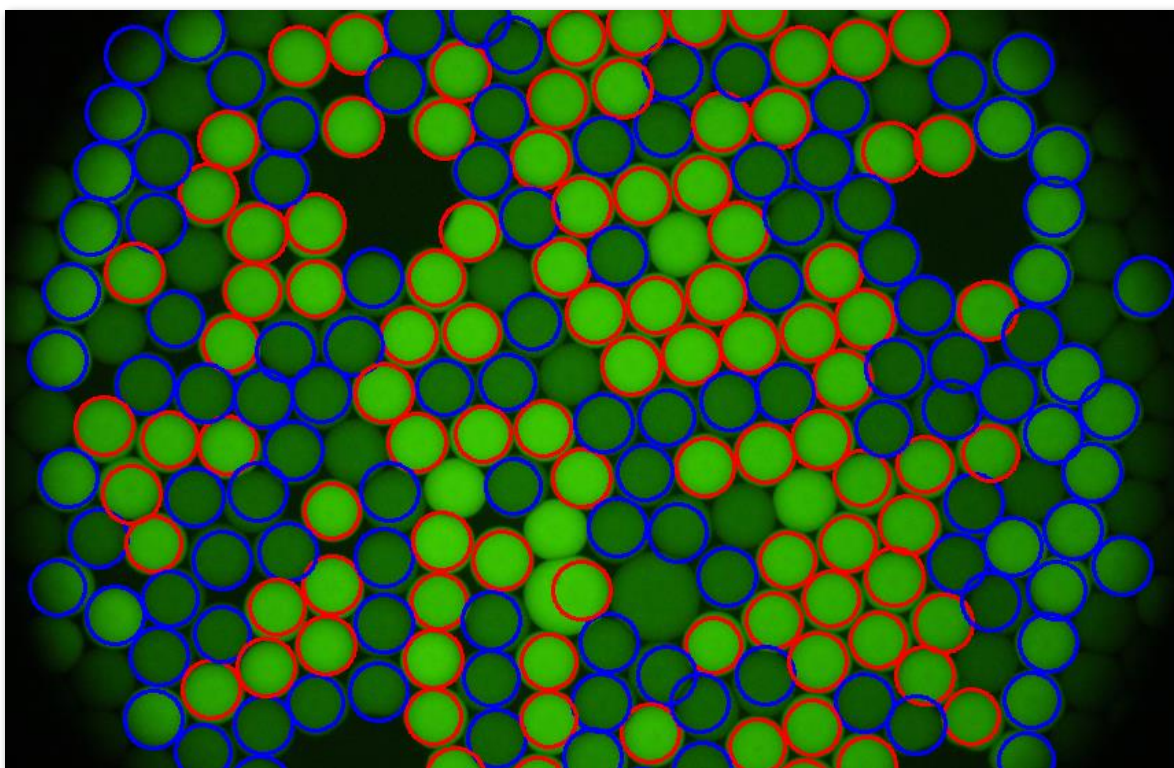

MANUAL DE USUARIO

Software para conteo de gotas y cuantificación de carga viral



CONTENIDO

Prefacio	2
Objetivos de la aplicación	2
Ventana principal	3
Introduciendo una imagen	3
Visualización de la imagen	5
Calibración para mejorar la detección	6
Botones y sliders para la mejora en la detección de gotas.....	8
Rotación de imagen.....	8
Sensibilidad y umbral	9
Muestra de gotas positivas y remoción de gotas.....	9
Cambiar radio de detección	10
Adición de gotas no registradas y guardado en archivo de Excel	11
Generación de gráficas.....	14
Comentarios y sugerencias	15
Créditos	16

Prefacio

El siguiente documento tiene como objetivo brindar las herramientas necesarias para la correcta utilización del software de conteo y cuantificación de carga viral de microgotas.

Se divide en 9 secciones donde podrá encontrar las principales funciones del software, posibles problemas que puedan surgir y su forma de solucionarlos, además de una sección de preguntas frecuentes y contacto de los desarrolladores.

Para su fácil localización de los elementos de la aplicación este manual se ha hecho de acuerdo con las secciones que podrá encontrar en la aplicación.

Objetivos de la aplicación

La aplicación tiene como objetivo facilitar el conteo de pruebas LAMP de microgotas con posible exposición al SARS-Cov 2 de forma visual y descriptiva, además de datos varios como el número total de gotas positivas o negativas y datos estadísticos descriptivos de cada imagen.

Además, podrá ajustar los distintos parámetros como la sensibilidad de detección de gotas, el radio mínimo y máximo de gotas que queremos que sean detectadas o agregar gotas manualmente que en un principio no hayan sido detectadas.

Como ultimo punto el programa tiene como objetivo facilitar la visualización de los datos presentados en gráficos estadísticos para determinar la concentración de carga viral de una muestra de acuerdo con los parámetros que hayan sido seleccionados por el usuario y posteriormente el correcto almacenamiento de los datos en un archivo Excel para un posterior análisis.

Ventana principal

Una vez que ejecutamos el .exe nos abre una ventana como la que se muestra a continuación.

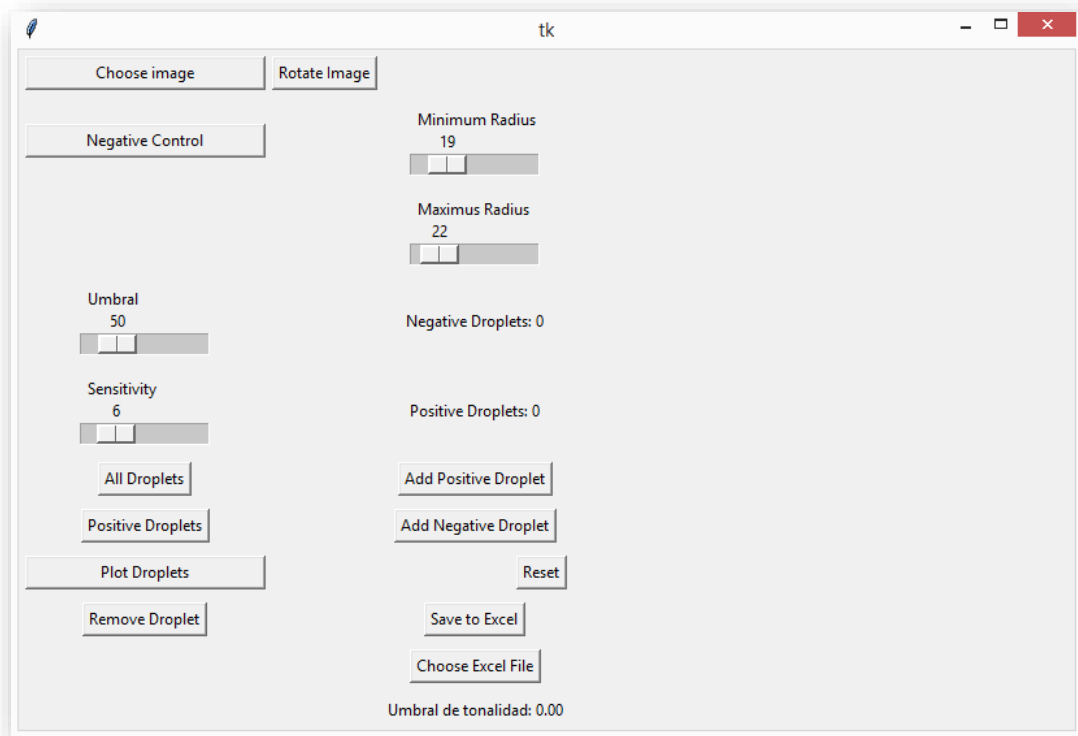


Figura 1. Ventana principal.

Si no se ha introducido una imagen anteriormente solo se mostrarán los botones y sliders de los distintos parámetros respectivos, en cualquier otro caso la imagen que usted vera será la de la sección visualización de la imagen.

Introduciendo una imagen

Una vez que se tengan las imágenes que se quieren analizar le daremos click en "choose image" y seleccionaremos nuestra imagen que queremos cargar para analizar.

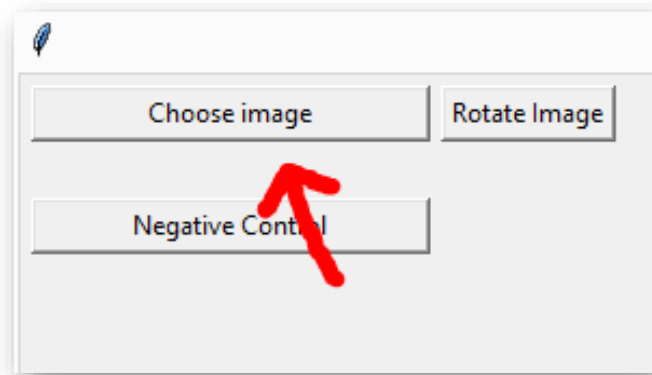


Figura 2. Botón para seleccionar una imagen.

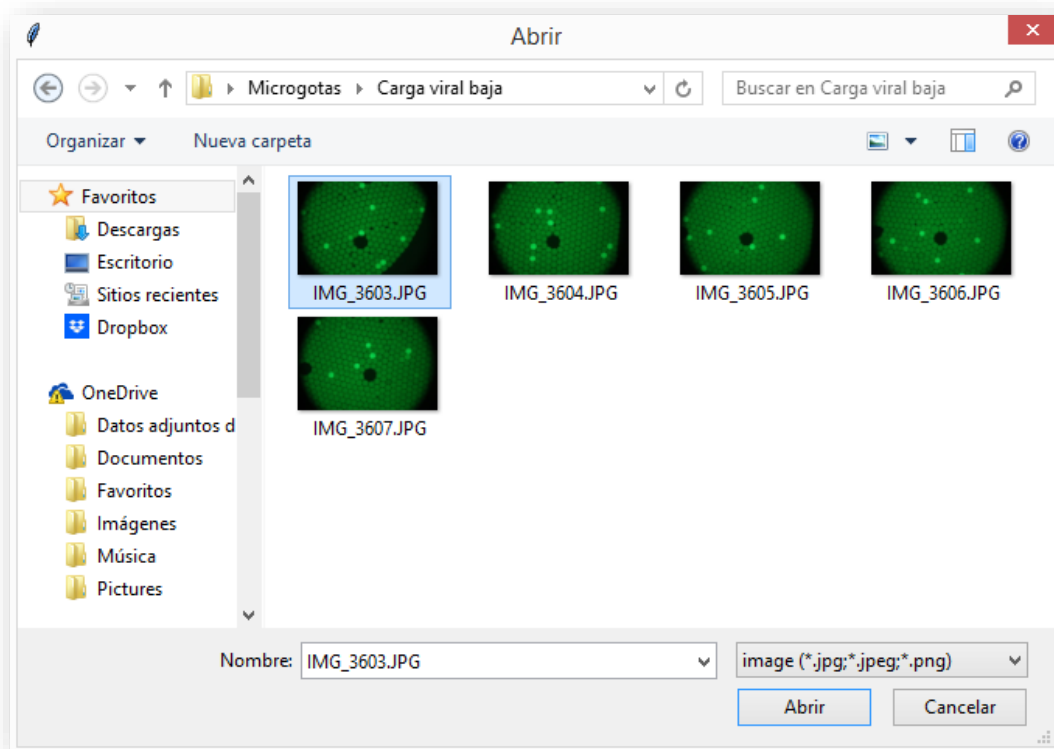


Figura 3. Seleccionando una imagen.

Visualización de la imagen

Una vez que se ha cargado la imagen se mostraran el conteo de las gotas positivas y negativas encerradas en círculos de distintos colores. En el centro vera la imagen procesada y con las gotas marcadas con dos colores diferentes y a un costado en un tamaño menor la imagen original que fue cargada.

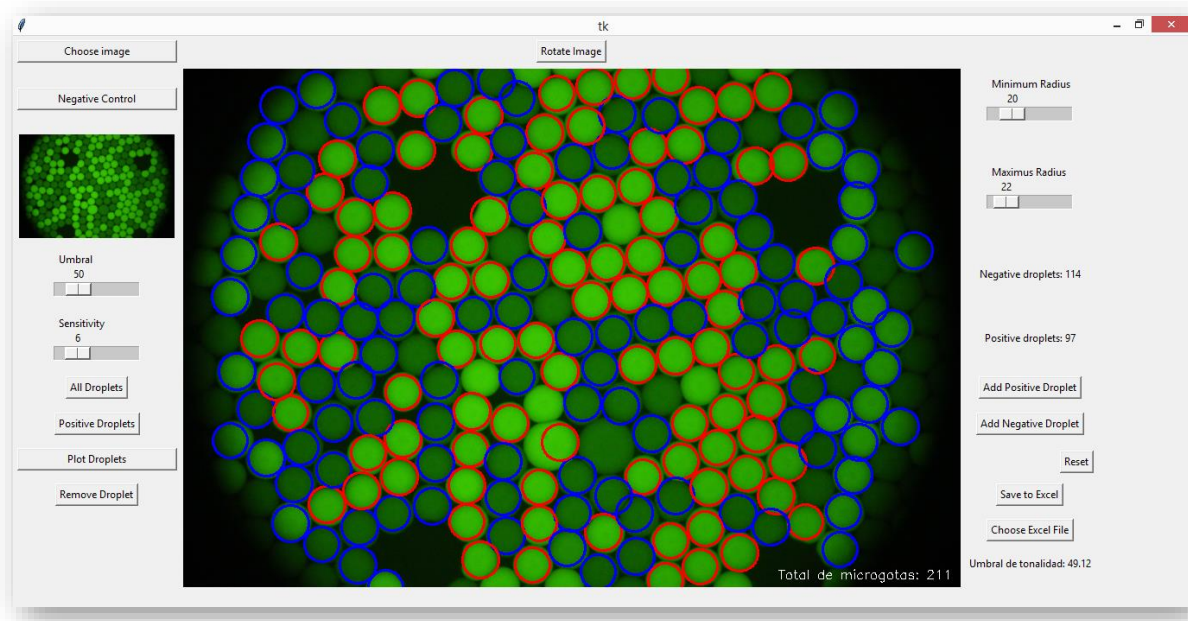


Figura 4. Conteo de gotas con valores por defecto. A la izquierda en un tamaño menor se encuentra la imagen original cargado y al centro la imagen procesada con el conteo de las microgotas.

Los valores que aparecen en el programa son valores por defecto, por lo cual si no se visualizan la mayoría de las gotas de forma automática lo que deberá hacer será ajustar los distintos parámetros como el umbral, la sensibilidad o el radio máximo o mínimo de las gotas que se quiere detectar hasta que el número de gotas se ajuste a sus criterios de selección de gotas. Sobre la realización de cada una de las acciones en específico, se describen en las secciones siguientes de este manual.

Calibración para mejorar la detección

Este programa usa dos métodos para calcular un umbral que nos permite separar las gotas positivas de las negativas. Si usted no introduce alguna imagen de control negativo el umbral se ajustará por cada imagen mediante un algoritmo de agrupación de elementos.

Se recomienda introducir una imagen de control que servirá para mejorar la detección de los valores más precisos de las gotas, siempre y cuando estas pertenezcan a un mismo conjunto de imágenes con su respectivo conjunto de control negativo.

Para introducir una imagen de control se deberá hacer click en "Negative control" y seleccionar una imagen de control negativo.

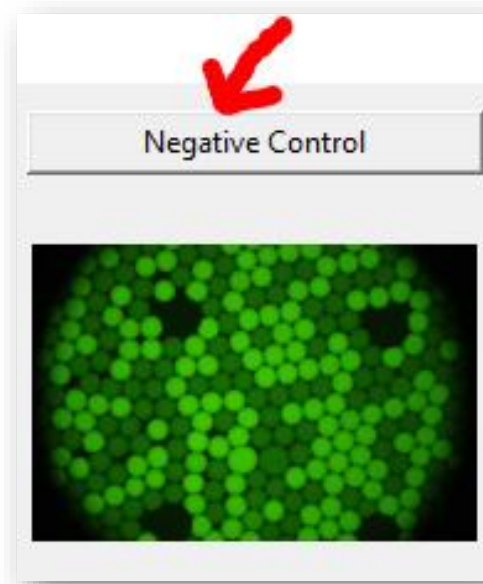


Figura 5. Carga de imagen de control negativo para una mejor detección de las microgotas en la imagen.

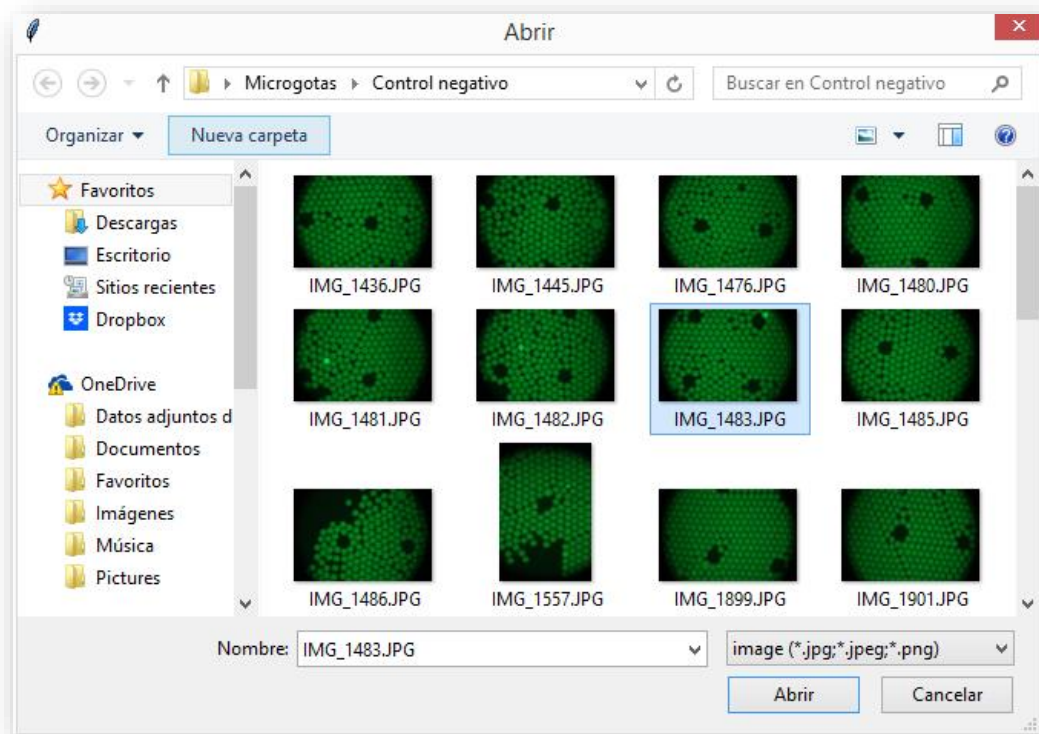


Figura 6. Selección de imagen de control negativo para mejorar la detección de un conjunto de imágenes.

Una vez introducida la imagen podrá visualizar un recuadro como el que se muestra en la figura 7 lo cual indica la correcta calibración del programa.

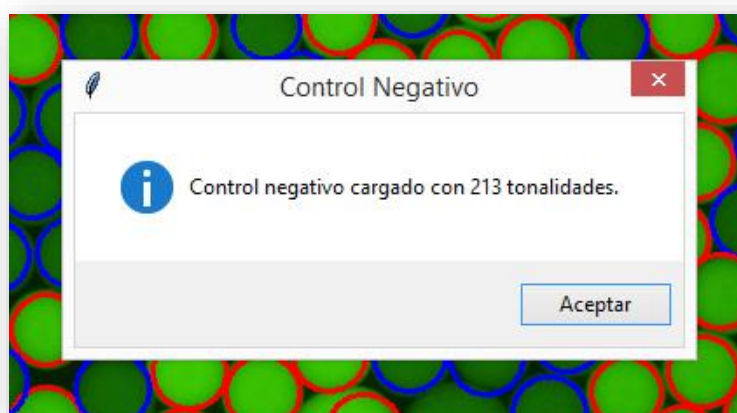


Figura 7. Carga correcta de imagen de control.

Botones y sliders para la mejora en la detección de gotas

Una vez cargada la imagen, se podrá visualizar las gotas positivas en color rojo y las gotas negativas en color azul como se muestra en la figura 9.

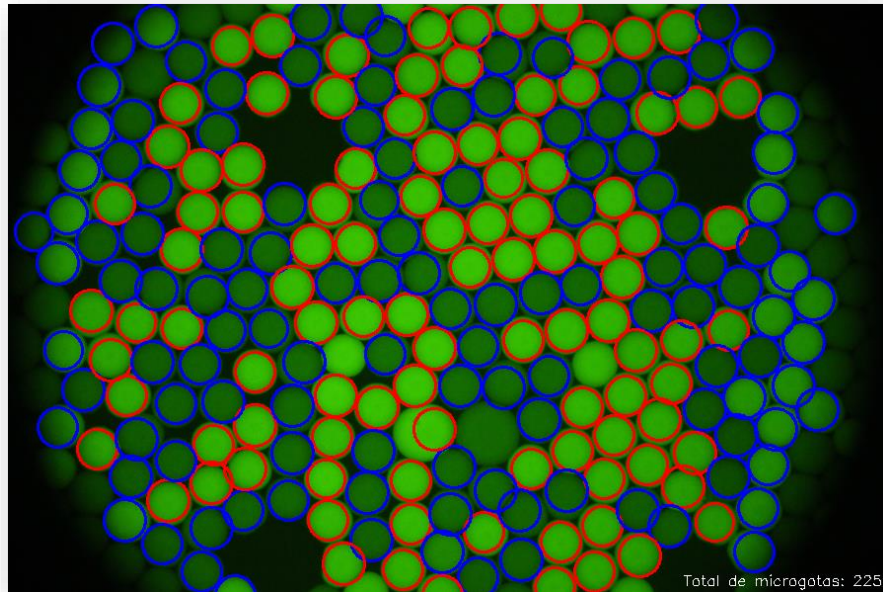


Figura 8. Visualización de gotas positivas (rojo), negativas (azul) y el número total de gotas (esquina inferior derecha).

Rotación de imagen

Si la imagen mostrada está en formato vertical, lo único que deberá hacer para tenerla en formato horizontal es hacer click en el botón "Rotate Image" como se muestra en la figura 9 para que pueda ser visualizada como se muestra en la figura 8.

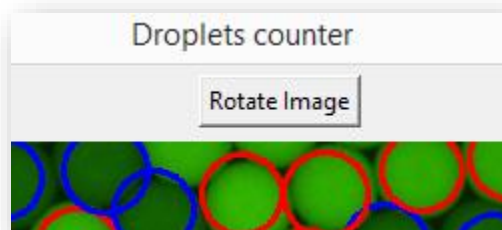


Figura 9. Botón para rotar imagen.

Sensibilidad y umbral

Si las gotas no son detectadas de manera adecuada uno de los parámetros que puede modificar es el de la sensibilidad (sensitivity) que permite detectar gotas de mejor manera. Usar este parámetro solo deberá ser considerado en caso de que la detección no se muestre adecuadamente.

Otro parámetro que puede modificar es el umbral que deberá ser usado en caso de que la detección no mejore mucho una vez que se haya modificado el valor de sensibilidad (sensitivity). La modificación de estos valores dependerá de sus criterios elegidos. Deberá tener en consideración que una sensibilidad muy alta detectará gotas falsas, mientras que una sensibilidad baja no detectará nada.

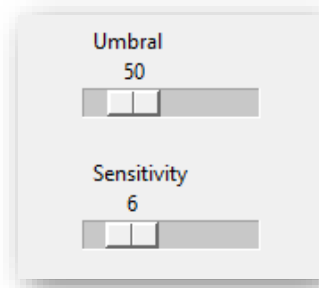


Figura 10. Lorem ipsum.

Muestra de gotas positivas y remoción de gotas

Por defecto el programa muestra las gotas positivas y negativas en conjunto, si se desea solo ver las gotas positivas deberá de dar click en "Positive Droplets" (botón 2 de la figura 11). En algunas imágenes es probable la aparición de gotas negativas que se siguen mostrando, si al cargar la imagen se encuentra en este caso, no la remueva, de otra forma al volver a la vista completa de gotas positivas y negativas ya no aparecerán y tendrá que agregarlas manualmente.

Si desea remover una gota que este mal posicionada deberá dar click en "Remove Droplet" y dar doble click en la gota que desea remover.

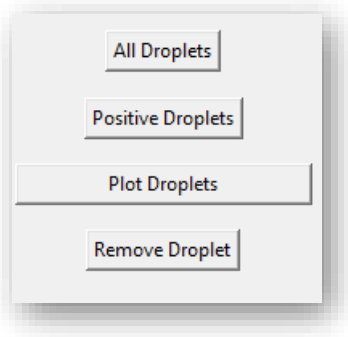


Figura 11. Botones para mostrar las gotas positivas solamente todas o ningunas.

Cambiar radio de detección

Para cambiar el radio de detección en caso de que las gotas sean ligeramente más grande o más pequeñas puedes seleccionar el slider para cada caso, hasta que la selección de las gotas se ajuste al tamaño de tu preferencia.

Además, debajo de estos slider podrá encontrar dos textos mostrando el número total de gotas registradas por el programa, así como el número total de gotas positivas registradas por el programa en color rojo.

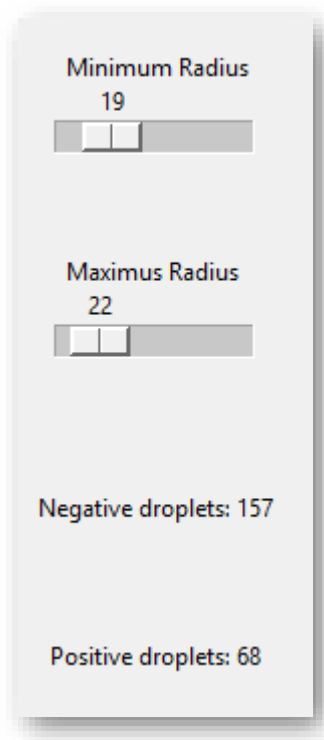


Figura 12. Sliders para cambiar radios de detección de gotas y etiquetas de conteo de gotas

Adición de gotas no registradas y guardado en archivo de Excel

En el caso de que en una imagen el conteo de gotas no sea preciso y a su consideración otras gotas deberían de entrar en el análisis, podrá seleccionarlas haciendo click en el botón de "Add positive droplet" o "Add negative droplet", para que se registren las gotas correspondientes. Deberá dar click derecho sobre la gota que desea seleccionar. Para quitar todas las gotas al cargar una nueva imagen, solo de click en reset.

Otra funcionalidad importante que podrá encontrar en este programa es el de guardar en un archivo de Excel que podrá crear desde cero nombrando su archivo con el nombre que prefiera o si ya existe un archivo previamente creado podrá añadir los resultados en él.

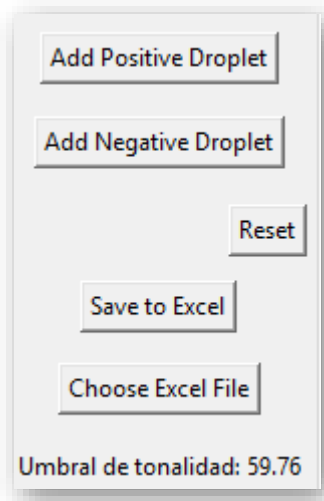


Figura 13. Botones para agregar manualmente gotas y salvar datos en Excel.

Además, podrá visualizar un estimado del umbral de tonalidad que es calculado respecto a la imagen de control como se muestra en la figura 14.

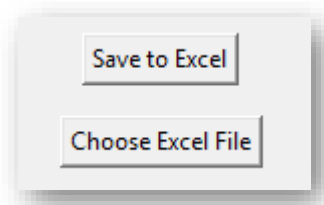


Figura 14. Botones para salvar en Excel.

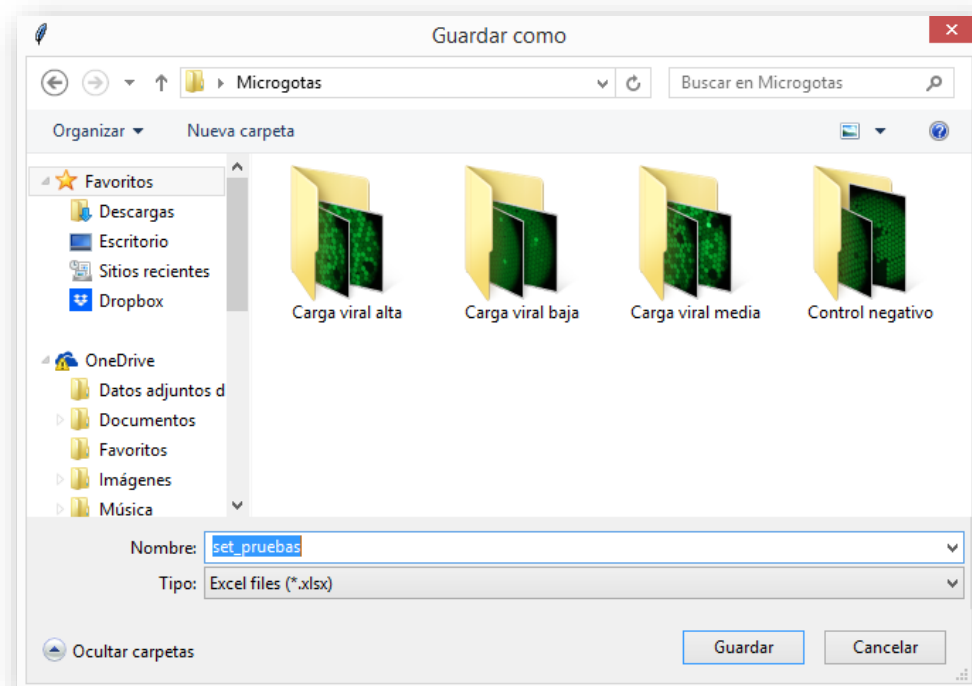


Figura 15. Creación de archivo de Excel.

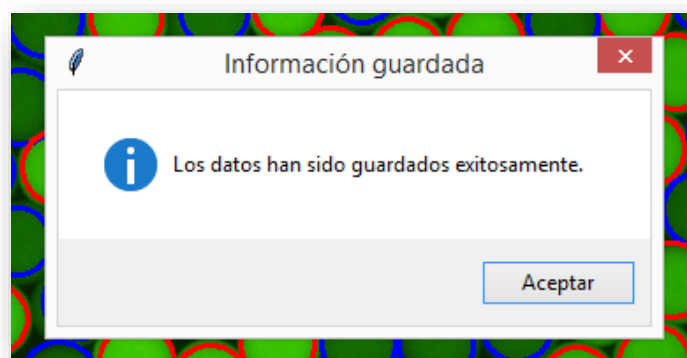


Figura 16. Mensaje de archivo creado exitosamente.

	A	B	C	D
1	Total de Gotitas	Gotitas Positivas	Gotitas Negativas	Umbral de Tonalidad
2	225	102	123	49.09966087
3				
4				
5				

Figura 17. Datos guardados en archivo de Excel.

Generación de gráficas

Con el botón "Plot Droplets" usted podrá visualizar 2 gráficas principales las cuales son un diagrama de dispersión que muestra la intensidad de la tonalidad por gota en un valor acotado de 0 a 255 con una separación de colores a partir del umbral calculado.

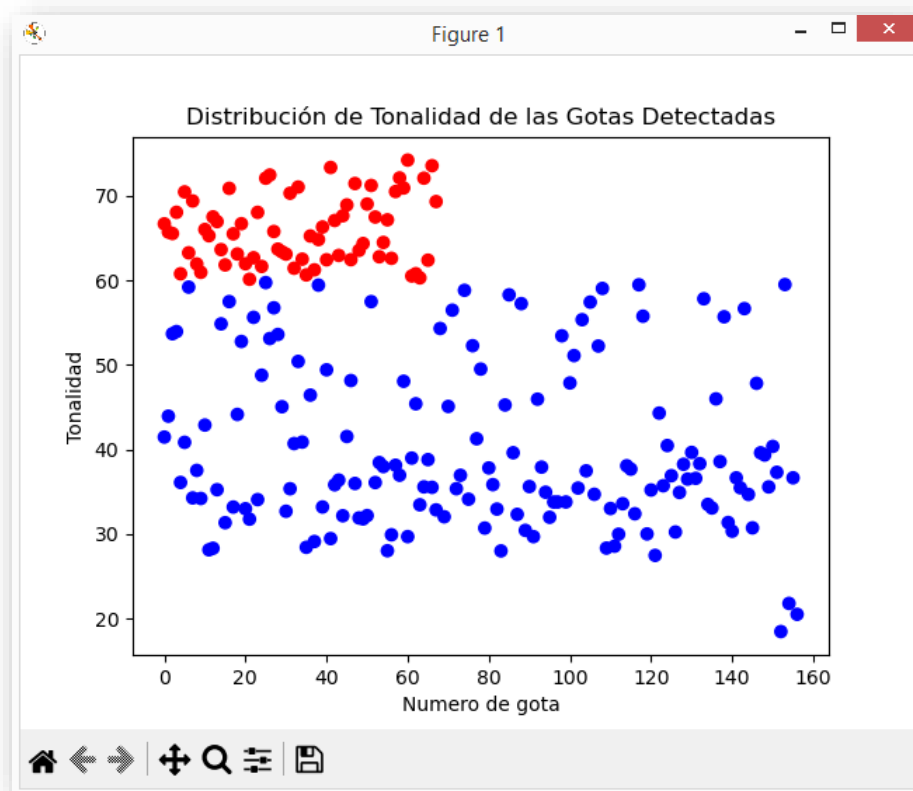


Figura 18. Grafica de dispersión de imagen.

Además, si usted cierra esta gráfica en seguida se mostrará un histograma con las diferentes tonalidades.

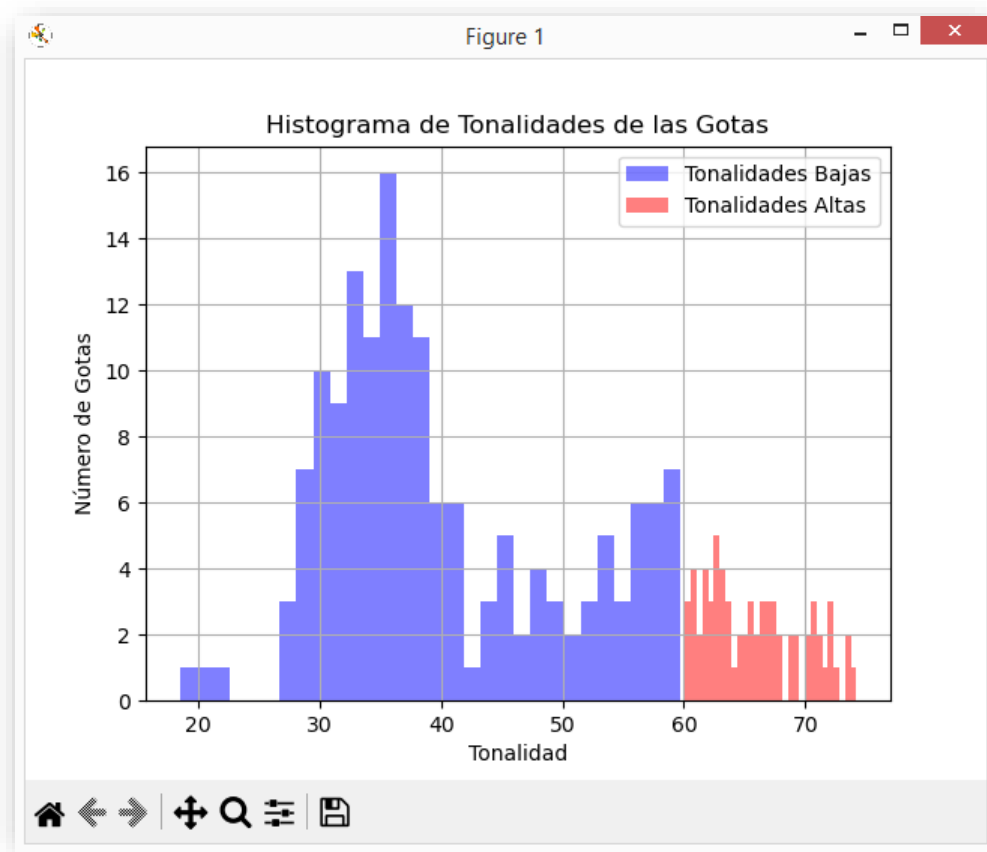


Figura 19. Histograma de tonalidades de la imagen.

Comentarios y sugerencias

Si durante la lectura de este manual surgen dudas respecto al uso de este programa o hay elementos que no resulten claros, así como algún comentario o reporte de errores puede escribir a los siguientes correos.

zuli_97@comunidad.unam.mx

Isai.sanchez@comunidad.unam.mx

Créditos

El programa usado y correspondiente manual fue desarrollado por Zuleima Hidalgo Jaime e Isai Sanchez Jiménez.