

Imaging and Microscopy Center Biomedical Core Facility

The Ruth & Bruce Rappaport Faculty of Medicine Technion-Israel Institute of Technology הפקולטה לרפואה ע"ש רות וברוך רפפורט הטכניון - מכון טכנולוגי לישראל

<u> Mage Pro – Plus אנליזת תמונות היסטולוגיות בעזרת תוכנת</u>

- פתח את הקובץ בעזרת תוכנת Pannoramic Viewer.
- בחר הגדלה ואזור בתמונה בו תבוצע אנליזה. לחץ על צלמית 📾 . בחלון שנפתח סמן Show scale bar לחץ Show scale bar פ

ובחר בסוג פורמט השמירה (רצוי TIF).

- אם ברצונך לבצע אנליזות על תמונות נוספות, אנא שמור על אותה הגדלה לפני שמירת הקובץ בפורמט החדש. לשם השוואת ממדים בין התמונות השונות.
 - 🔹 פתח את תוכנת Image pro plus , פתח את הקובץ ע"י File>Open או ע"י גרירת הקובץ אל התוכנה.
 - <u>כיול התמונה:</u>

•

1. בסרגל הכלים הראשי בחר



- . Next > בחלון שנפתח בחר ב Calibrate the active image ואח"כ ב 2.
- .3. 🛛 בחר את שם הקליברציה ואת היחידות, סמן Create a reference calibration 🗹 ואח"כ בחר ב- 🛛 3.
- 4. לחץ על Draw Reference Line . הזז את קו המדידה שנוצר אל ה scale bar בתמונה וקבע את גבולות הקו על פיו.

. בחלון שנפתח רשום את מידת האורך כפי שמצוין ב- scale bar בחלון שנפתח רשום את מידת האורך כפי שמצוין ב

Scaling	×				
Position line over length reference.					
Reference represents how many units?					
1000	▲ ▼				
OK	Cancel				

www.medicinelab.org.il **Tel.** 972 4-8295347/61 | **Fax.** 972 4-8295363 | **Email:** ediths@tx.technion.ac.il 1 Efron St., Bat-Galim, P.O.B 9649 Haifa 31096, Israel | 31096 ח.ד. 9649 אונד. 9649



Imaging and Microscopy Center Biomedical Core Facility

The Ruth & Bruce Rappaport Faculty of Medicine Technion-Israel Institute of Technology הפקולטה לרפואה ע"ש רות וברוך רפפורט הטכניון - מכון טכנולוגי לישראל

- 5. לסיום אשף הכיול לחץ על
- 6. להכלת הכיול על תמונות נוספות יש לבחור בתפריט Measure> Calibration>Select Spatial . בחלון שנפתח יש

לבחור את שם הקליברציה שיצרנו ולאשר את הבחירה.

Active Spatial Calibration		×
R calvaria e56	62-A	•
🔲 List reference	ce calibrations on	ly
OK	Marker	Cancel

- בדיקת הכיול:
- 1. בסרגל הכלים הראשי בחר



- 2. בחלון שנפתח, לחץ על 🛏 וצייר קו מדידה על ה-scale bar בתמונה.
- .3. תוצאת המדידה תופיע על הקו שצויר וכך תוכל לדעת האם הכיול מתאים.

<u>יצירת AOI (במידה ומעוניינים לספור אובייקטים רק באזור נבחר):</u>

- 1. בסרגל הכלים, בחר את האופציה הנוחה לך לציור ה-AOI: 🔗 🕙 🔘 🔣 🛗
 - 2. צייר את ה-AOI הרצוי (לחיצה על קליק ימני סוגרת את הצורה).
 - .3. כעת, הסגמנטציה וחישוב התוצאות יעשו אך ורק בתוך ה-AOI.



Imaging and Microscopy Center Biomedical Core Facility

The Ruth & Bruce Rappaport Faculty of Medicine Technion-Israel Institute of Technology הפקולטה לרפואה ע"ש רות וברוך רפפורט הטכניון - מכון טכנולוגי לישראל

:Segmentation •

1. בסרגל הכלים הראשי בחר measure>count/size



- 2. בחלון שנפתח בחר Select Colors ...
- בחלון ה- Segmentation בחר את צבע ה- class ע"י לחיצה על צלמית הצבע.
- 4. לבחירת הצבעים בחר 💌 🕺 מספר הפיקסלים שנדגום בעת בחירת הצבע.
- 5. 👘 בחר בעזרת הדוגם 🌌 את הצבע שברצונך לדגום, במקרה של טעות בדגימה ניתן לחזור שלב אחורה ע"י
 - . 🗙 לחיצה על 🔛 ובמידה ורוצים לבטל את כל הסגמנטציה ניתן ללחוץ על.
 - במידה ויש לעשות סגמנטציה לצבע נוסף ניתן לבחור ב- <u>New</u> ולחזור על השלבים הקודמים.
 - Close בסיום בחירת הסגמנטציה יש ללחוץ
 - .9 לבחירת ממדים לחישוב יש לבחור בחלון measure> select measurements count/size.
- 10. בחלון שנפתח ניתן לבחור מדדים לחישוב כגון אורך, שטח, רוחב וכו'. ניתן להגדיר את טווח המדד ע"י לחיצה על המדד בחלון Filter Range והגדרת גבולותיו.

	Start: End:	390.6250	
		Edit Range	
	10	🔙 לאישור יש ללחוץ	
ולסמן את הפרמטרים הרצויים. <mark>Options</mark>	לחוץ על	בחלון count/size יש לי	.11

www.medicinelab.org.il **Tel.** 972 4-8295347/61 | **Fax.** 972 4-8295363 | **Email:** ediths@tx.technion.ac.il 1 Efron St., Bat-Galim, P.O.B 9649 Haifa 31096, Israel | 31096 ח.ד. 9649 בת-גלים, חיפה



Imaging and Microscopy Center Biomedical Core Facility

הפקולטה לרפואה ע"ש רות וברוך רפפורט הטכניון - מכון טכנולוגי לישראל

The Ruth & Bruce Rappaport Faculty of Medicine Technion-Israel Institute of Technology

- .1 Display Option → Choose Color צבע לסימון האובייקטים שיספרו.
- Display Option → Outline Style כיצד האובייקטים שיספרו יסומנו בתמונה.
- . ניתן לקבוע אם ואיזו תווית תוצג ליד אובייקטים שיספרו. Display Option ightarrow Label Style
 - .2 Display Option → Label Color .2
 - :Object Option תחת .3

- קובע את מידת ההפרדה בין אובייקטים שיספרו 4-Connect או 4-Connect

4-Connect קובע כי אובייקטים החולקים פינה משותפת של פיקסל יספרו כשני אובייקטים נפרדים.

. קובע כי אובייקטים אשר מחוברים בכל דרך שהיא יספרו כאובייקט אחד 8-Connect

- 4. Smoothing קובע את רמת ההחלקה של צורת האובייקט.
- .5 Fill Holes קובע כי אובייקטים עם חור/אובייקט אחר באמצע יספרו כאובייקט אחד.
 - Clean Borders קובע כי אובייקטים הנוגעים בגבולות התמונה לא יספרו.



.Count לחץ .12

Imaging and Microscopy Center Biomedical Core Facility

The Ruth & Bruce Rappaport Faculty of Medicine Technion-Israel Institute of Technology

בחלק התחתון של חלון Count/Size ניתן לראות את ה-Total Count – כמה .13

A אובייקטים זוהו ומתוכם כמה זוהו על פי התחום אותו הגדרנו In Range (במידה וסומנה אופציה ב- Option →Clean

.(Measure→Select Measurement→Filter Ranges או אם הוגדר פילטר ב-Borders



Split Objects... Auto-Split Watershed Split Limited Watershed Split Draw/Merge Objects. Convert AOI(s) To Object(s)

Smooth Objects... Remove Holes Toggle Objects On/Off Delete Hidden (Off) Objects

Edit

:Edit בחלון Count/Size בתפריט



- פיצול אובייקט לשני אובייקטים:
- ש לצייר קו בין האובייקטים שאותם רוצים להפריד, סיום הציור יתבצע על ידי קליק ימני בעכבר Edit > Split Objects ולאחר מכן יש ללחוץ על OK (ניתן לצייר כמה קווים על אובייקטים שונים ואז ללחוץ על OK, הפיצול יתבצע על כמה אובייקטים במקביל).
 - ניתן להשתמש באפשרות watershed split לפיצול אוטומטי עפ"י פילטר זה.

_ 🗆 🗵 🔣 Count / Size File Edit View Measure Image Intensity Range Selection-Count All Classes Selected Manual: Select Colors . C Automatic Bright Objects **Options** O Automatic Dark Objects Measure Objects Total Count: 0 0 🧭 Apply Filter Ranges In Range: 🔽 Display Objects Accumulate Count





הפקולטה לרפואה ע״ש רות וברוך רפפורט

הטכניון - מכון טכנולוגי לישראל





Imaging and Microscopy Center Biomedical Core Facility

The Ruth & Bruce Rappaport Faculty of Medicine Technion-Israel Institute of Technology הפקולטה לרפואה ע"ש רות וברוך רפפורט הטכניון - מכון טכנולוגי לישראל

- <u>הוספת אובייקטים לספירה:</u>
- יש לצייר את האובייקט הרצוי, סיום הציור יתבצע על ידי קליק ימני בעכבר ולאחר מכן יש–Edit > Draw/Merge Objects

.OK ללחוץ על

(ניתן לצייר כמה אובייקטים שונים ואז ללחוץ על OK, האובייקטים יתווספו במקביל).

Draw / Merge Objects		
Draw the outline or select an A and click the right mouse butto	AOI on.	
Undo Last OK	Cancel	

- <u>מחיקת אובייקטים מהספירה:</u>
- Edit > Toggle Objects On/Off לחיצה על האובייקט תעלים אותו מהספירה. לסיום יש ללחוץ על Continue. למחיקה

סופית של האובייקטים: Edit >Delete Hidden (Off) Objects – תופיע הודעת אזהרה, לחיצה על Yes תגרום למחיקה סופית של האובייקטים.

Image-Pro Plus
Toggle objects on/off by left clicking on them. Hidden objects (Off) are not taken into account in any of the measurement tables.
Continue

** חשוב- לאחר ביצוע העריכה הידנית (הוספה, מחיקה ופיצול אובייקטים) אין ללחוץ על Count, לחיצה על * תתעלם מכל העריכה הידנית ותספור שוב את האובייקטים לפי הסגמנטציה הראשונית.



Imaging and Microscopy Center Biomedical Core Facility

The Ruth & Bruce Rappaport Faculty of Medicine Technion-Israel Institute of Technology

הפקולטה לרפואה ע"ש רות וברוך רפפורט הטכניון - מכון טכנולוגי לישראל

ייצוא הנתונים לאקסל:

בחלוו Count/Size בחר



<u>חישוב שטח ה-AOI (במידה ודגמת בתוך ה-AOI):</u>

- **חשוב- קודם כל יש לשמור את תוצאות הסגמנטציה מכיוון שהפעולה הבאה תמחק את הנתונים הקיימים.
 - 1. בחלון Count/Size בחר



2. Total Count ו-In Range משתנים ומכילים את הערך 1 (מכיוון שכעת ה- AOI הוא האובייקט היחידי שמזוהה



.3. ייצא את הנתונים לאקסל ושטח ה-AOI יתקבל.