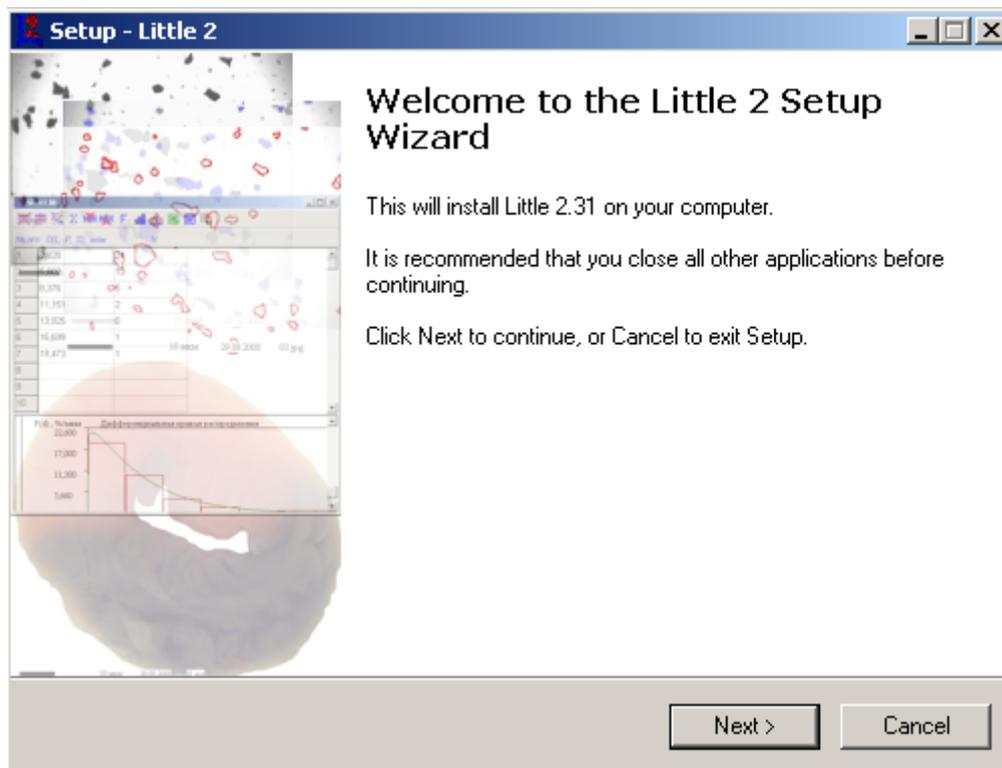


Рисунок 1 — Вид приветственного окна программы установки

При нажатии на кнопку «Next» появится окно, позволяющее задать каталог (папку), в которую будет установлена программа (Рисунок 2).

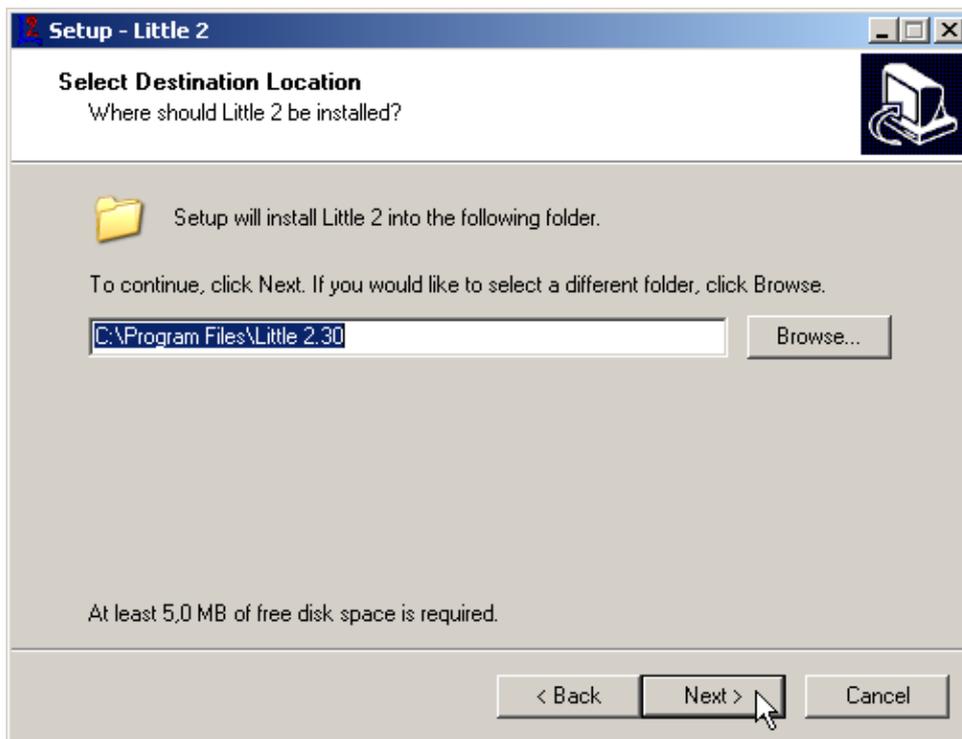


Рисунок 2 — Вид окна выбора каталога установки

При нажатии на кнопку «Next» появится окно, позволяющее задать имя группы программ, в которой будут размещены ярлыки программы и вспомогательных инструментов (Рисунок 3).

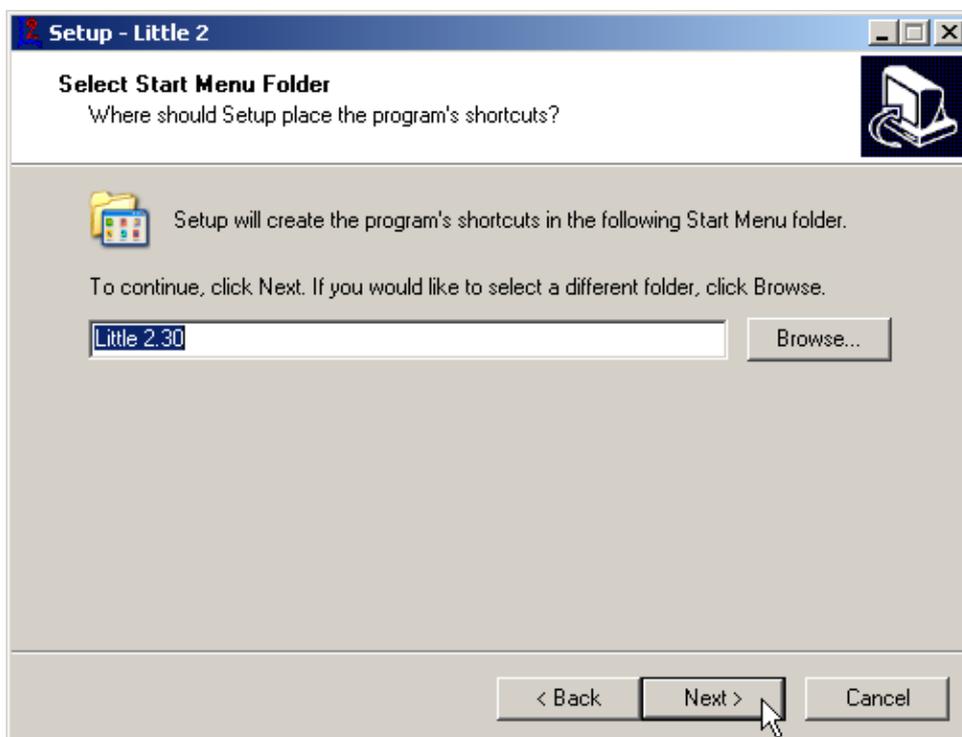


Рисунок 3 — Вид окна выбора имени группы программ

При нажатии на кнопку «Next» начнется установка программы.

Затем программа установки предложит Вам установить драйвера ключа электронной защиты SenseLock.

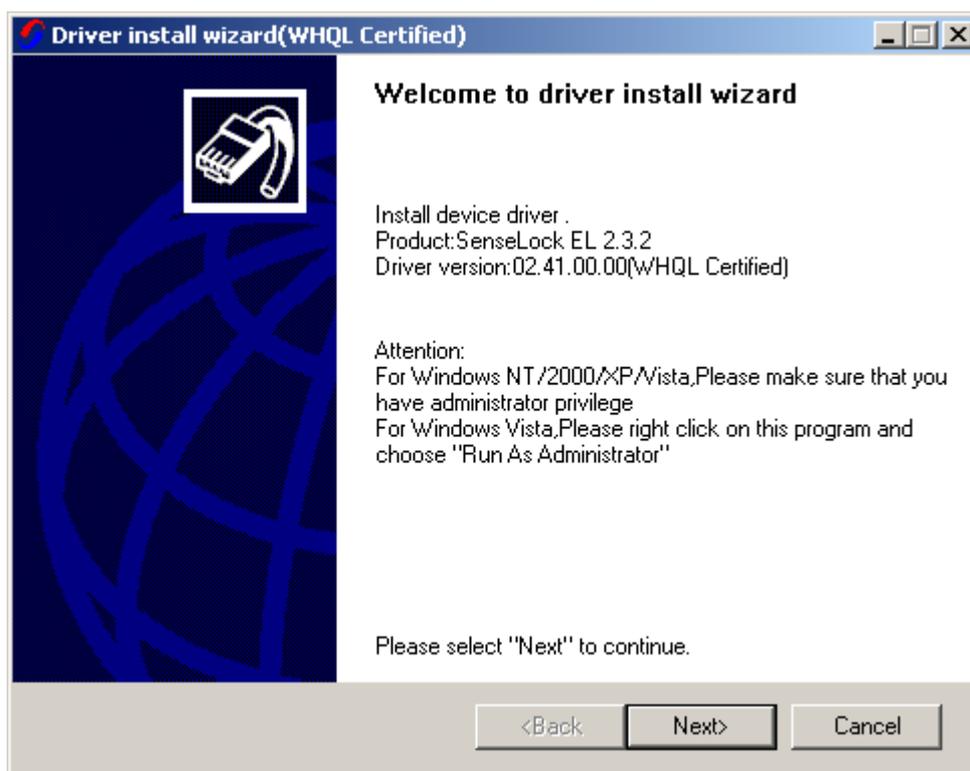


Рисунок 4 — Вид информационного окна установки драйверов ключа электронной защиты

Следуйте указаниям программы установки до ее завершения.

4 СИСТЕМА МЕНЮ

Система меню состоит из следующих четырех пунктов

— «Файл»— работа с файлами изображений и данных;

— «Правка»— работа с буфером обмена;

— «Сервис»— сервисные функции и настройка параметров программы;

— «Окно»— работа с окнами.

Меню «Файл» содержит следующие команды

— «Создать»— служит для создания нового файла изображения или данных;

— «Открыть»— служит для открытия файла изображения или данных;

— «Объединить»— служит для открытия и объединения нескольких файлов данных в одном;

— «Сохранить»— служит для сохранения файла изображения или данных;

— «Закреть»— служит для закрытия активного окна;

— «Получить»— служит для получения изображения со сканера или камеры;

— «Выбрать источник»— служит для выбора источника, с которого будет получено изображение (сканер или камера, их модель/драйвер);

— «Выход»— выход из программы.

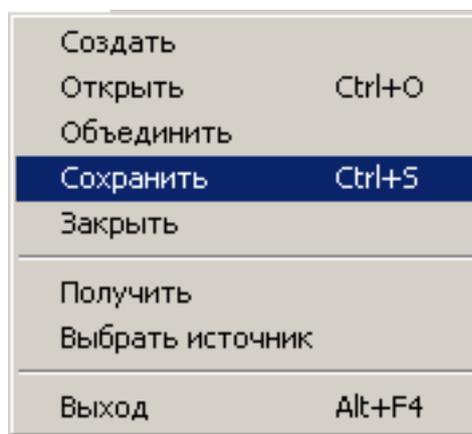


Рисунок 5 — Вид меню «Файл»

Меню «Правка» содержит следующие команды

- «Отменить»— отменяет последнюю операцию проведенную над изображением;
- «Вырезать»— вырезает изображение или данные в буфер обмена;
- «Копировать»— копирует изображение или данные в буфер обмена;
- «Вставить»— вставляет изображение или данные из буфера обмена в активное окно.

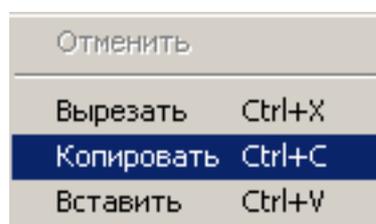


Рисунок 6 — Вид меню «Правка»

Меню «Сервис» содержит следующие команды

- «Калькулятор»— отображает/скрывает калькулятор, предназначенный для быстрых расчетов;
- «Формирование выборки»— служит для формирования статистической выборки с указанными параметрами и применяется для сравнения полученных параметров распределения объектов по размерам с идеальным распределением;
- «Параметры»— отображает окно параметров программы и применяется для задания этих параметров;

— «Калибровка»— служит для отображения окна калибровки и применяется для проведения калибровки то есть для привязки к метрической системе измерений.

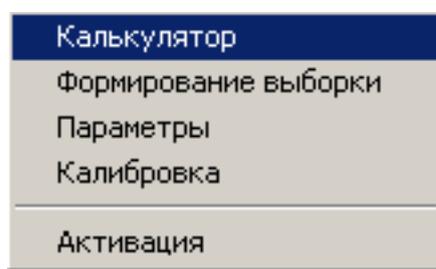


Рисунок 7 — Вид меню «Сервис»

Меню «Окно» содержит следующие команды

— «Расположить все»— служит для перераспределения открытых в программе окон каскадом;

— «Разделить»— служит для перераспределения открытых в программе окон таким образом, что они будут разделены сверху вниз.

Помимо этого меню «Окно» содержит список открытых в программе окон и позволяет осуществлять переключение между ними.

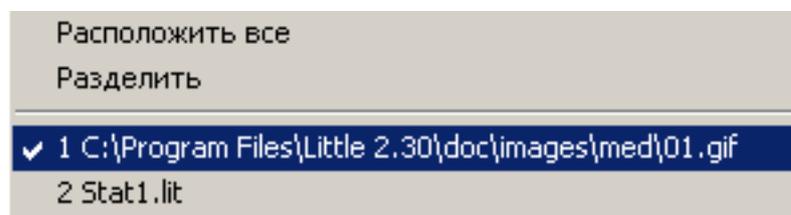


Рисунок 8 — Вид меню «Окно»

5 ОКОННАЯ СИСТЕМА

В программе предусмотрено два типа окон со своими признаками и элементами управления

Окно изображения предназначено для выполнения операций с изображением и содержит верхнюю и нижнюю панели инструментов (Рисунок 9, Рисунок 10, Рисунок 12).

Окно данных содержит таблицу данных, текстовое поле для результатов обработки данных и верхнюю панель инструментов (Рисунок 9, Рисунок 11).

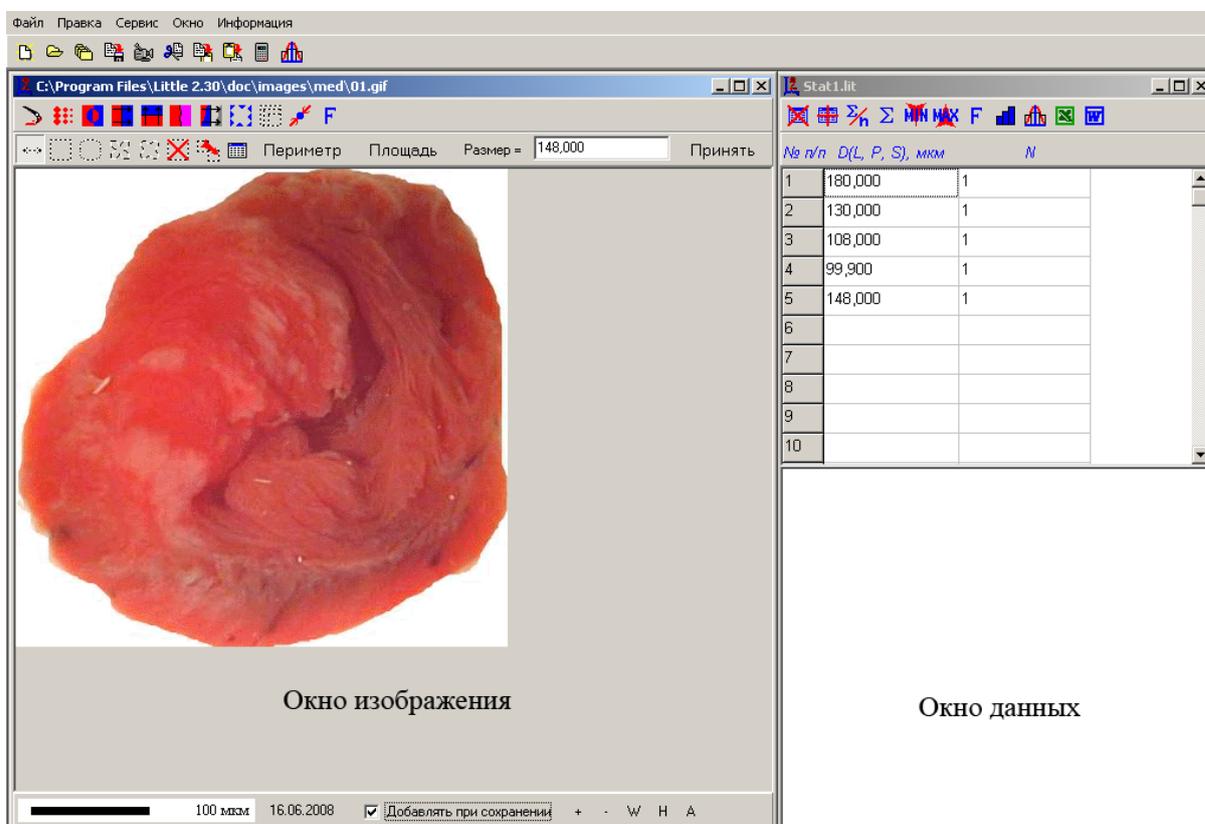


Рисунок 9 — Вид окна изображения и окна данных

Верхняя панель инструментов (Рисунок 10) содержит следующие кнопки

— «Графический редактор»— отображает панели инструментов графического редактора (Рисунок 13);

— «Медианная фильтрация изображения»— отображает панель инструментов медианной фильтрации изображения (Рисунок 14);

— «Преобразование в негативное изображение»— инвертирует изображение;

— «Отразить по горизонтали»— отражает изображение по горизонтали;

— «Отразить по вертикали»— отражает изображение по вертикали;

— «Разделить по оттенкам»— отображает панель инструментов разделения по оттенкам (Рисунок 15);

— «Преобразование в черно-белое изображение»— отображает панель инструментов преобразования изображения в черно-белое (бинарное);

— «Преобразование в оттенки серого»— преобразует изображение в оттенки серого (Gray);

— «Обработка краев изображения»— позволяет обработать края изображения, удаляя объекты не попавшие полностью в поле зрения (работает только с бинарными изображениями);

— «Ручные измерения»— отображает/скрывает панель инструментов ручных изменений (Рисунок 16);

— «Анализ бинарного изображения»— производит автоматический поиск и измерение размеров объектов на изображении (работает только с бинарными изображениями);

— «Анализ по оттенкам»— отображает панель инструментов анализа изображения по оттенкам (Рисунок 17);

— «Функция пользователя»— выполняет функцию пользователя.

В настоящее время доступны две функции пользователя— это «степень заполнения» и «определение краевого угла смачивания». Выбор той или иной функции осуществляется в окне параметров программы. Существует возможность написания собственных функций обработки изображений.



Рисунок 10 — Вид верхней панели инструментов «Изображение»

Панель инструментов «Данные» содержит следующие кнопки

- «Удалить строку» — удаляет текущую строку из таблицы данных;
- «Добавить строку» — добавляет строку в таблицу данных перед текущей строкой;
- «Среднее значение» — вычисляет среднее значение;
- «Сумма» — вычисляет сумму;
- «Минимальное значение» — вычисляет минимальное значение;
- «Максимальное значение» — вычисляет максимальное значение;
- «Функция пользователя» — выполняет функцию пользователя;
- «Группировка данных» — выполняет группировку данных для построения гистограммы
- «Расчет параметров статистических распределений» — выполняет расчет параметров статистических распределений;
- «Экспорт данных в Excel» — экспортирует данные в Excel;
- «Экспорт результатов в Word» — экспортирует результаты в Word;
- «Сохранить результаты» — сохранение результатов расчета в формате RTF.



Рисунок 11 — Вид панели инструментов «Данные»

Нижняя панель инструментов содержит следующие элементы

- масштабную метку, которая соответствует размеру, указанному справа от нее;
- текущую дату;
- флажок, который включает/выключает функцию добавления масштабной метки и даты к изображению при сохранении;
- кнопку увеличения масштаба;

- кнопку уменьшения масштаба;
- кнопку «Вписать по горизонтали»;
- кнопку «Вписать по вертикали»;
- кнопку «Реальный размер».

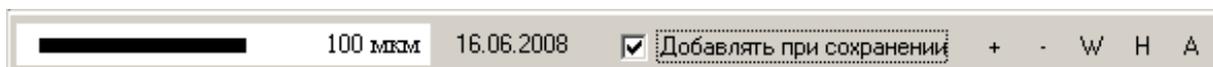


Рисунок 12 — Вид нижней панели инструментов «Изображение»

Панелей графического редактора— две. Первая из них отвечает за такие свойства кисти (заполнения) как: заполнение, цвет заполнения и вид фигуры. Вторая— отвечает за такие свойства карандаша как: начертание, цвет, толщина.

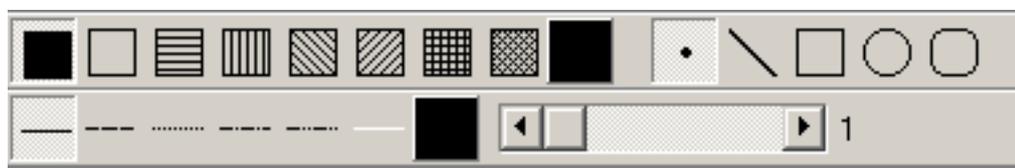


Рисунок 13 — Вид панелей инструментов графического редактора

Медианная фильтрация изображения применяется для сглаживания неровностей и дефектов изображения, а также удаления мелкого «мусора».

Как правило медианная фильтрация проводится окном определенного размера и, чем больше окно, тем больше эффект.

На панели инструментов медианной фильтрации имеются поля ввода для размера окна и кнопка, при нажатии на которую производится фильтрация.



Рисунок 14 — Вид панели инструментов медианной фильтрации

Панель инструментов разделения по оттенкам (рис. 11) содержит два цветовых указателя, при помощи которых можно выбрать оттенки, флажки метода разделения и кнопку «Применить» при нажатии на которую, производится разделение.



Рисунок 15 — Вид панели инструментов разделения по оттенкам

Панель ручных измерений содержит следующие элементы управления (Рисунок 16)

— кнопка «Линейные измерения»— служит для включения режима линейных измерений;

— кнопки «Выделение прямоугольником», «Выделение эллипсом», «Выделение отрезками», «Непрерывное выделение»— включает режим соответствующего выделения области изображения для последующих расчетов периметра или площади или дублирования выделенного участка;

— кнопка «Отменить выделение»— отменяет выделение;

— кнопка «Дублировать выделение»— дублирует выделенную область в новое окно;

— кнопка «Новая серия измерений»— открывает новое окно данных для занесения в него результатов измерений;

— кнопки «Периметр», «Площадь»— вычисляет периметр или площадь по выделению;

— кнопка «Вычисление спектральной плотности»— вычисляет интегральную (среднюю) плотность цветовых каналов системы RGB;

— строка данных «Размер»— отображает линейный размер либо рассчитанные периметр или площадь выделения;

— кнопка «Принять»— добавляет результат измерения в окно данных.



Рисунок 16 — Вид панели инструментов «Ручные измерения»

Панель инструментов анализа по оттенкам содержит следующие элементы управления (Рисунок 17)

— «Градиент»— градиент оттенков по которому происходит выделение области (чем больше градиент, тем больше гамма цветов для выделения);

— «Цвет»— указывает цвет основного оттенка по которому будет проведено выделение области;

— «Отметить»— кнопка для автоматического выделения области по оттенку с учетом градиента;

— «Рассчитать»— кнопка для расчета линейных размеров либо площадей выделенных областей.



Рисунок 17 — Вид панели инструментов «Анализ по оттенкам»

6 УСТАНОВКА ПАРАМЕТРОВ ПРОГРАММЫ

Установка параметров программы осуществляется при выборе пункта «Параметры из меню «Сервис». При этом на экране появляется окно (Рисунок 18), позволяющее задать параметры программы.

Предусмотрена установка следующих параметров:

— «Показывать график функции»— применяется для статистических расчетов и определяет какую функцию показывать (Годена-Андреева, Розина-Рамллера, нормального либо логонормального закона распределения); в режиме «Авто» показывается график функции наиболее полно описывающей гистограмму;

— «Анализ»— определяет параметр, который будет рассчитываться при автоматическом анализе изображения— площадь, периметр либо линейный размер;

— «Показывать элементы»— определяет какие элементы будут показаны на графике функции при статистических расчетах— гистограммы либо расчетная кривая;

— «Распределение»— определяет по какому параметру будет рассчитано статистическое распределение— по объему либо по числу частиц;

— «Функция пользователя»— определяет, какая функция пользователя будет использоваться.

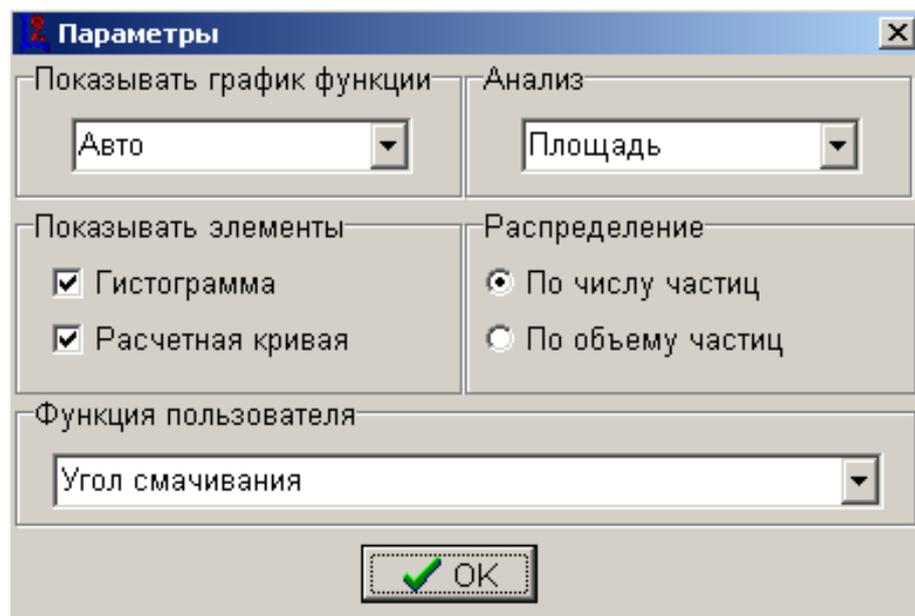


Рисунок 18 — Вид окна установки параметров программы

7 ВЫБОР ИСТОЧНИКА И ПОЛУЧЕНИЕ ИЗОБРАЖЕНИЯ

Перед получением изображения с камеры или сканера необходимо выбрать источник получения данных, то есть указать программе откуда будет получено изображение.

Для этого необходимо воспользоваться соответствующей командой меню «Файл».

На экране появится окно (Рисунок 19), позволяющее выбрать необходимое устройство.

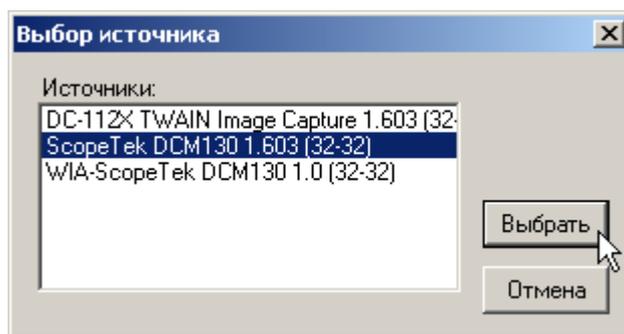


Рисунок 19 — Вид окна выбора источника

Эта операция выполняется один раз перед началом работы.

Для получения изображения с выбранного устройства необходимо воспользоваться командой «Получить» из меню «Файл», либо соответствующей кнопкой панели инструментов. При выборе этой команды на экране появится окно (Рисунок 20), позволяющее выбрать параметры изображения и получить кадр в окно программы (кнопка «Capture»).

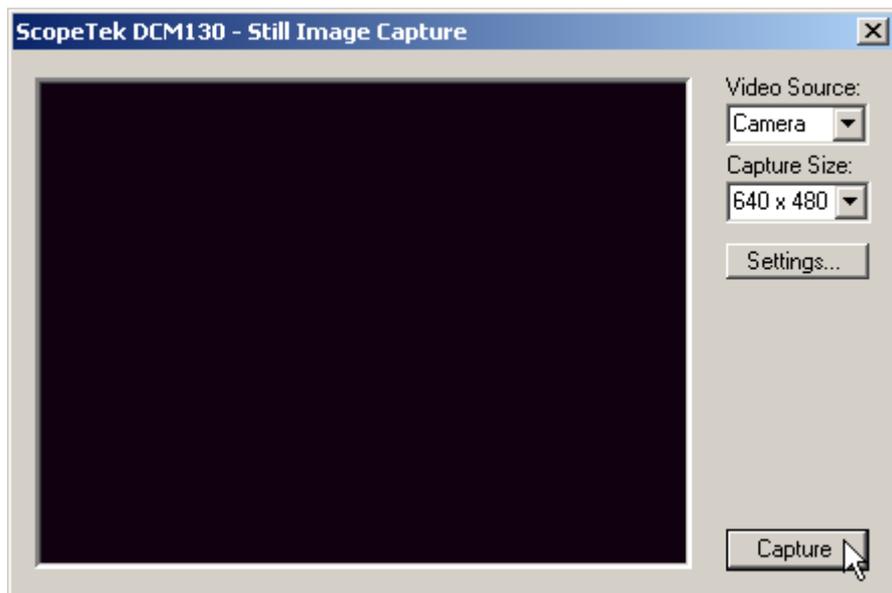


Рисунок 20 — Вид окна захвата кадра изображения

8 СОХРАНЕНИЕ ИЗОБРАЖЕНИЯ

Если изображение планируется использовать позднее, необходимо его сохранить. Для этого необходимо воспользоваться соответствующей командой меню «Файл», либо соответствующей командой панели инструментов.

При выборе команды «Сохранить» на экране появится окно (Рисунок 21), позволяющее задать каталог (папку), имя и тип файла, сохранить его.

При сохранении поддерживаются два типа файлов— это Windows Bitmap и JPEG.

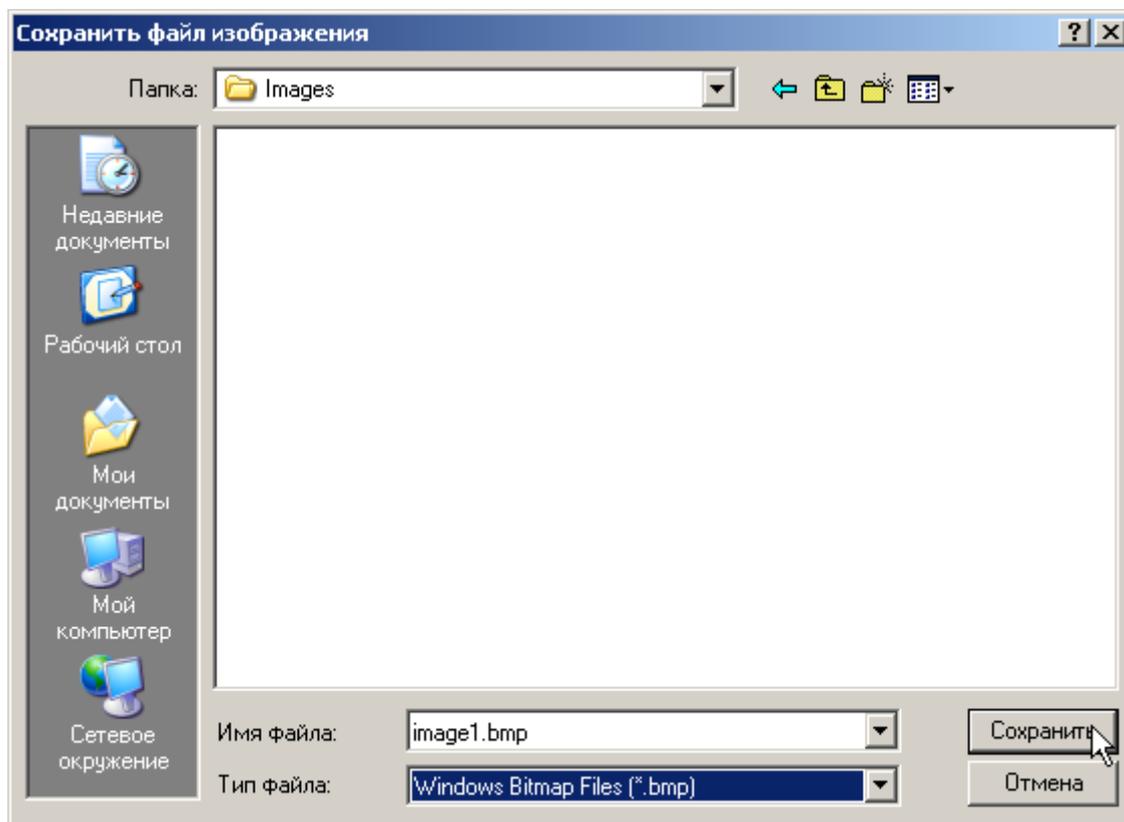


Рисунок 21 — Вид окна сохранения изображения

9 ПРОВЕДЕНИЕ КАЛИБРОВКИ

Проведение калибровки необходимо для перевода компьютерных единиц измерения изображений— пикселей, в реальные метрические единицы.

Калибровка проводится один раз перед началом работы и периодически контролируется. Причем, если измерения будут проводиться при различных увеличениях, калибровка проводится для каждого увеличения отдельно.

Калибровка проводится при помощи объект-микрометра типа «ОМ» или подобного (Рисунок 22, Рисунок 23).

Для проведения калибровки необходимо воспользоваться командой «Калибровка» из меню «Сервис».



Рисунок 22 — Внешний вид объект-микрометра типа ОМ



Рисунок 23 — Вид линейки объект-микрометра в проходящем свете

При выборе команды «Калибровка» на экране появится окно (Рисунок 24) позволяющее провести калибровку.

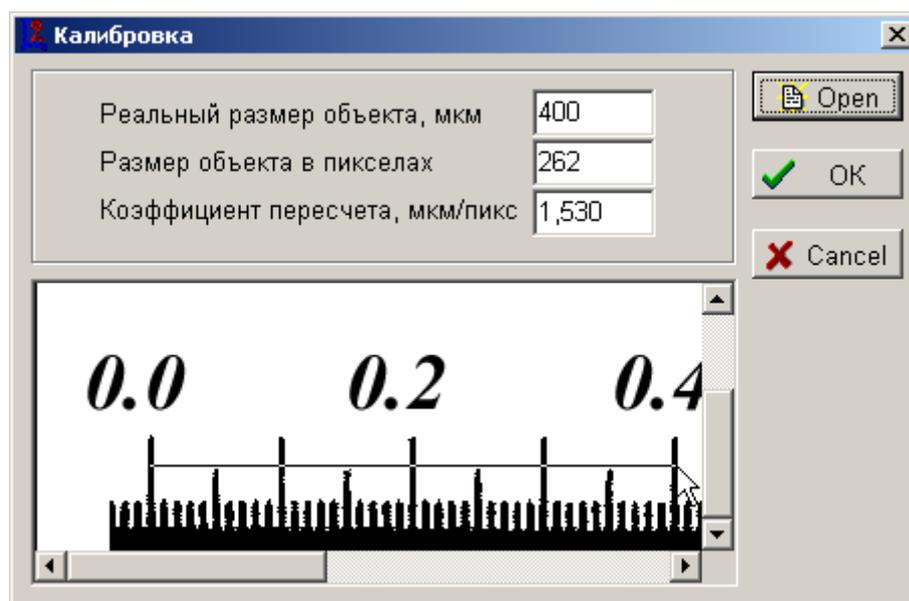


Рисунок 24 — Вид окна калибровки

Порядок калибровки следующий

— получить изображение шкалы объект-микрометра и сохранить его на жестком диске;

— открыть окно калибровки при помощи команды «Калибровка» из меню «Сервис»;

— открыть предварительно сохраненное изображение шкалы объект-микрометра при помощи кнопки «Open»;

— ввести в поле ввода «Реальный размер объекта» максимально помещающееся на экране расстояние линейки объект-микрометра в микрометрах;

— при помощи манипулятора «Мышь» измерить это расстояние, нажав левую кнопку «Мыши» установив указатель в начале отрезка и, удерживая кнопку, провести указатель до конца отрезка, указанного в предыдущем пункте;

В результате в поле ввода «Размер объекта в пикселях» появится значение соответствующее расстоянию в пикселях, а в поле ввода «Коэффициент пересчета», появится значение калибровочного коэффициента в мкм/пикс.

— нажать кнопку «OK».

10 ПРОВЕДЕНИЕ ИЗМЕРЕНИЙ

Проведение ручных измерений в общем виде можно разбить на следующие стадии

- выбор источника (при первом запуске) и получение изображения;
- сохранение изображения (если требуется);
- проведение калибровки (при первом запуске);
- проведение измерений (ручных либо автоматических);
- сохранение и обработка результатов.

Далее эти стадии рассмотрены подробно.

Для автоматического анализа изображений предусмотрены два принципиально разных метода: анализ бинарного изображения и анализ изображения по оттенкам.

10.1 Проведение ручных измерений

Для проведения измерений необходимо включить режим «Ручные измерения» нажав соответствующую кнопку верхней панели инструментов окна изображения. Появится панель ручных измерений. Затем необходимо определиться с видом измерений.

Линейные измерения позволяют определять длину отрезков и проводятся «напрямую». Т. е. непосредственно после измерения в строке ввода «Размер» появляется длина отрезка.

Остальные измерения проводятся по контуру. Сначала намечается контур измерения и, затем, при нажатии на кнопку «Периметр» или «Площадь» проводится расчет периметра или площади и полученное значение отображается в строке ввода «Размер».

При нажатии на кнопку «Принять», значение добавляется в окно данных.

При нажатии на кнопку «Дублировать» выделенный участок изображения дублируется в новое окно (Рисунок 25).

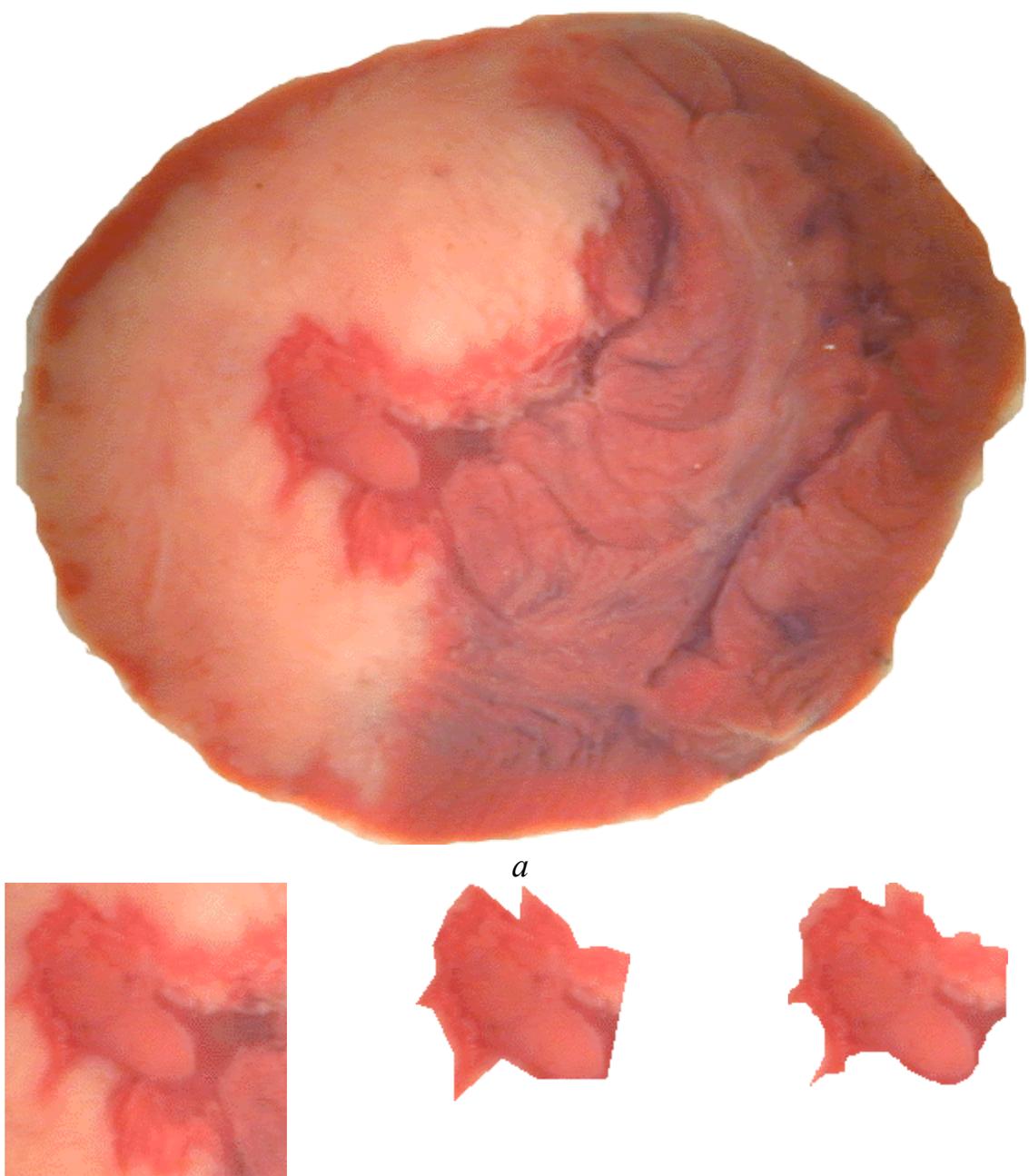


Рисунок 25 — Результаты выделения участков изображения и дублирования: *а* — исходное изображение; *б* — выделение прямоугольником; *в* — выделение отрезками; *г* — непрерывное выделение

10.2 Анализ бинарного изображения

В программе предлагается два варианта автоматического анализа изображения:

- анализ бинарного изображения;
- анализ изображения по оттенкам.

Анализ бинарного изображения рекомендуется применять для определения размеров частиц порошков, распределения пор по размерам и др. изображений с ровным фоном и хорошей контрастностью.

Для использования этой функции рекомендуется следующая последовательность операций (Рисунок 26):

- преобразование в черно-белое изображение (бинарное);
- медианная фильтрация изображения;
- обработка краев изображения (удаление объектов не попавших целиком в поле зрения);
- анализ бинарного изображения.

Для выполнения операции преобразования изображения в черно-белое, необходимо подобрать порог яркости, такой, чтобы на полученной кадре были видны частицы черного цвета, а фон— отсутствовал.

Для выполнения операции медианной фильтрации, необходимо подобрать размер окна фильтрации, такой, чтобы удалить с изображения мелкую грязь.

После операции распознавания изображения производится статистическая обработка полученных данных о размерах объектов.

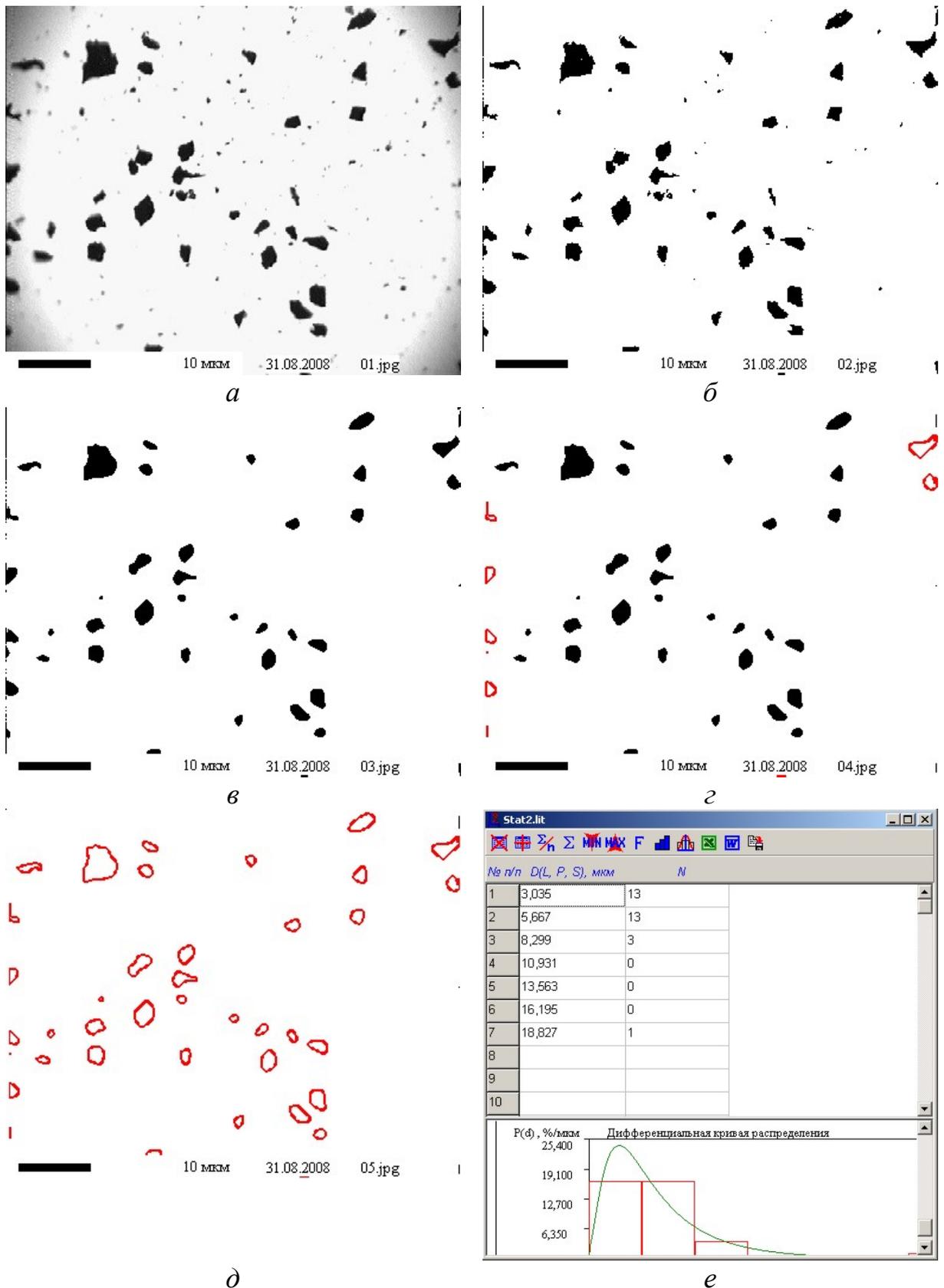


Рисунок 26— Анализ бинарного изображения порошка в проходящем свете: *a*— исходное; *б*— после преобразования в черно-белое (яркость 30%); *в*— после медианной фильтрации (окно 5X5); *г*— после обработки краев; *д*— после анализа; *е*— окно данных с результатами обработки и расчета

10.3 Анализ изображения по оттенкам

Анализ изображения по оттенкам рекомендуется применять для медицинских объектов (Рисунок 28, Рисунок 29), фазовых структур и др.

Возможно применение этого вида анализа и для порошков (Рисунок 27).

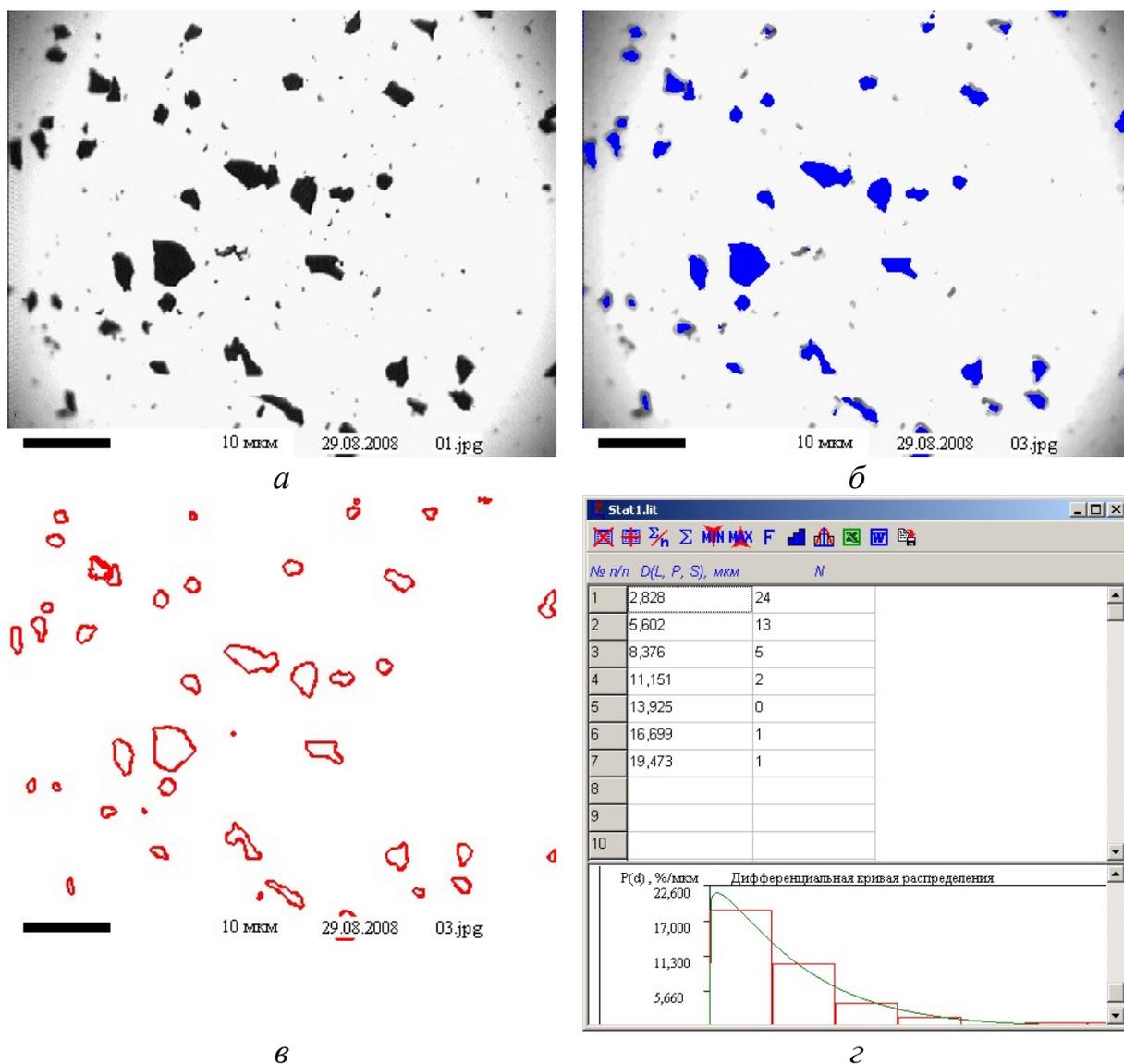


Рисунок 27— Анализ по оттенкам изображения порошка в проходящем свете: *a*— исходное; *б*— после выделения по оттенкам (градиент 30) и медианной фильтрации (окно 5X5); *в*— обработанное; *г*— окно данных с результатами обработки и расчета

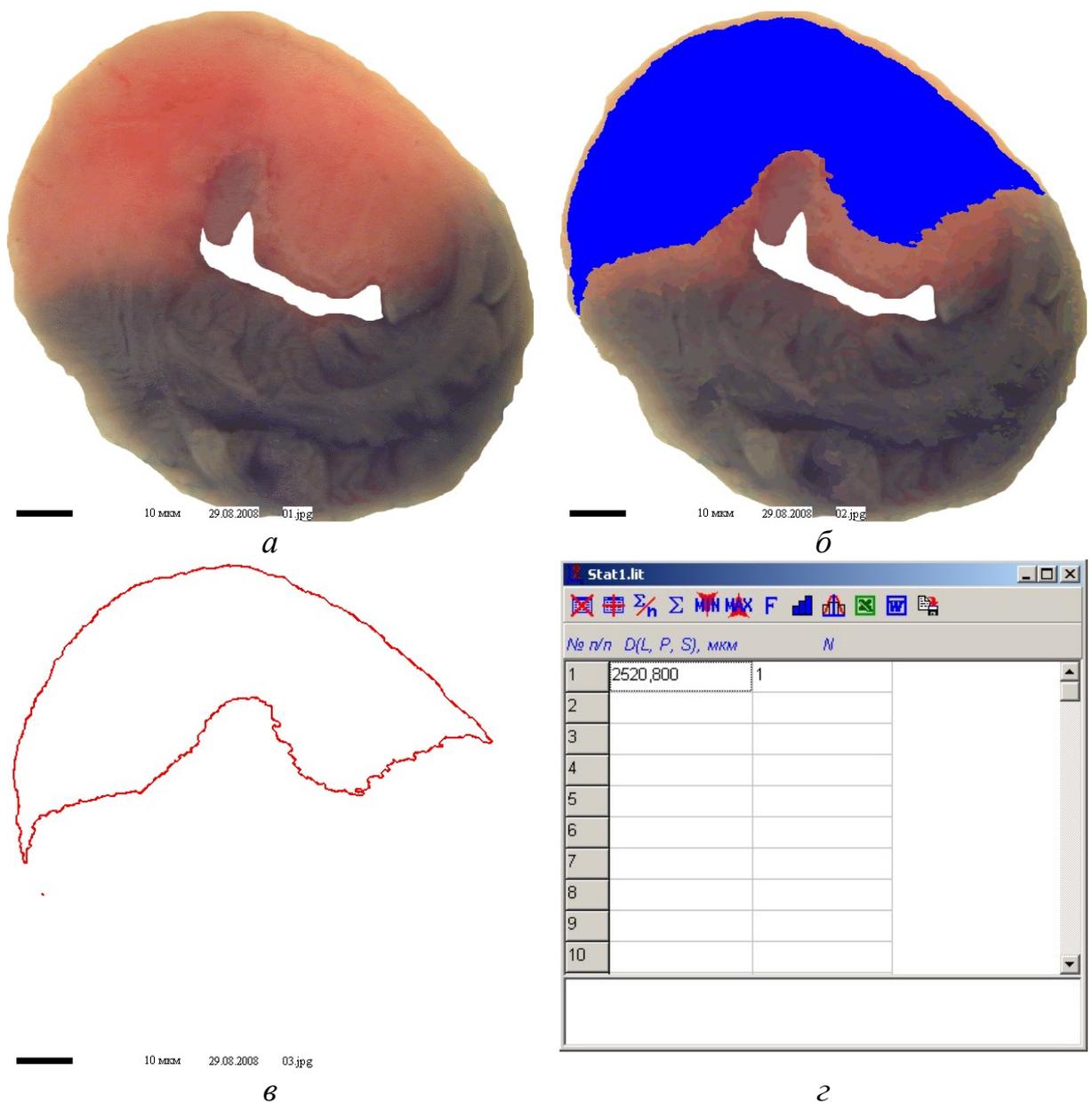


Рисунок 28— Анализ по оттенкам изображения среза сердца крысы со следами некроза: *a*— исходное; *б*— после выделения по оттенкам (градиент 30) и медианной фильтрации (окно 3X3); *в*— обработанное; *г*— окно данных с результатами обработки и расчета

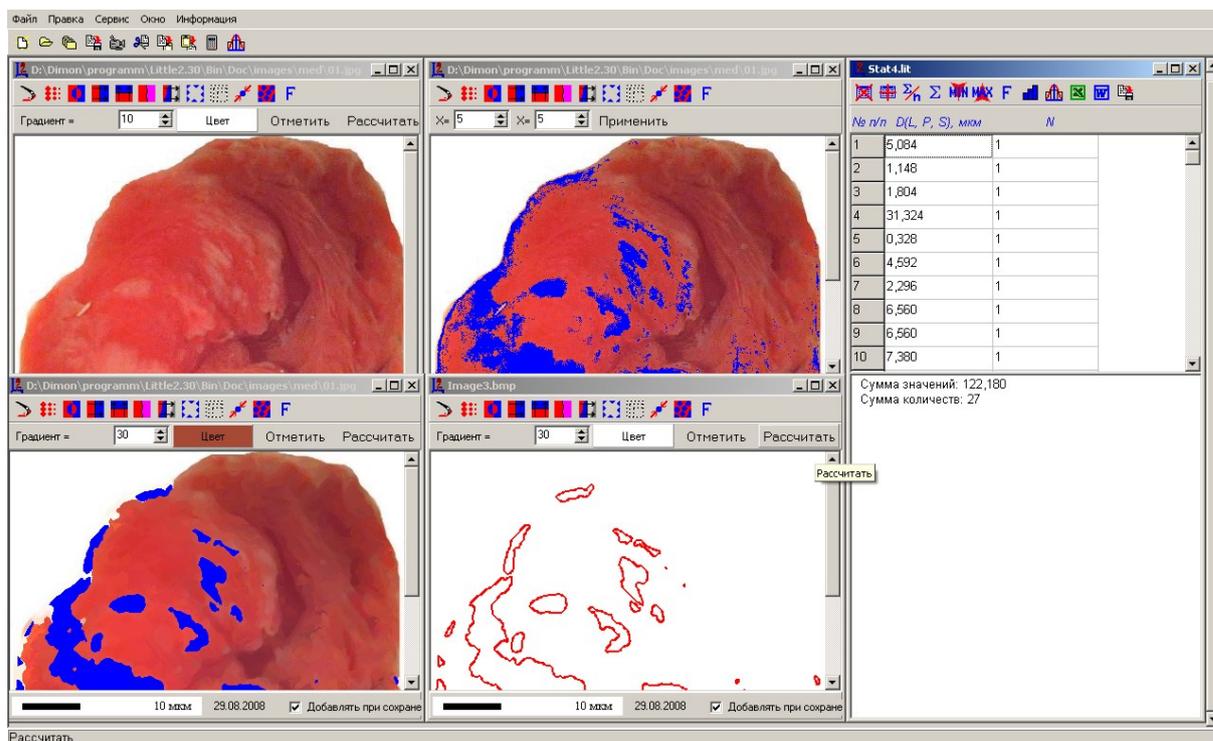


Рисунок 29— Вид программы с анализом по оттенкам изображения (градиент 20, медианная фильтрация окном 5X5) среза сердца крысы со следами некроза

Для использования этой функции рекомендуется следующая последовательность операций:

- нажать кнопку «Анализ изображения по оттенкам» для отображения соответствующей панели инструментов;
- на панели инструментов анализа по оттенкам установить градиент (3—40);
- выбрать основной оттенок для выделения области, используя манипулятор «мышь» (при этом индикатор «Цвет» окрасится в выбранный оттенок);
- нажать кнопку «Оттенок» (при этом на изображении будут отмечены области соответствующие основному выбранному оттенку с учетом градиента);
- если требуется, провести медианную фильтрацию изображения;
- снова выбрать панель инструментов «Анализ изображения по оттенкам» и нажать кнопку «Рассчитать».

Для выполнения операции медианной фильтрации, необходимо подобрать размер окна фильтрации, такой, чтобы удалить с изображения мелкую грязь.

После операции распознавания изображения производится статистическая обработка полученных данных о размерах объектов.

10.4 Определение краевого угла смачивания капли

Определение краевого угла смачивания (Рисунок 30) является весьма важной задачей материаловедения, определяющей такие свойства поверхностей материалов как смачиваемость, адгезия, увлажняемость и др. Поэтому в программе и реализована данная функция.

Определение краевого угла смачивания реализовано как функция пользователя.

Для определения краевого угла смачивания предлагается следующая последовательность действий:

- преобразование изображения в черно-белое;
- медианная фильтрация изображения (если требуется);
- корректировка изображения при помощи встроенного редактора (если требуется);
- установка в параметрах программы функции пользователя «Угол смачивания»;
- выполнение функции пользователя.

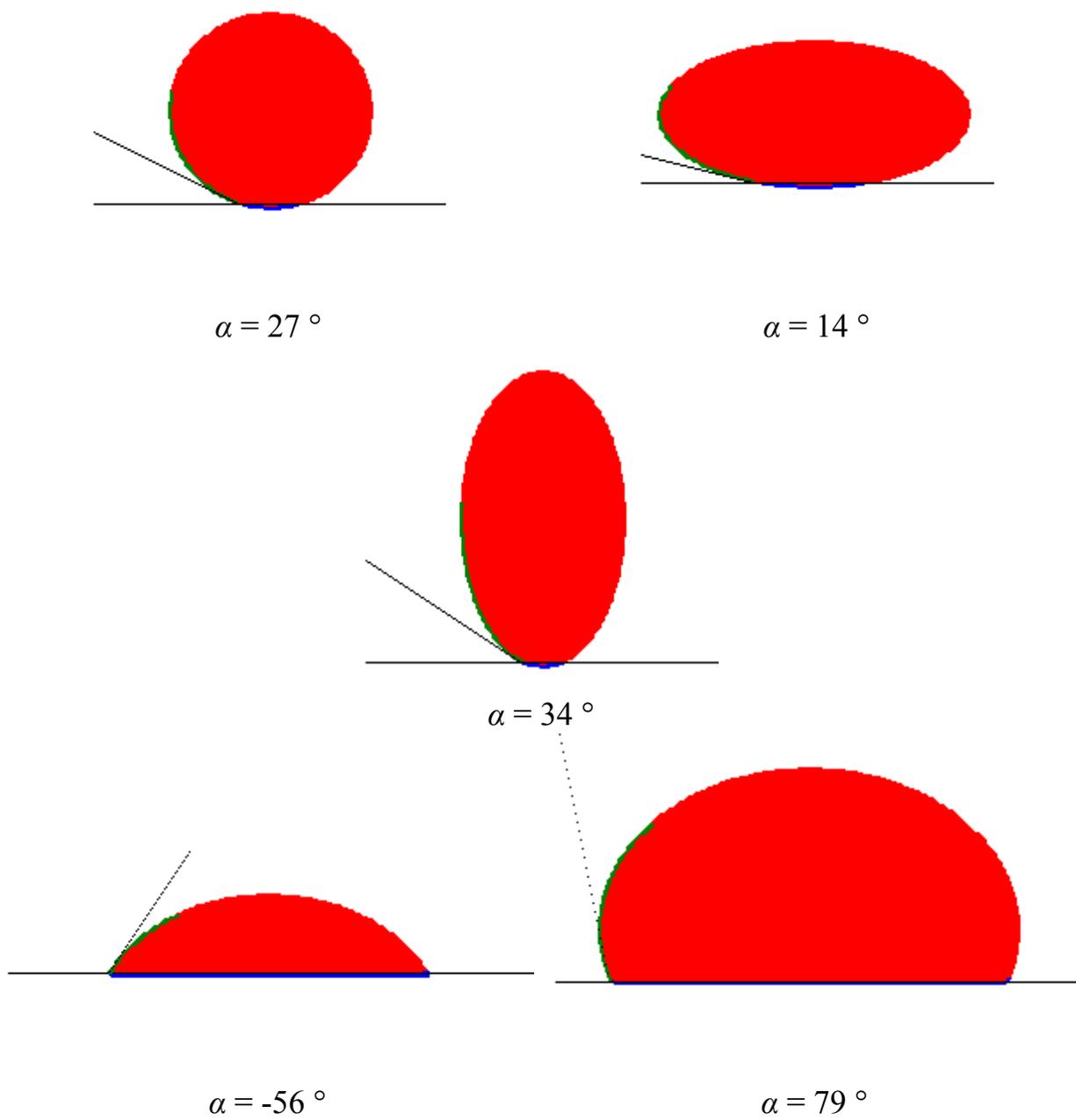


Рисунок 30— Пример измерения краевого угла смачивания

11 СОХРАНЕНИЕ И ОБРАБОТКА РЕЗУЛЬТАТОВ

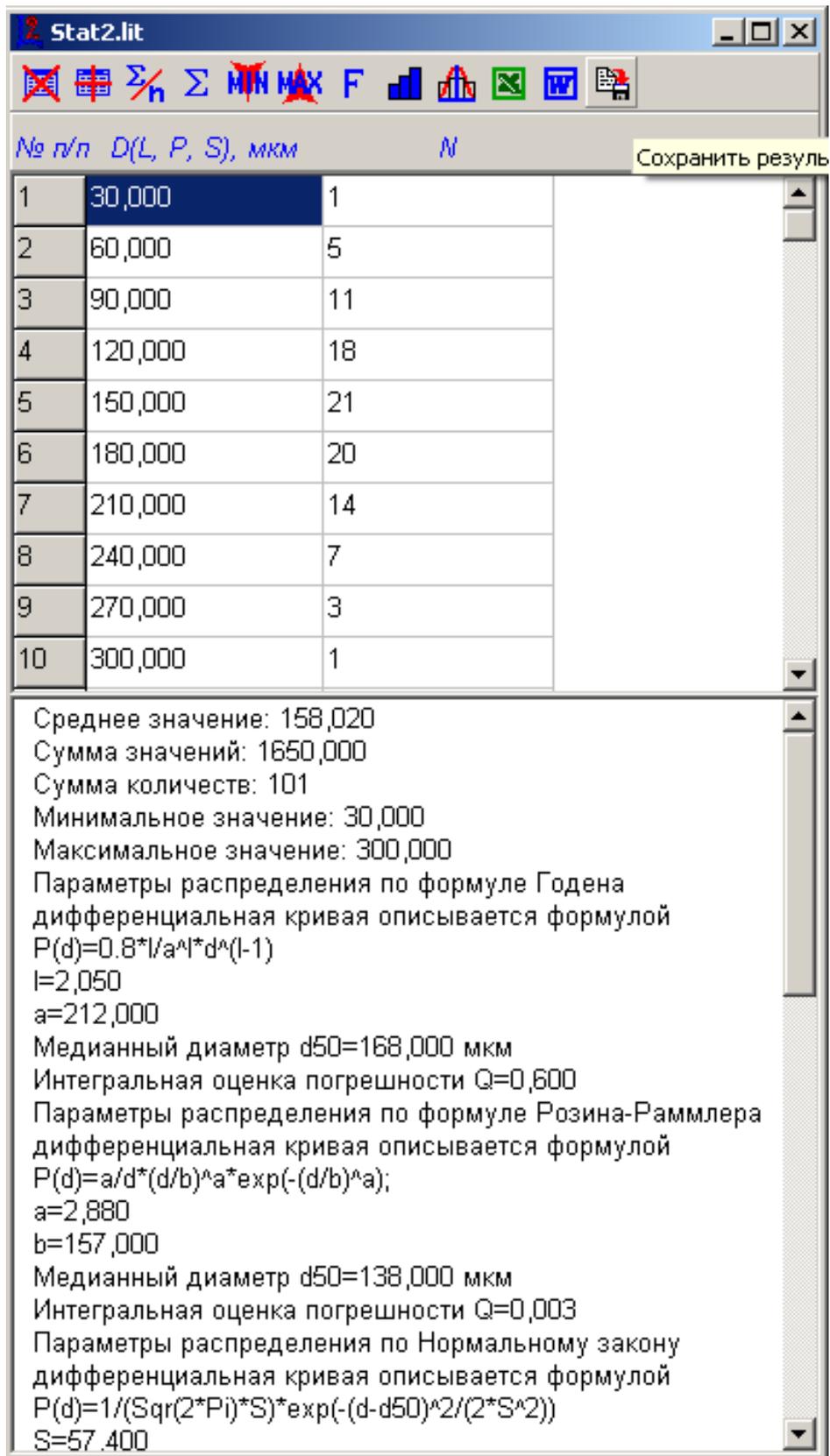


Рисунок 31 — Вид окна данных с результатами расчетов

Обработку результатов можно проводить либо используя кнопки панели инструментов окна данных (Рисунок 31), либо при помощи других программ (Excel, Statistica).

Кнопки панели инструментов окна данных описаны ранее.

Для обработки данных в других программах, необходимо их сохранить в текстовом виде (Рисунок 32). Для этого необходимо воспользоваться командой «Сохранить» меню «Файл» и в окне сохранения помимо каталога и имени файла нужно указать тип файла— Text files (*.txt).

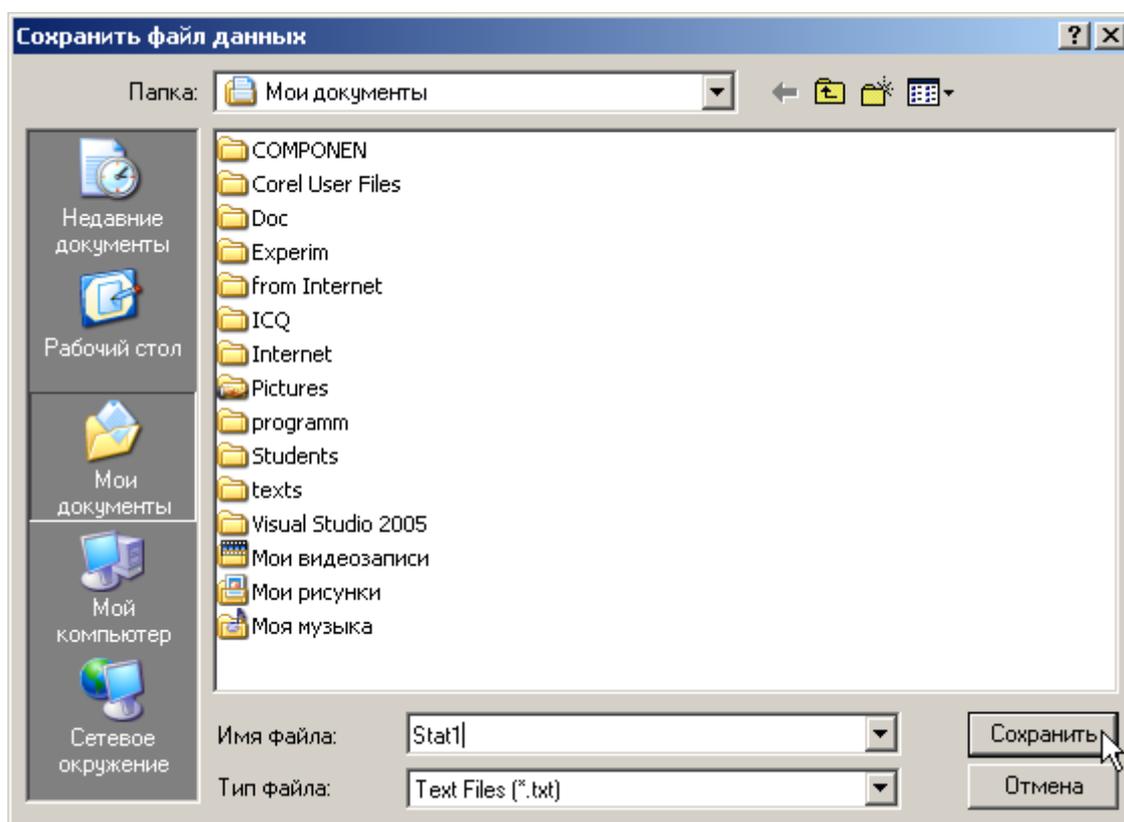


Рисунок 32 — Вид окна сохранения данных

