

1 Presentación

ANSIS viene de la siglas de *Analysis of cells Images using Segmentation methods for automatic control*. Es un software desarrollado en *Python* mediante la librería *PySimpleGUI* para el análisis de imágenes y toma de decisiones de forma automática durante un experimento biológico.

1. El núcleo de este programa lo componen 2 algoritmos diseñados para identificar automáticamente las regiones dentro de una imagen donde se encuentran las células. Estos algoritmos han sido identificados como: Original y Gema.
2. Está desarrollado para ejecutarse sobre Windows o Linux.
3. Está programado para controlar una bomba.
4. En la Fig. 1 se muestra la interfaz del software.

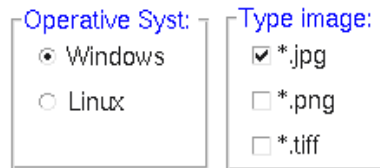


Fig. 1: Interfaz gráfica ANSIS.

2 Parámetros de ingreso

A continuación se detalla cada una de las secciones del programa, que constan de los parámetros de ingreso para el control del sistema.

2.1 Sistema e imágenes

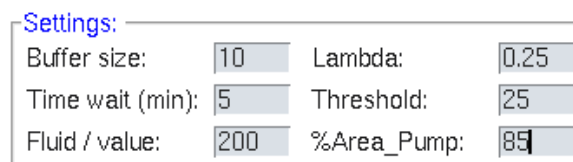


The screenshot shows two adjacent configuration panels. The left panel, titled 'Operative Syst:', contains two radio button options: 'Windows' (which is selected) and 'Linux'. The right panel, titled 'Type image:', contains three checkbox options: '*.jpg' (which is checked), '*.png', and '*.tiff'.

Fig. 2: Selección del sistema e imágenes

1. En la Fig. 2 se muestra la sección que permite seleccionar el sistema operativo del computador donde se ejecutará el programa. Esto debido a que los directorios están encriptados de forma distinta en cada uno de ellos. Por defecto, está señalado WINDOWS.
2. Los tipos de imágenes que puede leer el software son: JPG, PNG y TIFF. Igualmente por defecto está señalado el tipo JPG.
3. Estas dos secciones deben ser seleccionadas correctamente antes de ejecutar ANSIS. Y durante la ejecución no pueden ser cambiados, ya que, no tendrían ningún efecto o podrían ocasionar un error.

2.2 Ajustes o Settings



The screenshot shows a 'Settings:' window with four input fields arranged in a 2x2 grid. The fields and their values are: 'Buffer size:' with value '10', 'Lambda:' with value '0.25', 'Time wait (min):' with value '5', and 'Threshold:' with value '25'. Below these, there are two more fields: 'Fluid / value:' with value '200' and '%Area_Pump:' with value '85'.

Fig. 3: Parámetros para los algoritmos.

1. En la Fig. 3 se muestra la sección de ajuste de parámetros del software. Los valores presentados son los que están definidos por defecto. Pero pueden ser cambiados de acuerdo al caso.
2. **Buffer size:** se refiere a la cantidad de imágenes que se va a analizar previo a la toma de decisión. En este caso el valor es de 10, lo cual, indica que el promedio del área de 10 imágenes permiten encender o no la bomba.

Esto se realiza con el fin de reducir el error por cuestión de cambios de luminosidad o algún factor externo durante la adquisición de las imágenes. Este parámetro *no se puede cambiar* una vez que empiece el análisis.

3. **Time wait:** durante un experimento real se va adquiriendo una imagen cada 5 minutos. Este parámetro indica justamente el tiempo que debe esperar el software para analizar una nueva imagen. Este parámetro *no se puede cambiar* una vez que empiece el análisis.
4. **Fluid value:** es el valor de fluido que inyectará la bomba una vez que se active. Este parámetro *si se puede cambiar* durante la ejecución del programa. Como valores recomendados serían: 200, 250 y 300 ul/min. **Ver sección 3.3** por actualización del software.
5. **Lambda:** es un parámetro para el algoritmo GEMA. Permite eliminar regiones internas dentro del área donde se encuentran las células. Este parámetro toma valores entre 0 y 1. Se recomienda no cambiar el valor de 0.25, salvo que los resultados obtenidos no sean tan precisos. *No se puede cambiar* el valor cuando el proceso haya empezado.
6. **Threshold:** es el valor de umbral para el algoritmo ORIGINAL. Se han realizado pruebas y hasta el momento el mejor valor es 25. Dependiendo de los resultados este parámetro podría ser cambiado antes que se inicie el análisis.
7. **% Area_Pump:** es el valor de corte considerado para que la bomba se active. Se puede tener 2 puntos críticos durante un experimento. Por ejemplo:
 1. Cuando el porcentaje del área de las células supera el 85 % (valor por defecto).
 2. Cuando el porcentaje del área de las células decae por debajo del 65 %

Este parámetro *si se puede cambiar* durante el análisis. **Ver sección 3.3** por actualización del software.

2.3 Métodos

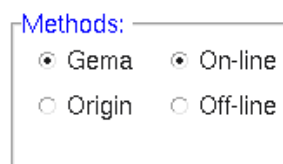


Fig. 4: Selección de métodos.

1. En la Fig. 4 se muestra la sección con los métodos que se usarán durante el análisis.
2. Se puede seleccionar entre GEMA (por defecto) y ORIGINAL.
3. ANSIS puede trabajar tanto de forma ON-LINE (por defecto) como OFF-LINE.

Online se refiere al análisis de imágenes y toma de decisiones durante un experimento. Este es el método para el cual está diseñado.

Offline permite analizar un directorio que contiene un set de imágenes previamente adquiridas. Esto es muy útil para la obtención de nuevos resultados o análisis de imágenes de experimentos anteriores.

4. Los métodos *no pueden ser* cambiados durante el análisis de imágenes.

2.4 Directorios

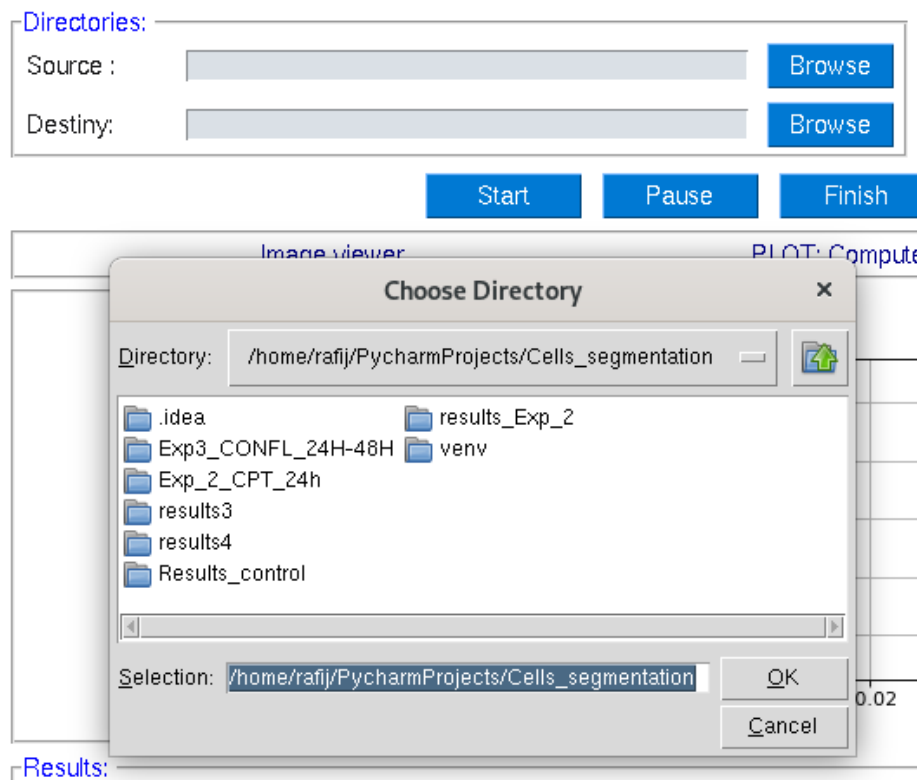


Fig. 5: Directorios origen y destino.

1. En la Fig. 5 se muestra la sección que permite identificar los directorios de origen y destino. Para ello se debe pulsar el botón BROWSE y se abrirá la ventana de diálogo que permite navegar dentro de los directorios del computador.

2. El directorio **ORIGEN** debe contener las imágenes a analizar. Si se ejecuta en modo ONLINE debe ser el directorio donde se almacenan las imágenes una vez adquiridas.
3. El directorio **DESTINO** será donde se guarden las imágenes resultantes y los archivos con toda la información obtenida durante el procesamiento.
4. Estos 2 parámetros debe ser ingresados sino el análisis no se ejecutará. La Fig. 6 muestra como se verá esta sección cuando se ha realizado la selección.

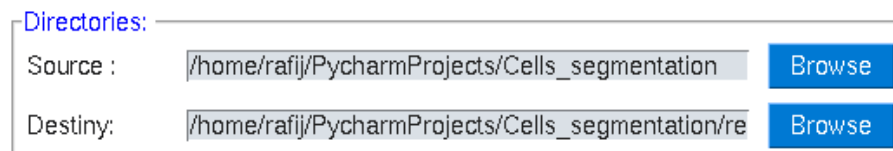


Fig. 6: Directorios origen y destino seleccionados.

5. Los directorios *no pueden ser* cambiados durante el análisis de imágenes.

2.5 Puerto serie

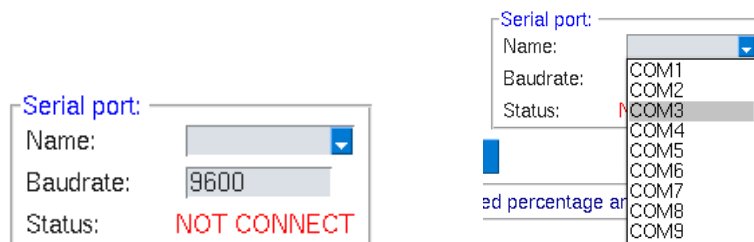


Fig. 7: Conexión con el puerto serie.

1. En la Fig. 7 se muestra la sección para la conexión al puerto serie que permite controlar la bomba. Es importante esta sección ya que si no existe CONEXIÓN, no se puede iniciar el análisis.

El texto en rojo indica que no se ha establecido ninguna conexión.

2. En WINDOWS se va a desplegar una lista con todos nombres del puerto serie disponibles. Se debe seleccionar el que haya identificado en el computador.
3. La Fig. 8 muestra la ventana que le indicará que el puerto ha sido seleccionado y verificado la conexión. Si todo es correcto el texto en rojo le indicará CONECTADO. Caso contrario le indicará ERROR y se debe seleccionar el puerto correcto.

4. Si el método a utilizar es OFFLINE no se requiere establecer una conexión al puerto serie.

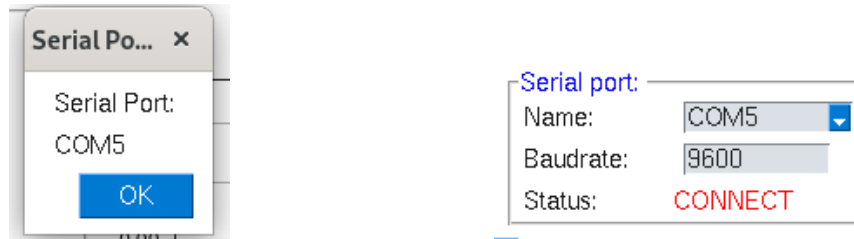


Fig. 8: Conexión con el puerto serie correcta.

5. El parámetro **BAUDRATE** se refiere a la velocidad de transmisión de los bits por segundo. En general, este valor es 9600. Sin embargo, este parámetro puede cambiar de acuerdo al hardware disponible.
6. El puerto serie y BAUDRATE *no pueden ser* cambiados durante el análisis de imágenes.

3 Ejecución de ANSIS

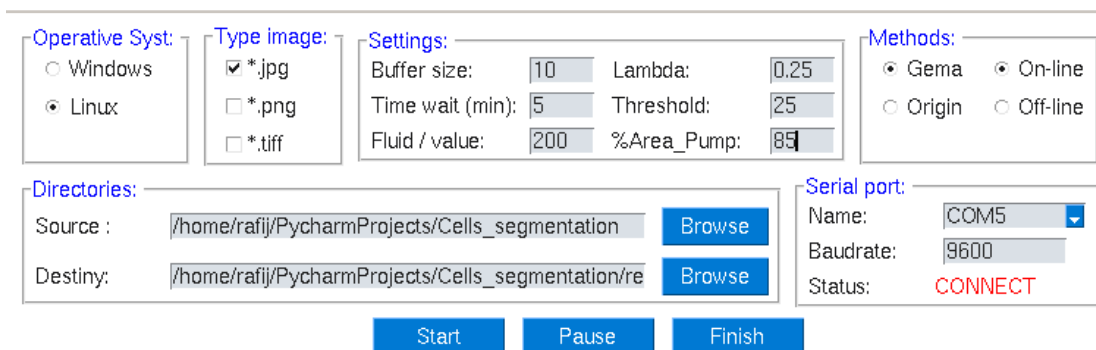


Fig. 9: Vista de ANSIS previo al inicio del procesamiento.

1. En la Fig. 9 se muestran todos los datos ingresados para el inicio del procesamiento. Para iniciar se debe pulsar el botón **START**.
2. Si por algún motivo se requiere pausar el análisis se lo puede hacer pulsando **PAUSE**.
3. Para terminar el procesamiento y guardar toda la información obtenida se debe pulsar **FINISH**.

Si solamente se cierra la interfaz y no se pulsa **FINISH** la información no se guardará.

3.1 Visualización

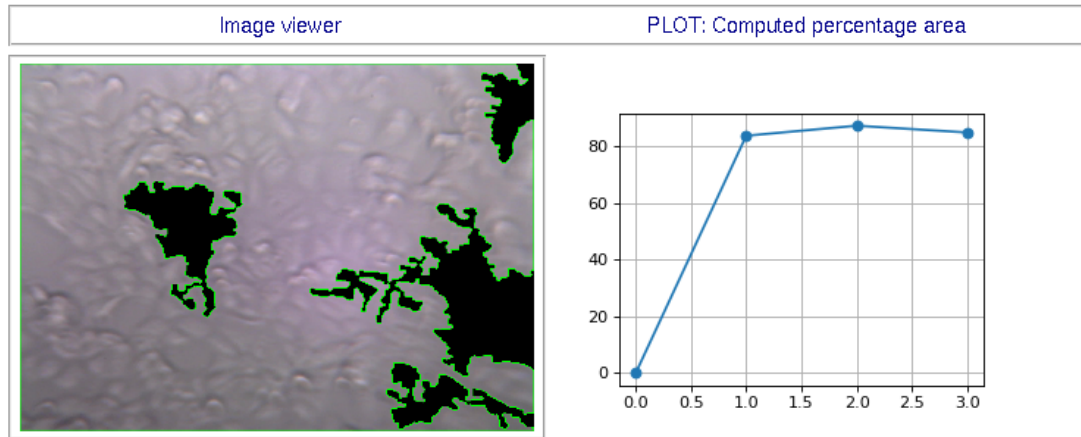


Fig. 10: Regiones obtenidas por GEMA u ORIGINAL y gráfica del porcentaje de área obtenido.

1. En la Fig. 10 se muestra los resultados que se va obteniendo durante la ejecución del programa.
2. **Image Viewer** permite ver la imagen con las regiones que contienen células identificadas por los algoritmos GEMA u ORIGINAL.
3. **PLOT: PERCENTAGE AREA** permite ver la evolución del porcentaje de área indentificado a lo largo del tiempo.

3.2 Resultados

Results:		
Current time:	13 : 12 : 56	Start time: 13 : 12 : 26
Experiment:	Exp_2_CPT_24h	Image: 20201112161757.jpg
Current image:	30	State PUMP: ON
Buffer image:	0	Fluid / value: 200 ul/min
		Finish time: -- : -- : --
		Mean area: 85.03 %
		Current area: 86.42 %
		Previous area: 83.23 %

Fig. 11: Presentación de valores resultantes por cada imagen analizada.

1. **Primera fila:** muestra la hora Actual, la hora que inició el análisis del experimento y posteriormente mostrará la hora de finalización del experimento.

2. **Segunda fila:** muestra nombre del directorio y el nombre de la imagen que se está analizando. Además muestra el valor medio del porcentaje de área obtenido de acuerdo al tamaño del buffer.
3. **Tercera fila:** muestra el número de imagen analizada. El estado de la bomba (ON / OFF) y el porcentaje de área calculado en la imagen actual.
4. **Cuarta fila:** muestra el número de imagen guardada en el buffer. Esto para tener una perspectiva de cuando el gráfico del área se actualizará. El valor del flujo que se inyectó a la bomba y finalmente el porcentaje de área calculado en la imagen previa. Esto último para tener una perspectiva de la variación del porcentaje.

3.3 Actualización del software

Con la finalidad de hacer que el control del experimento sea automático, se ha realizado una actualización a 2 de los parámetros de la sección *Settings* como lo muestra la Fig. 12.

Settings:

Buffer size:	10	Lambda:	0.85
Time wait (min):	5	Threshold:	25
Fluid_Max_Min:	250/200	%Areas_ON:	90/50

Fig. 12: Vista de ANSIS previo al inicio del procesamiento.

1. Los parámetros con cambios son **Fluid_MAX_MIN** y **%Areas_ON**
2. Los dos parámetros están configurados para recibir valores separados por el símbolo / , que permite diferenciarlos para los valores máximo y mínimo.
3. **Fluid_MAX_MIN:** permite ingresar el valor de flujo que inyectará la bomba cuando el experimento llegue a superar un valor de área especificada en **%Areas_ON**.
4. Los parámetros por defecto se interpretarían así:

Se inyectará 250ul/min cuando el porcentaje de área sea mayor al 90%.

Se inyectará 200ul/min cuando el porcentaje de área sea menor al 50%.
5. Estos parámetros se pueden modificar durante el experimento, respetando el formato de ingreso.

Punto importante: Una vez activada la bomba con el flujo respectivo, el sistema entra en una fase de recuperación. El sistema esperará que el porcentaje de área de las imágenes sea mayor o menor en un 10%, de acuerdo a si se activó en el valor máximo o mínimo, del valor ingresado en el parámetro %Areas_ON.

Una vez esto ocurra, el sistema vuelve a la fase de control, donde podrá volver a activar la bomba. El objetivo final es generar con los experimentos una curva similar a la mostrada en la Fig. 13.

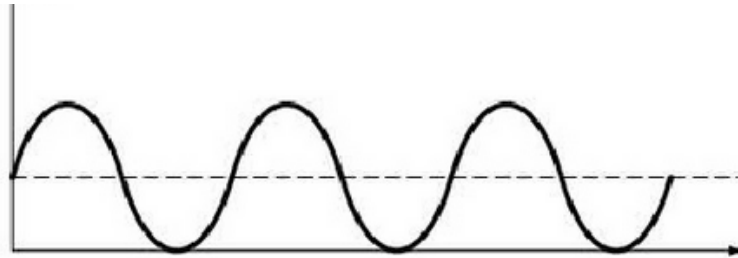


Fig. 13: Etapas de recuperación durante el desarrollo de un experimento celular.