

# Web Application for Automatic Nucleus Counting Immunofluorescence Tissue Biopsies

เว็บแอปพลิเคชันสำหรับการตรวจนับนิวเคลียสจากภาพถ่ายเนื้อเยื่อจาก การย้อมด้วยสารเรืองแสง

---

## Final Presentation

---

# MEMBER



◆ Kanchayapond saejoong  
62070505201



◆ Nichapat Nobnorb  
62070505203



◆ Wayu Ragwongsiri  
62070505215

# ADVISOR



◆ Kharittha Jangsamsi



◆ Anyamanee Chaiprasongsuk



◆ Paniti Achararit

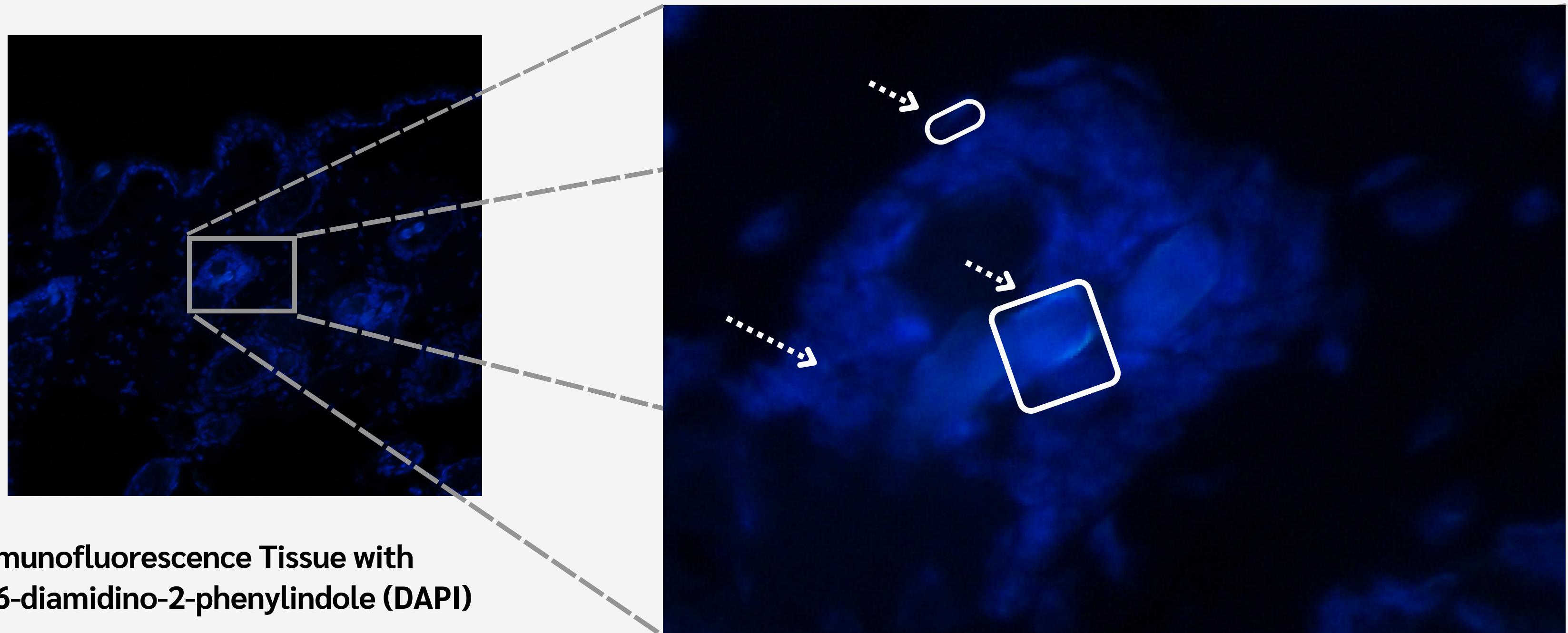
# CONTENTS

- 01 Intro
- 02 Project workflow
- 03 Data Preparation
- 04 Image Processing & Deep Learning
- 05 Evaluation
- 06 Web Application
- 07 Conclusion & Discussion

# 01

# Intro

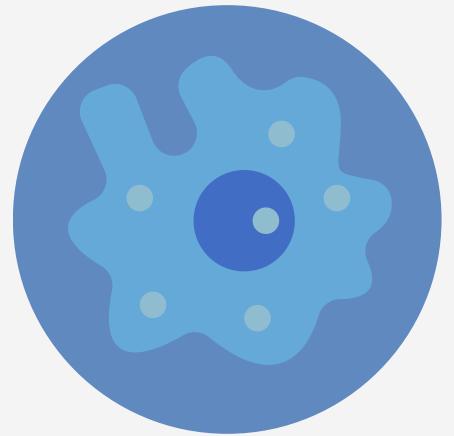
# Immunofluorescence Tissue



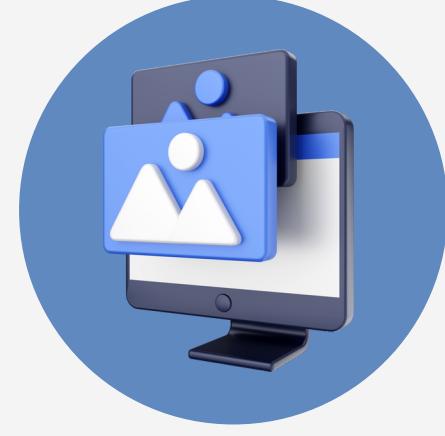
# Project Goal



# Problem



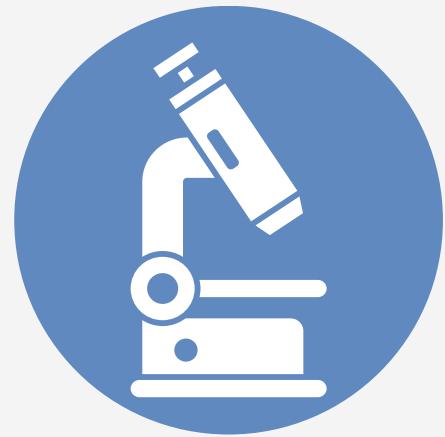
นิวเคลียสมีขอบเขตและรูปร่างที่ไม่แน่นอน



ความยากในการนำภาพถ่ายทางจุลพยาธิวิทยาไปใช้ในการพัฒนาโมเดลเพราภาพไม่ชัด

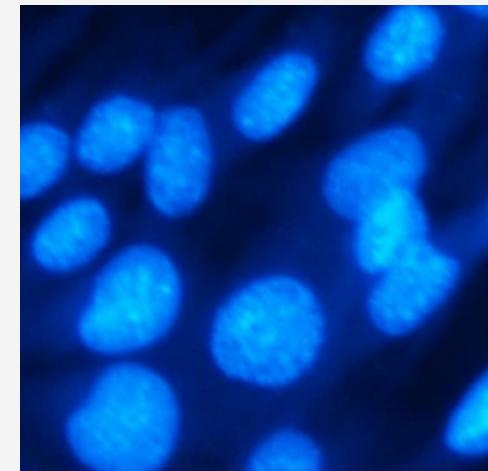


โปรแกรมที่มีในปัจจุบันไม่สามารถนับจำนวนเซลล์ได้  
ex โปรแกรม Columbus

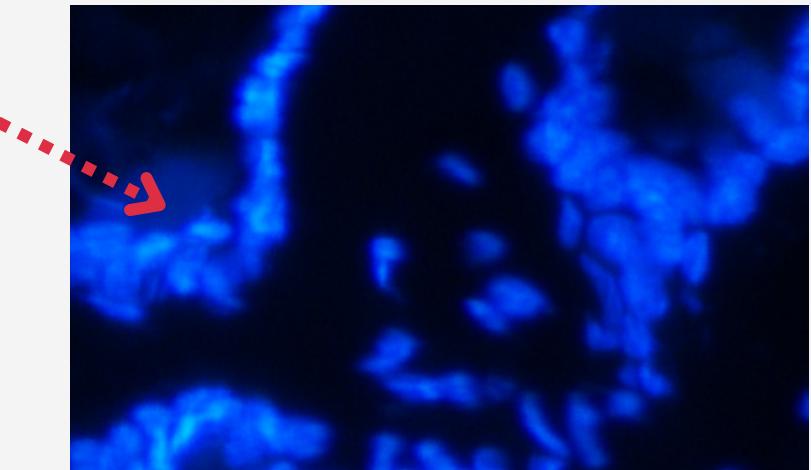
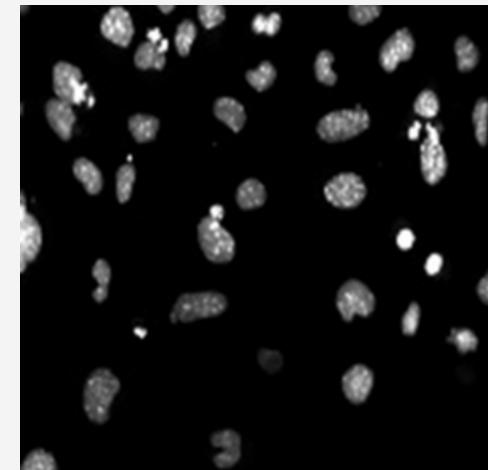
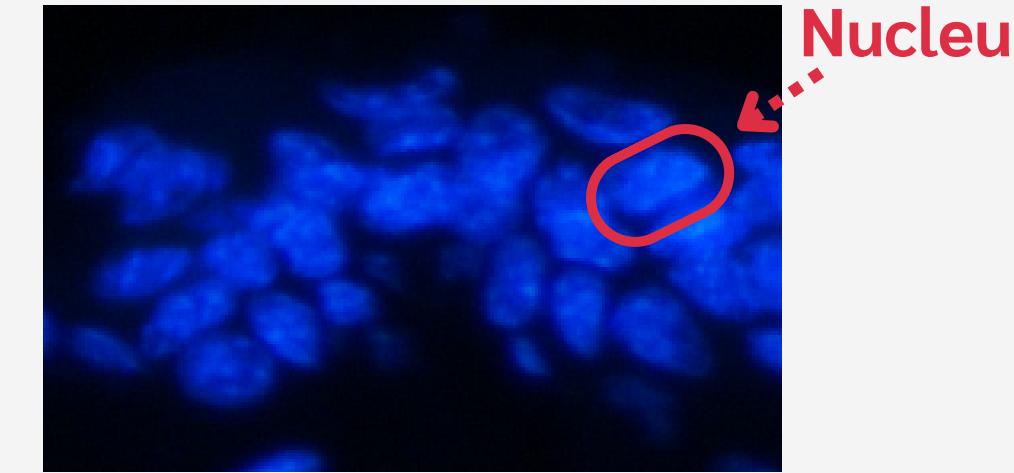


ต้องวินิจฉัยด้วยนักพยาธิวิทยาที่มีความชำนาญ

Example single cell



Example Immunofluorescence Tissue



# Scope & Objectives



เพื่อพัฒนาแบบจำลองสำหรับนับจำนวนนิวเคลียสจากภาพถ่ายเนื้อเยื่อจากการย้อมด้วยสารเรืองแสง

- โดยทำการพัฒนาแบบจำลอง Image Processing และ Deep Learning และเปรียบเทียบประสิทธิภาพของแบบจำลอง เพื่อหาแบบจำลองที่ดีที่สุด



เพื่อพัฒนาเว็บแอปพลิเคชัน ที่สามารถทำการนับจำนวนนิวเคลียสจากภาพถ่ายเนื้อเยื่อจากการย้อมด้วยสารเรืองแสง

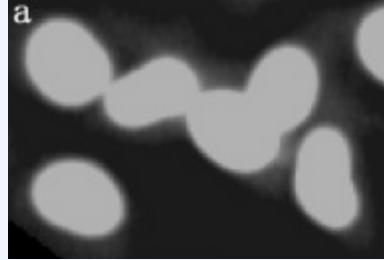
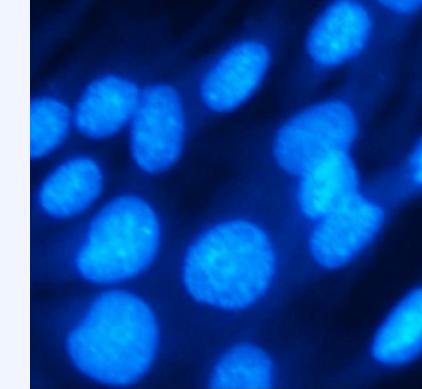
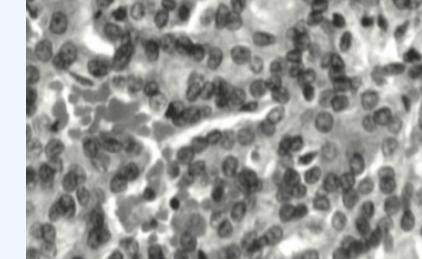
- แสดงผลจำนวนนิวเคลียสและตารางข้อมูลต่างๆ เช่น รัศมี พื้นที่



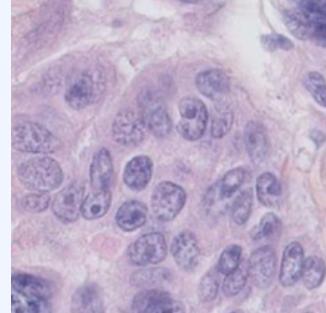
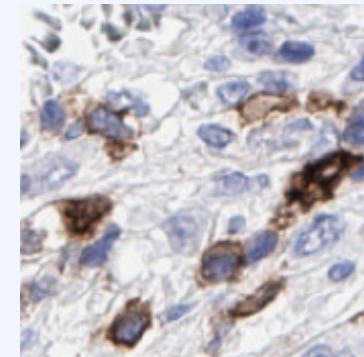
## Target Users is Pathologist

- เพื่อช่วยลดเวลาในการนับจำนวนนิวเคลียส เพิ่มความถูกต้องและความแม่นยำในการนับจำนวนนิวเคลียส และเพิ่มประสิทธิภาพในการแปลผลจากภาพถ่ายเนื้อเยื่อจากการย้อมด้วยสารเรืองแสงได้มากขึ้น

# Literatures

Summary image processing papers			
Paper	Author	Method	Example Dataset
Automated segmentation of overlapped nuclei using concave point detection and segment grouping [48]	Wanjun Zhang	Detect interest point of nucleus in image	 a
Automated Image Processing Workflow for Morphological Analysis of Fluorescence Microscopy Cell Images [49]	Sven P. Voigt	Distance Transform + Watershed	
Automated cell counting and cluster segmentation using concavity detection and ellipse fitting techniques [50]	onal Kothari	Detect interest point of nucleus in image	

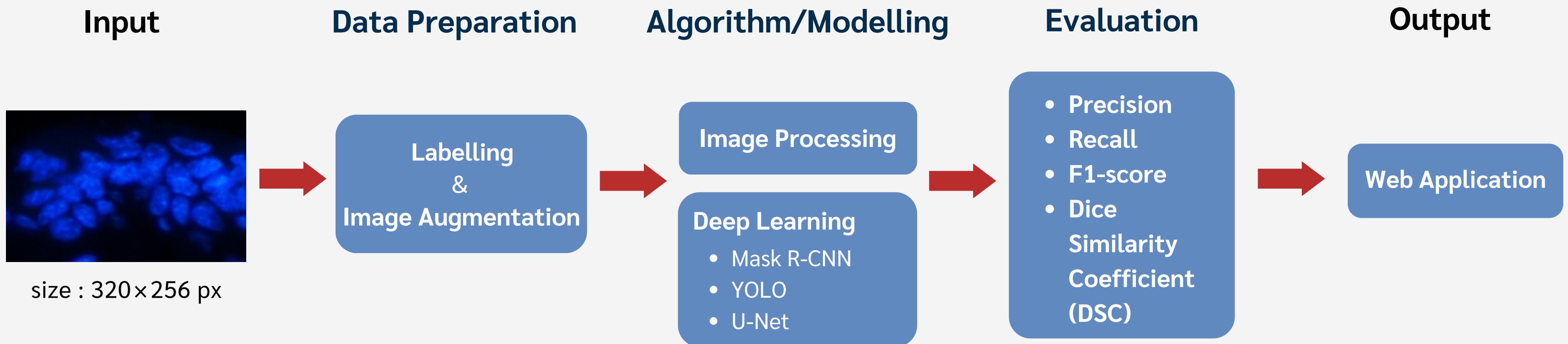
# Literatures

Summary Deep Learning papers			
Paper	Author	Method	Example Dataset
Breast Cancer Detection from Histopathology Images Based on YOLOv5 [6]	Wafaa Rajaa Drioua	YOLO	
A Means of Assessing Deep Learning-Based Detection of ICOS Protein Expression in Colon Cancer [47]	Md Mostafa Sark	U-Net , Mask R-CNN	

# 02

# Project workflow

# Workflow



# 03

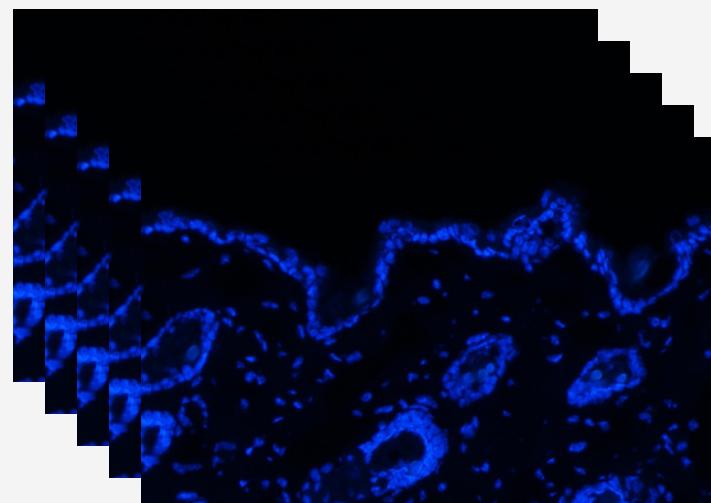
# Data Preparation

## Part

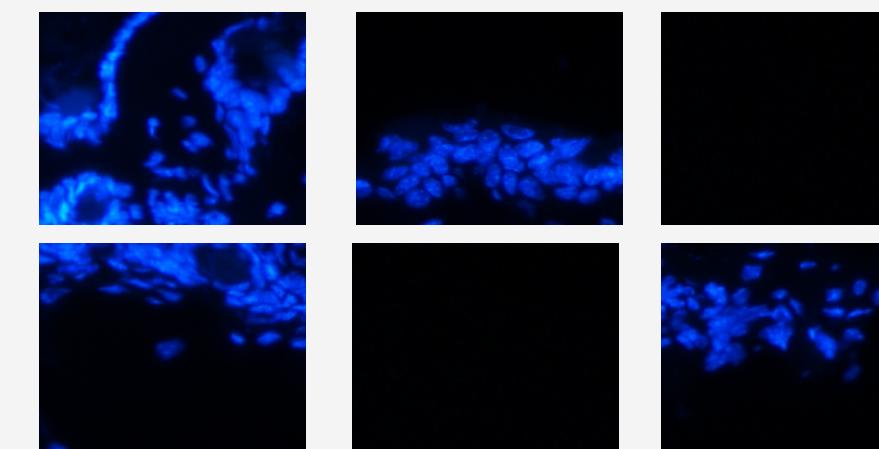
# Dataset

## ลักษณะของรูป:

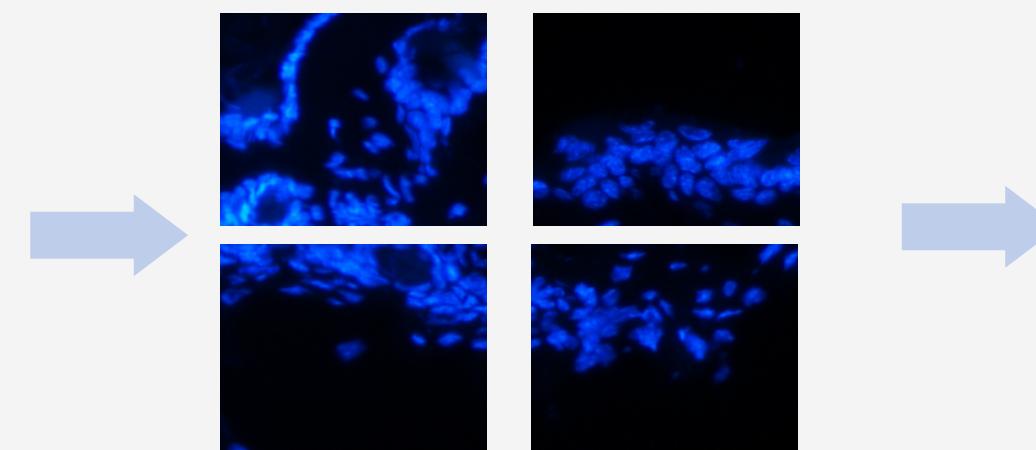
ภาพถ่ายที่ได้มาจากการอัมมูโนฟลูออเรสเซนซ์ และทำการย้อมสีด้วยสารเรืองแสง ซึ่งสามารถบอกตำแหน่งของนิวเคลียสในตัวอย่างเนื้อเยื่อด้วยการใช้สีย้อม Immunofluorescence Tissue with 4',6-diamidino-2-phenylindole (DAPI)



Immunofluorescence Tissue  
จำนวน: 197 รูป  
size : 1920×1536 px



นักพยาธิวิทยาเลือก 5 รูป  
แบ่งเป็นรูป 320×256 px ได้รูป 36 รูป



ตัดพื้นหลังที่ไม่มีนิวเคลียสออก  
จาก 180 รูปเหลือ : 122 รูป



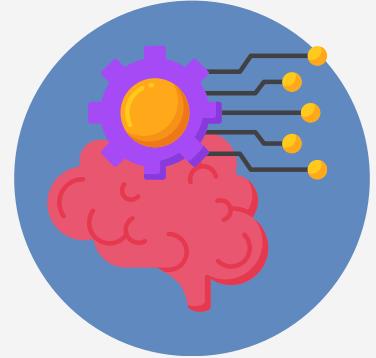
นักพยาธิวิทยา label นิวเคลียส

# แบ่งชุดข้อมูลจากการกระบวนการก่อนหน้าออกเป็น 3 ชุด



ชุดข้อมูลที่ใช้ในการเรียนรู้ของ  
แบบจำลอง (Train Dataset)

จำนวน : 87 รูป



ชุดข้อมูลที่ใช้ในการปรับปรุง  
ประสิทธิภาพของแบบจำลอง  
(Validation Dataset)

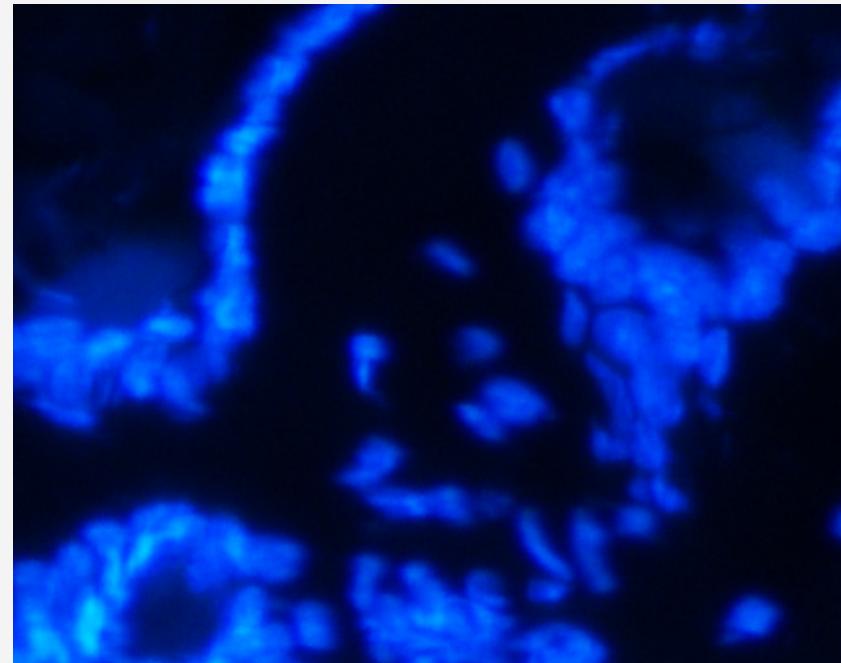
จำนวน : 23 รูป



ชุดข้อมูลที่ใช้ในการวัดผลความสามารถ  
ของแบบจำลอง (Test Dataset)

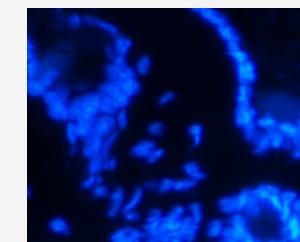
จำนวน : 12 รูป

# Image Augmentation

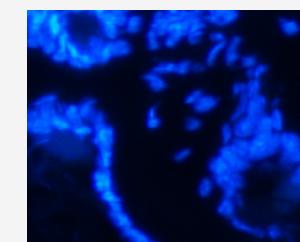


Train Dataset  
จำนวน : **87** รูป

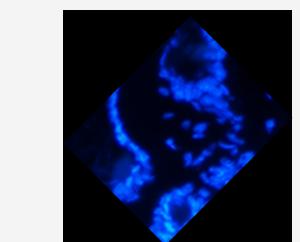
Horizontal flip



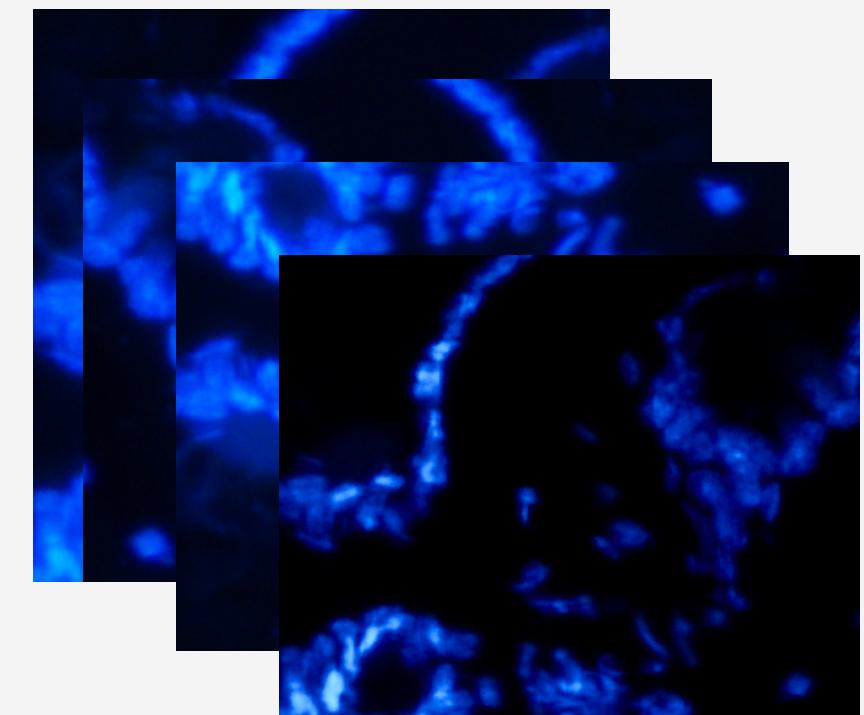
Vertical flip



Rotate -45° to 45°



Random : Probability = 0.5



Train Dataset  
จำนวน : **820** รูป

**04**

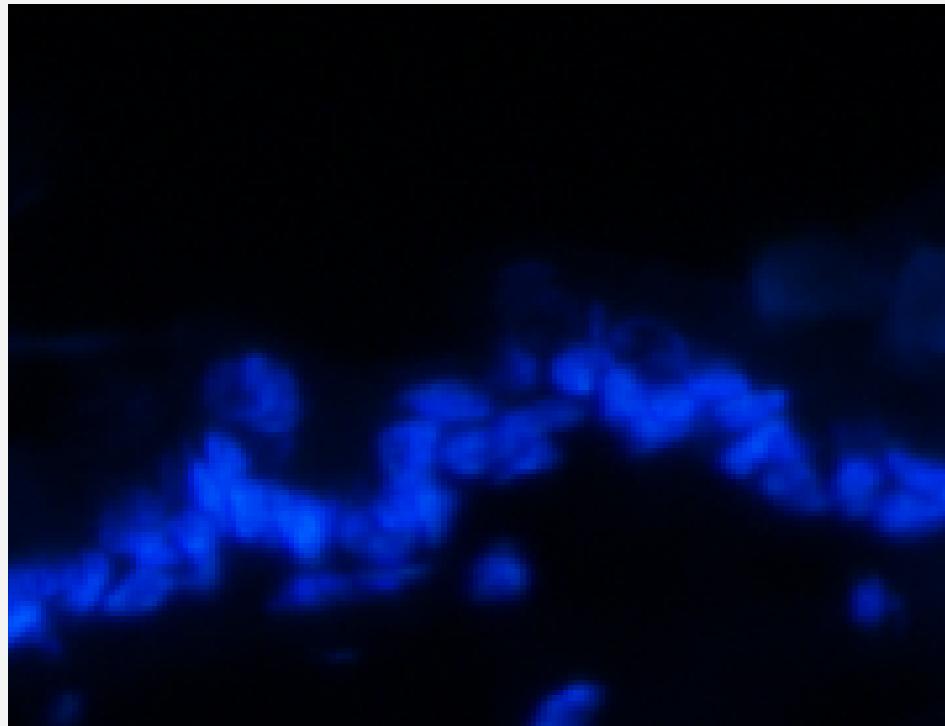
**Algorithm/Modelling**

**Part**

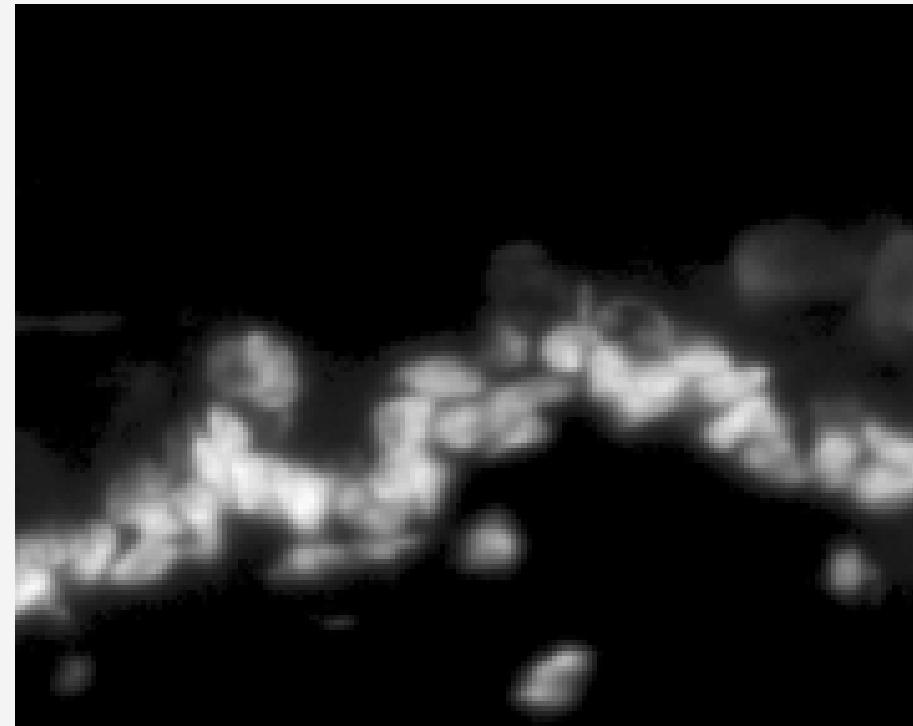
# Image Processing



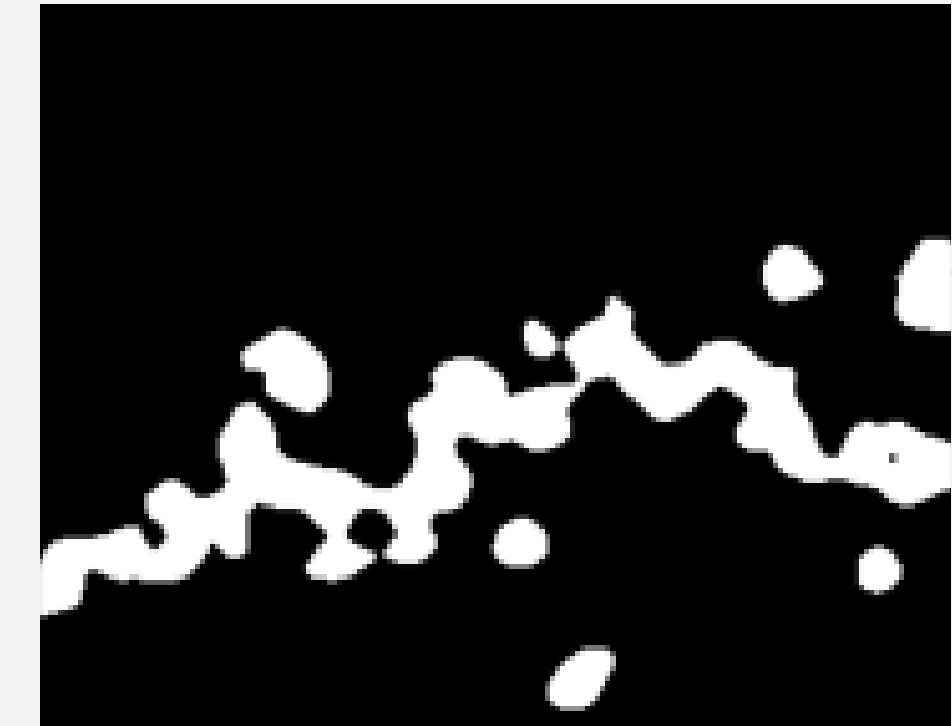
Immunofluorescence Tissue



Preprocessing



Thresholding



- RGB to Grayscale
- Gaussian Blur
- Contrast Limited Adaptive Histogram Equalization (CLAHE)

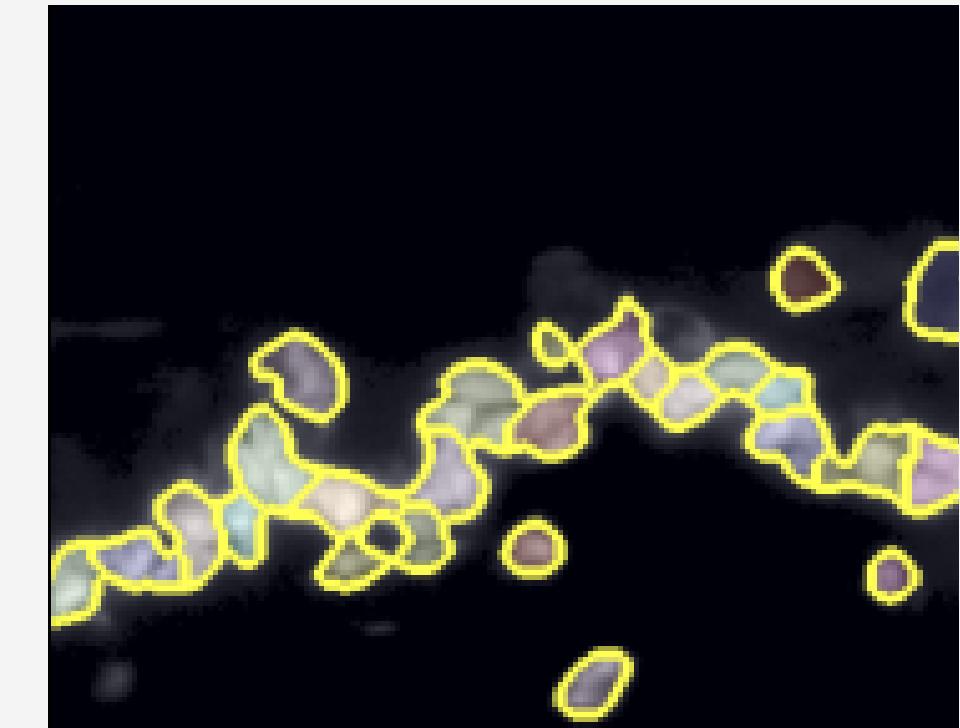
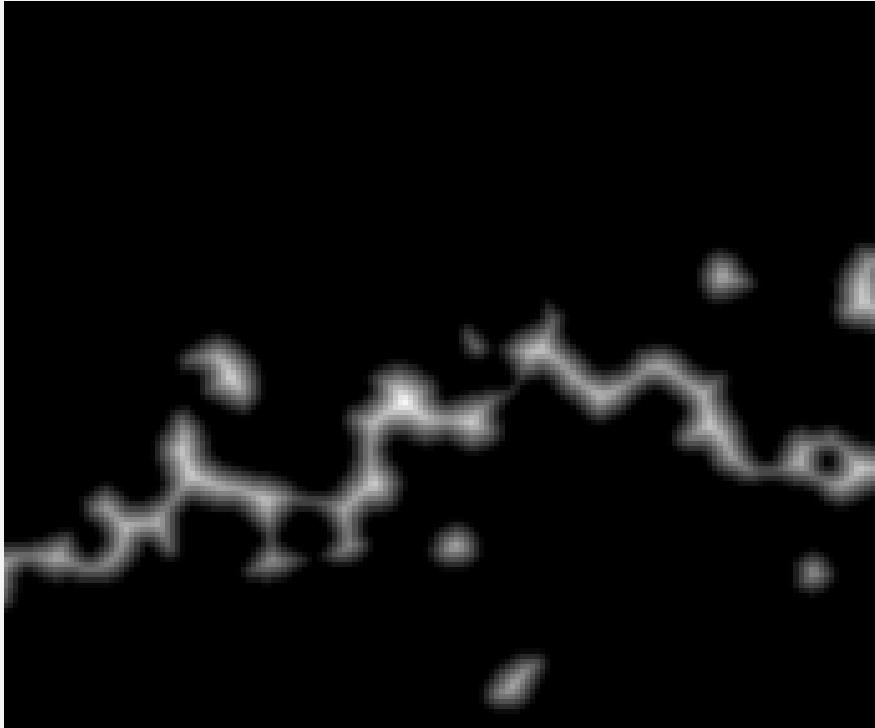
- Short range & Long range Local Average Threshold

# Image Processing



Split touching Nucleus

Nucleus counting

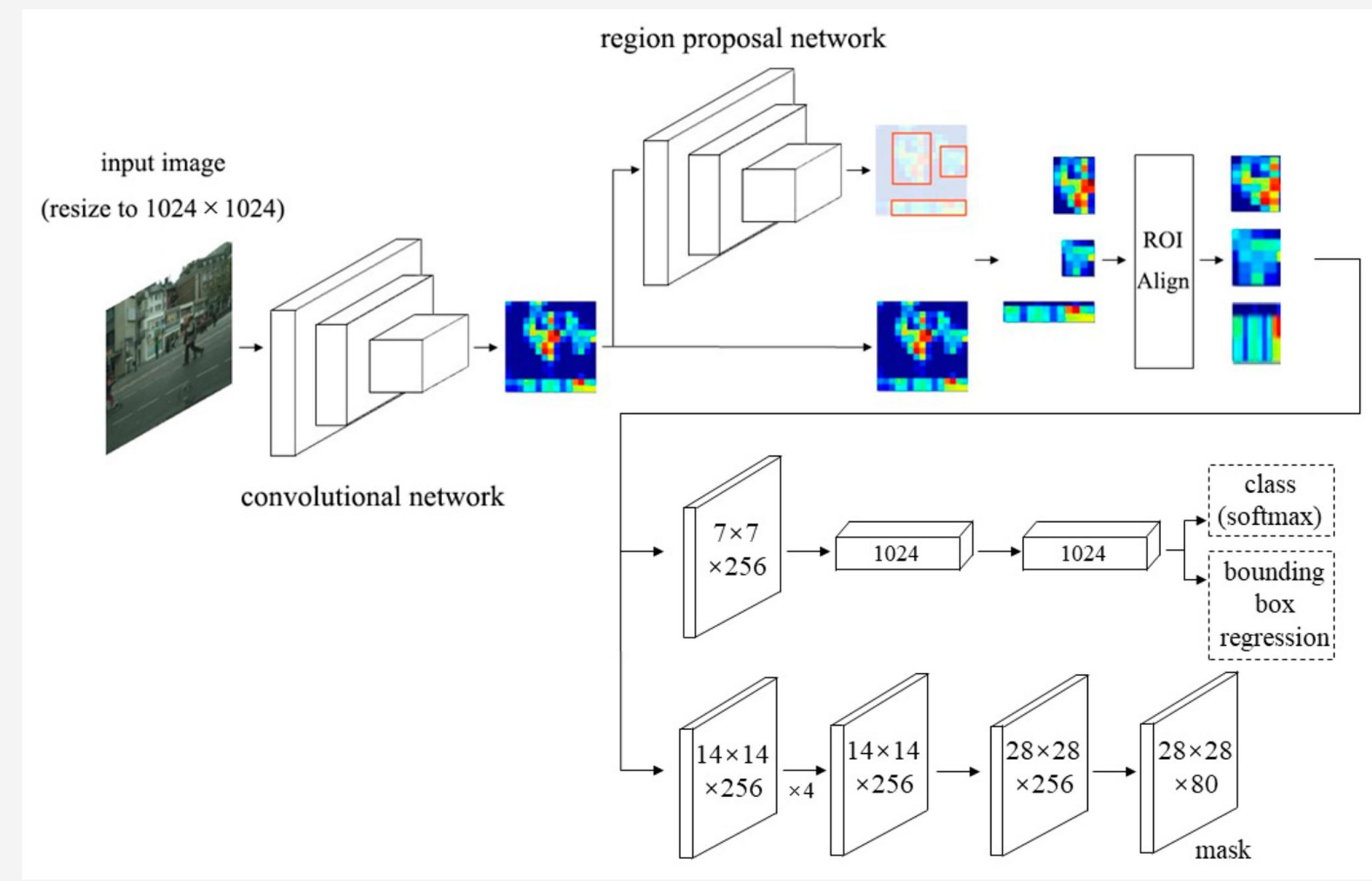


◦ Distance Transform

◦ Watershed

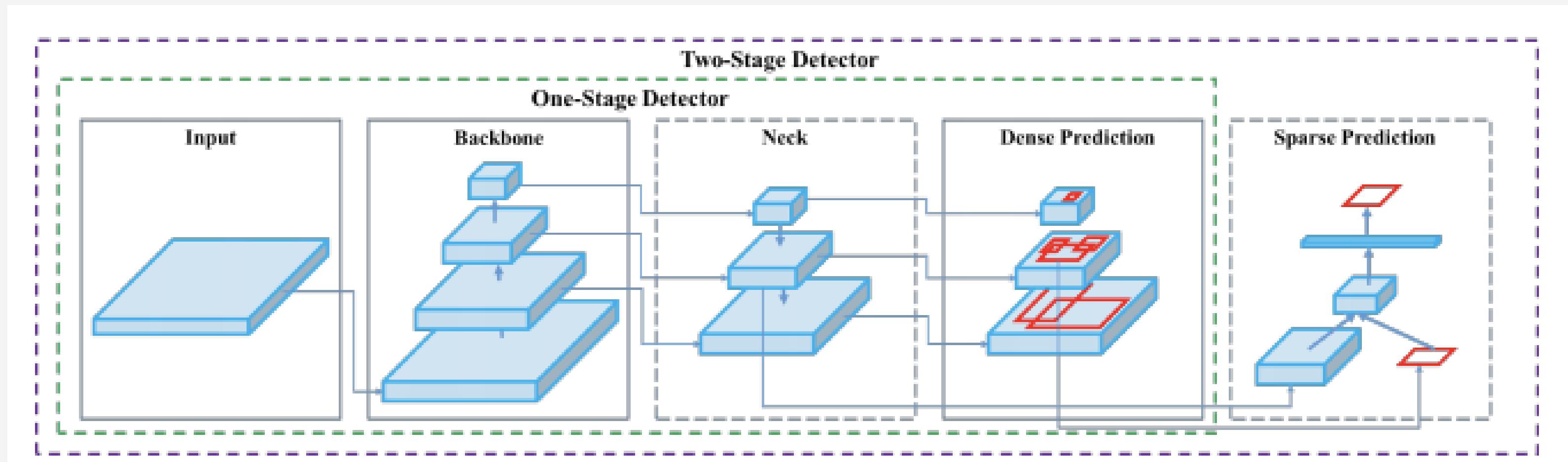
# Deep Learning

## Mask R-CNN



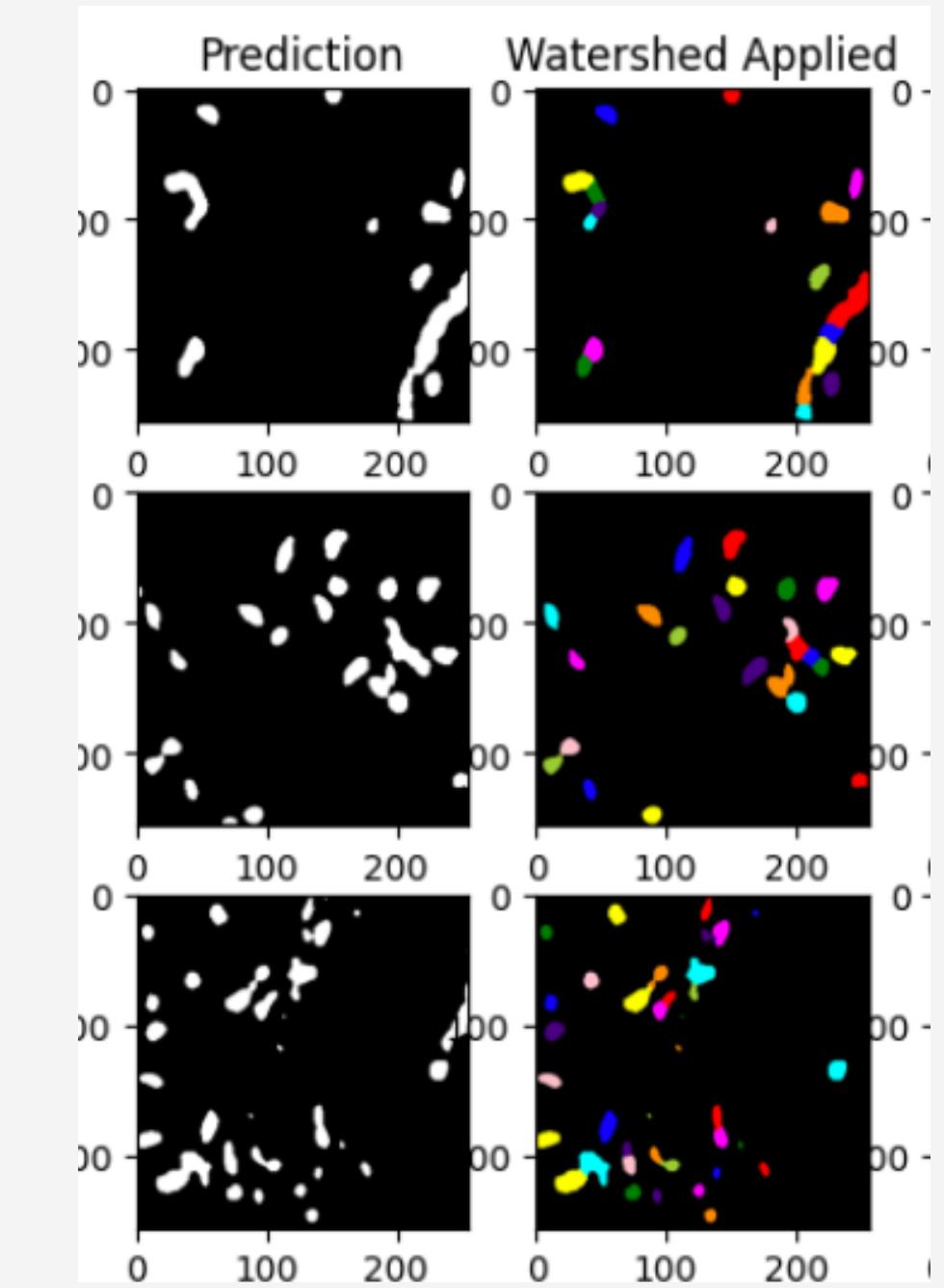
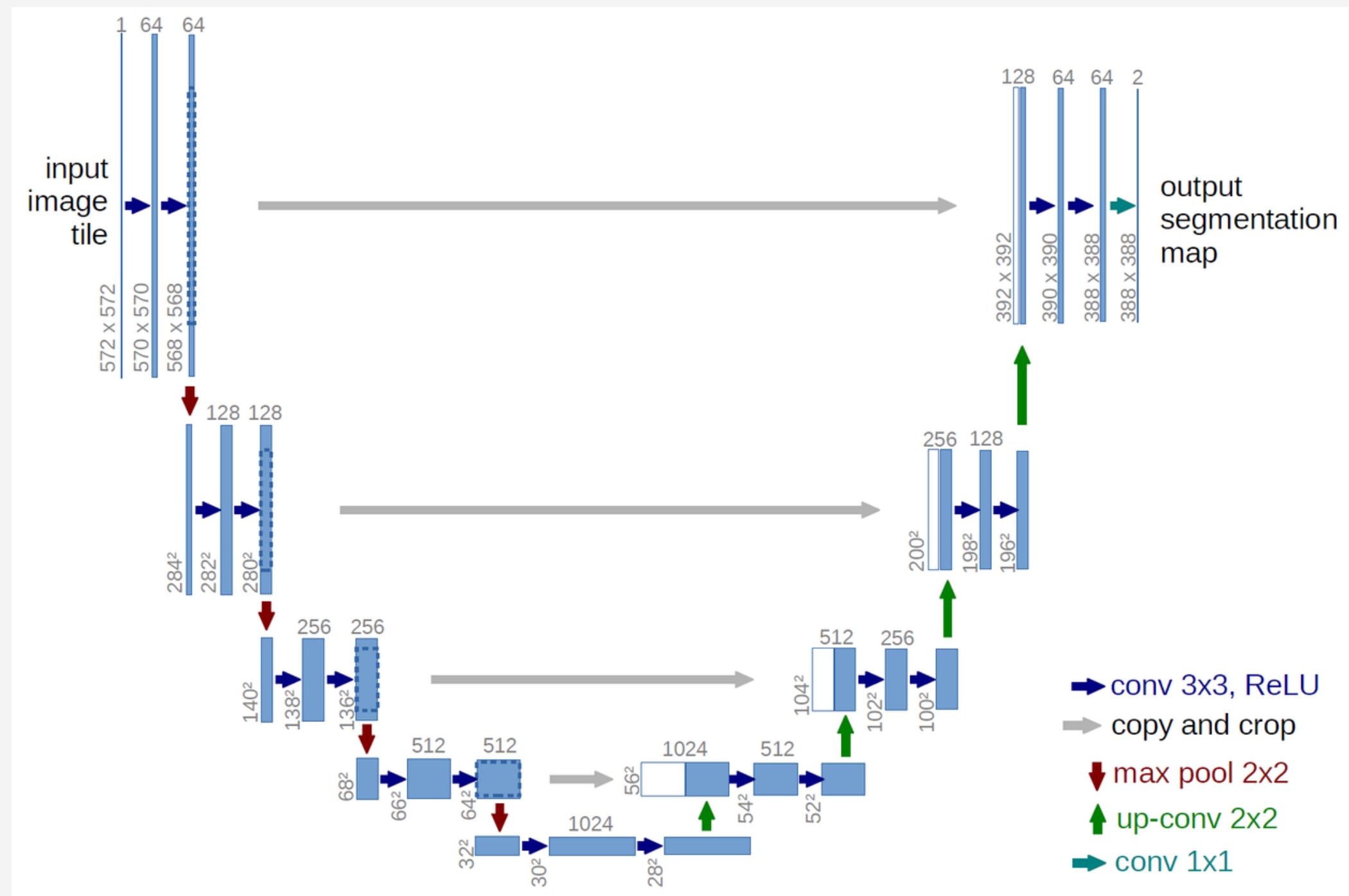
# Deep Learning

YOLO



# Deep Learning

## U-Net



# 05

# Evaluation

# Part

# Evaluation



## Precision

$$Precision = \frac{TP}{TP + FP}$$

## Recall

$$Recall = \frac{TP}{TP + FN}$$

## F1 Score

$$F1 = \frac{2 \times Precision \times Recall}{Precision + Recall}$$

## Estimate Number ratio (ENr)

$$ENr = \frac{EN}{GT}$$

## Dice Similarity Coefficient (DSC)

$$DSC = \frac{2|A \cap B|}{|A| + |B|}$$

- **True Positive (TP)**

ค่าที่ได้จากการทำนายว่า พื้นที่นิวเคลียสนั้นได้คำตوبเป็นพื้นที่นิวเคลียส

- **False Positive (FP)**

ค่าที่ได้จากการทำนายว่า พื้นหลังนั้นได้คำตوبเป็นพื้นที่นิวเคลียส

- **Flase Negative (FN)**

ค่าที่ได้จากการทำนายว่า พื้นที่นิวเคลียสนั้นได้คำตوبเป็นพื้นหลัง

- **Ground Truth Number (GT)**

ค่าที่ได้จากการ label ด้วยนักพยาธิวิทยา

- **Estimate Number (EN)**

ค่าผลลัพธ์จำนวนนิวเคลียสทั้งหมดที่ได้มาจากการทำนาย

- **A**

Area of Ground Truth

- **B**

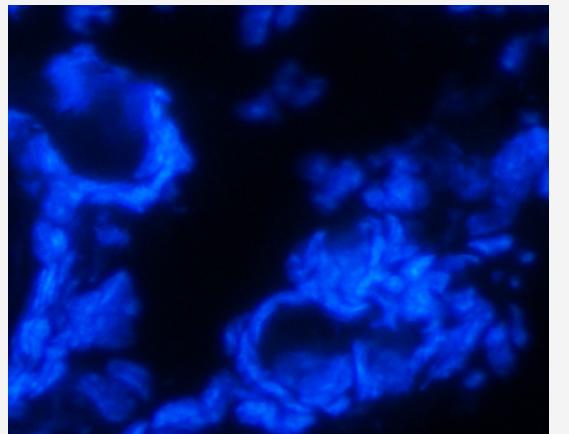
Area of Predicted

# Experimental Result

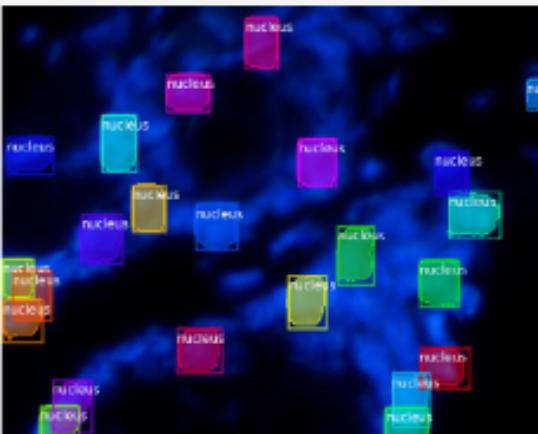
ตารางที่ 4.5 ตารางรวมผลการทดลองที่ดีที่สุดของแต่ละแบบจำลอง

Model	Precision	Recall	F1 Score	ENr	DSC
Mask R-CNN	0.857	0.581	0.693	0.659	0.509
YOLO	<b>0.896</b>	0.908	<b>0.902</b>	0.823	0.713
U-Net	0.840	0.926	0.881	0.908	<b>0.740</b>
Image Processing	0.657	<b>0.953</b>	0.778	<b>1.083</b>	0.670

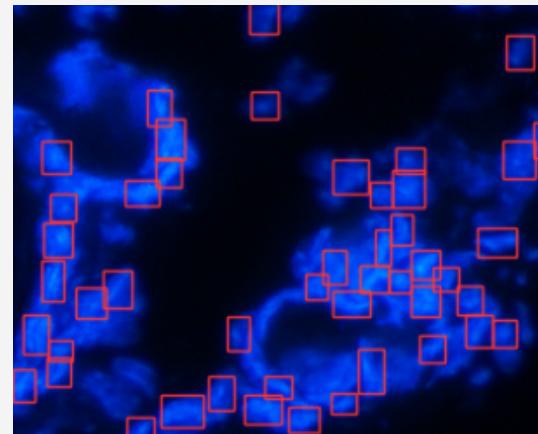
Original



Mask R-CNN



YOLO



U-Net

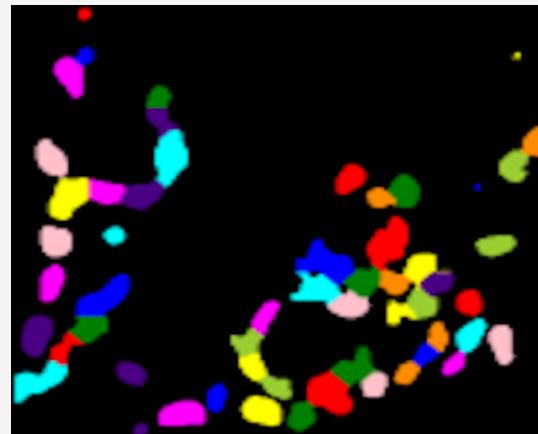
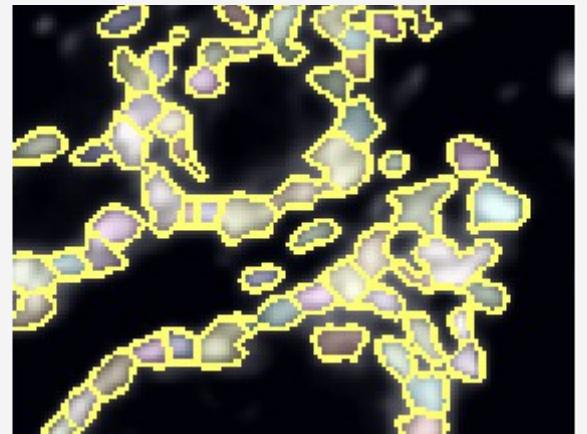


Image Processing

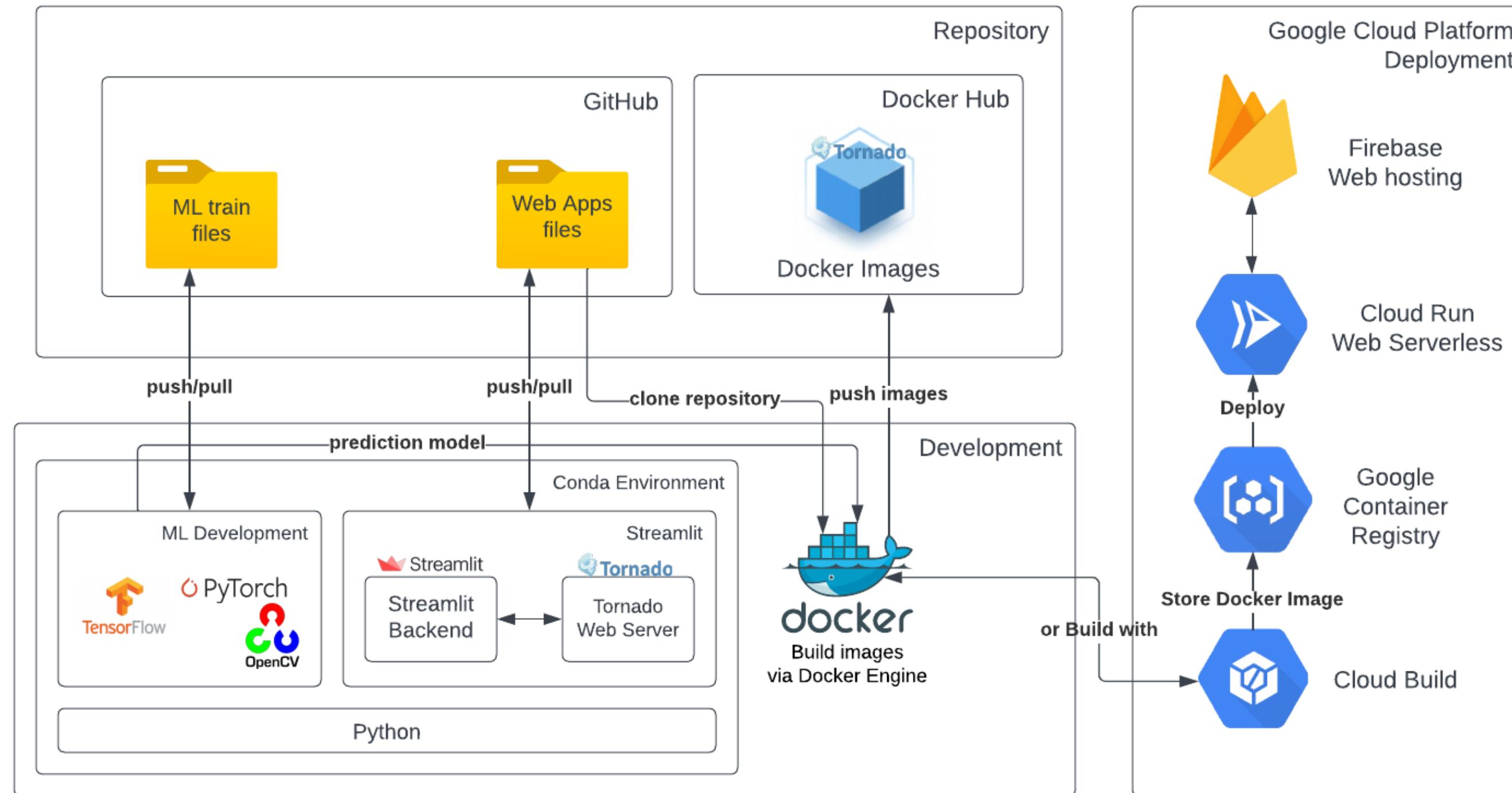
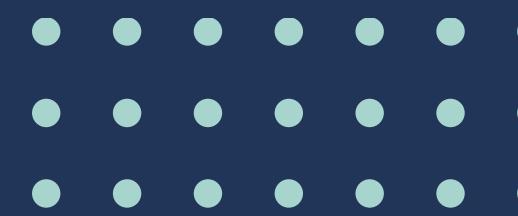


# 06

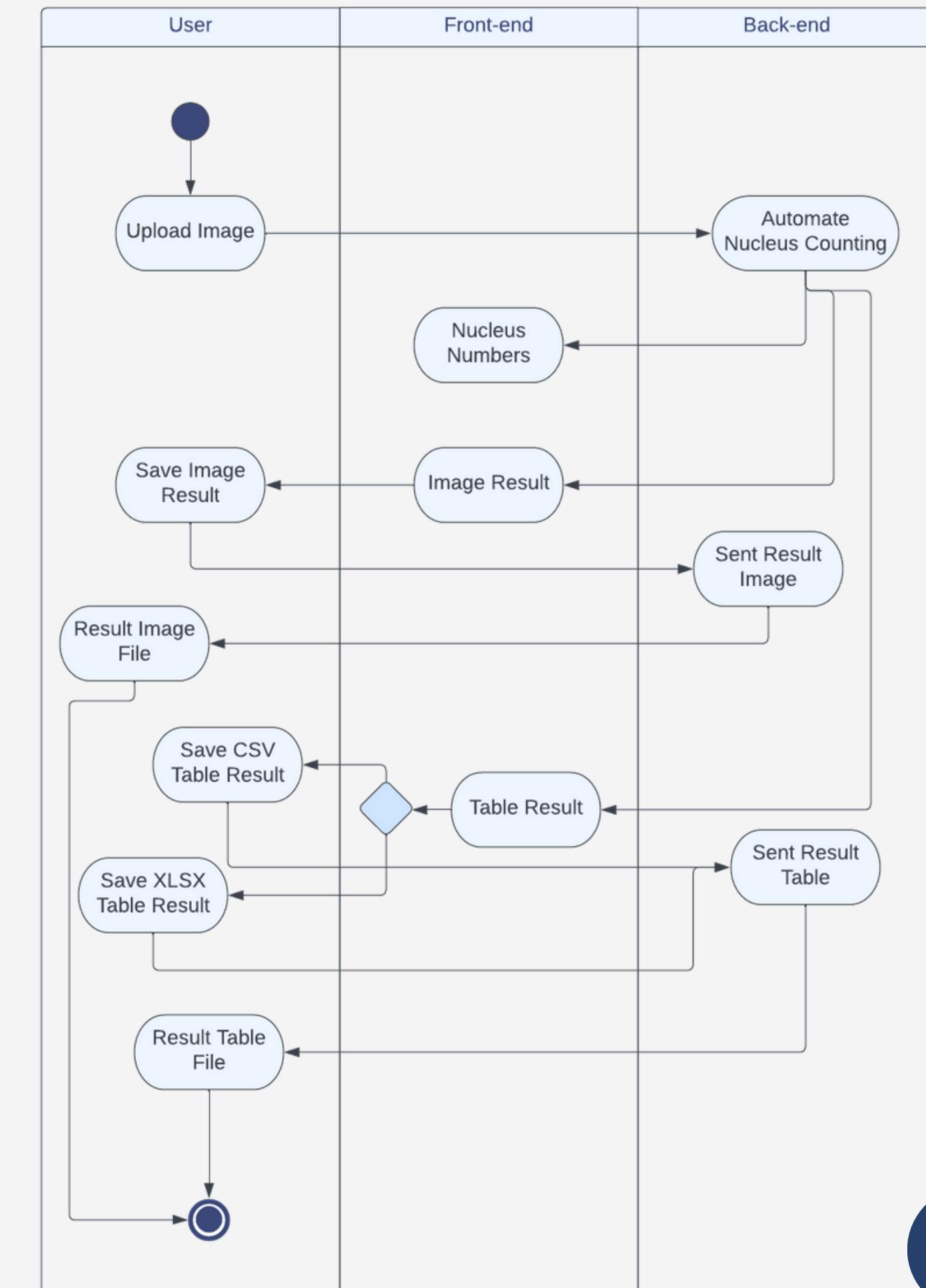
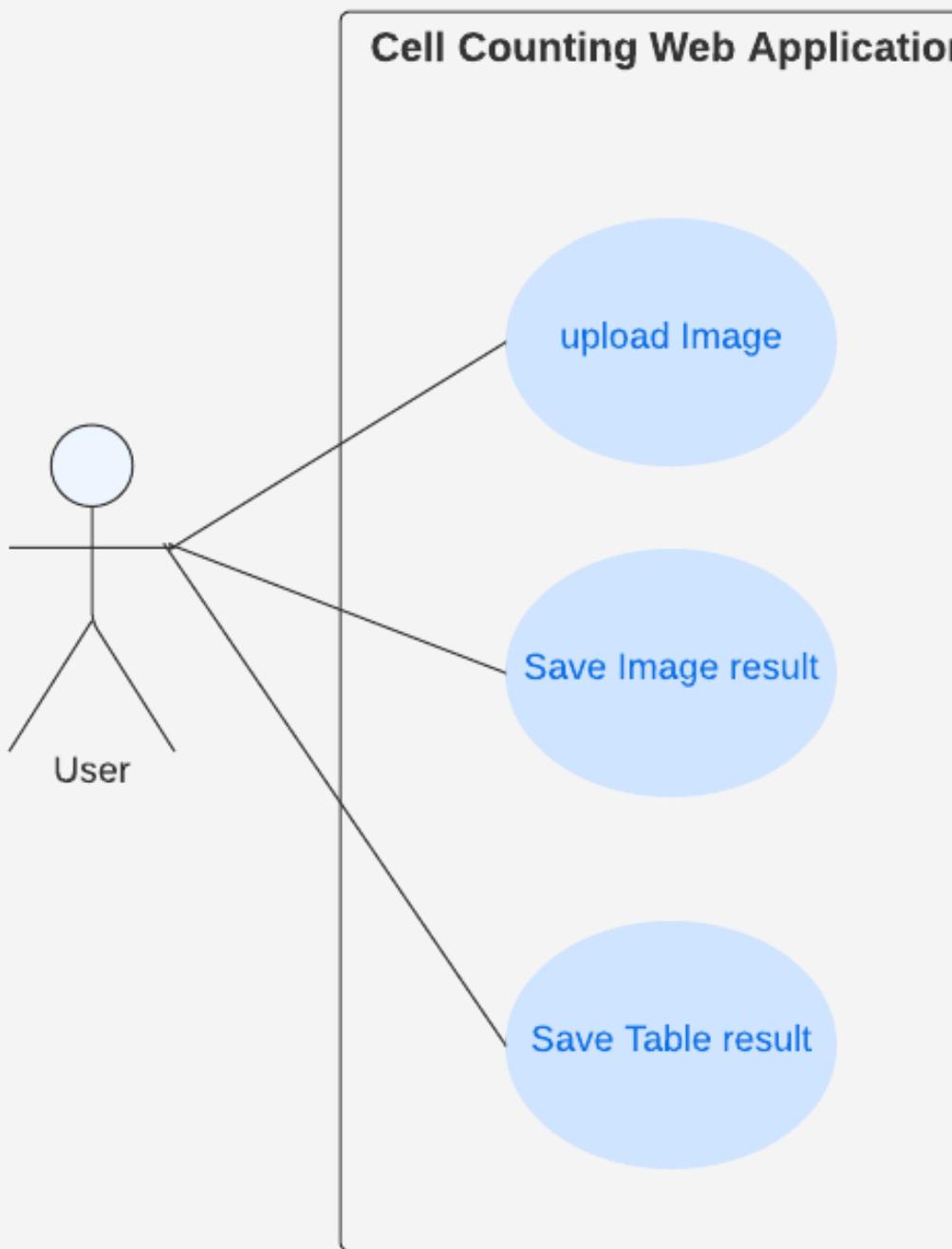
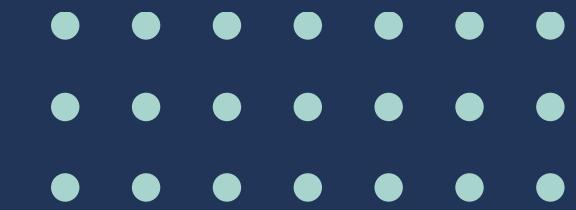
# Web Application

# Part

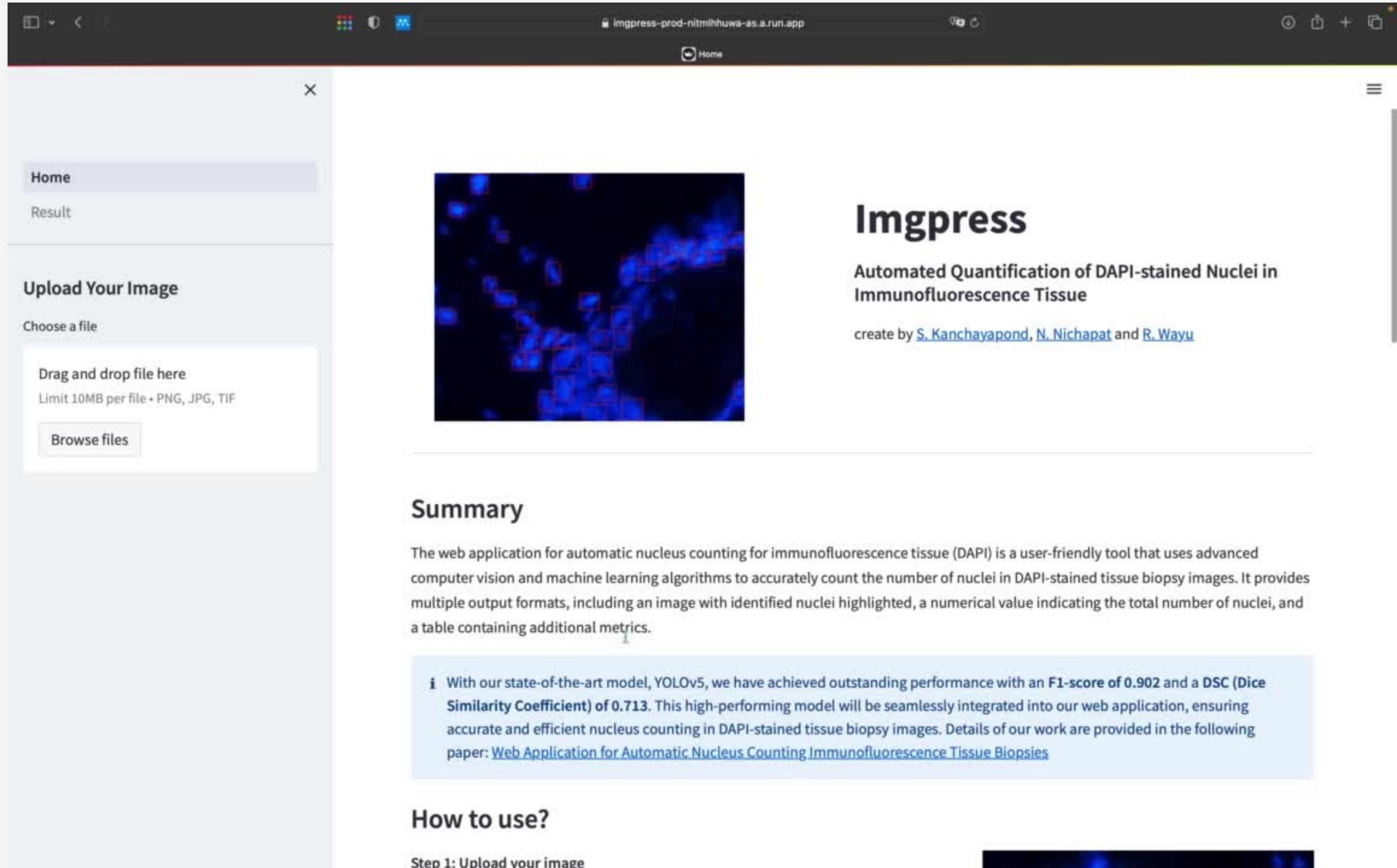
# Web Application Architecture



# UML Diagram & Activity Diagram



# Web Application Demo



The screenshot shows a web browser window with the URL `imgpress-prod-nitmlhhua-as.a.run.app` in the address bar. The page title is "Home". On the left, there's a sidebar with "Home" and "Result" buttons. Below them is a section titled "Upload Your Image" with a file input field. The input field has "Choose a file" placeholder text and a "Browse files" button. A "Drag and drop file here" area is also present, with the note "Limit 10MB per file • PNG, JPG, TIF". In the center, there's a large image of blue-stained nuclei on a black background. To the right of the image, the word "Imgpress" is written in a large, bold, sans-serif font. Below it, the text "Automated Quantification of DAPI-stained Nuclei in Immunofluorescence Tissue" is displayed. At the bottom of this section, it says "create by [S. Kanchayapond](#), [N. Nichapat](#) and [R. Wayu](#)". At the bottom of the page, under the heading "Summary", there's a paragraph about the application's purpose and performance, followed by a callout box with more details about the YOLOv5 model and its metrics.

**Imgpress**

Automated Quantification of DAPI-stained Nuclei in Immunofluorescence Tissue

create by [S. Kanchayapond](#), [N. Nichapat](#) and [R. Wayu](#)

**Summary**

The web application for automatic nucleus counting for immunofluorescence tissue (DAPI) is a user-friendly tool that uses advanced computer vision and machine learning algorithms to accurately count the number of nuclei in DAPI-stained tissue biopsy images. It provides multiple output formats, including an image with identified nuclei highlighted, a numerical value indicating the total number of nuclei, and a table containing additional metrics.

With our state-of-the-art model, YOLOv5, we have achieved outstanding performance with an **F1-score of 0.902** and a **DSC (Dice Similarity Coefficient) of 0.713**. This high-performing model will be seamlessly integrated into our web application, ensuring accurate and efficient nucleus counting in DAPI-stained tissue biopsy images. Details of our work are provided in the following paper: [Web Application for Automatic Nucleus Counting Immunofluorescence Tissue Biopsies](#)

**How to use?**

Step 1: Upload your image

# Web Application Demo

The screenshot shows a Streamlit web application running in a browser. The URL in the address bar is `imgpress-prod-nitmlhuwa-as.a.run.app`. The page has a dark blue header with the title "Web Application Demo".

**Left Sidebar:**

- Home** (selected)
- Result**

**Upload Your Image**

Choose a file

Drag and drop file here  
Limit 10MB per file • PNG, JPG, TIF

Browse files

**Authors**

Please feel free to contact us with any issues, comments, or questions.

**Ms. Kanchayapond Seajoong**

- Email: [kanchayapond.earn@mail.kmutt.ac.th](mailto:kanchayapond.earn@mail.kmutt.ac.th)
- Github: [github.com/kanchayapond](https://github.com/kanchayapond)

**Ms. Nichapat Nobnorb**

- Email: [nichapat.best@mail.kmutt.ac.th](mailto:nichapat.best@mail.kmutt.ac.th)
- Github: [github.com/NichapatNobnorb](https://github.com/NichapatNobnorb)

**Mr. Wayu Ragwongsiri**

- Email: [wayu.qwertyuiop@mail.kmutt.ac.th](mailto:wayu.qwertyuiop@mail.kmutt.ac.th)
- Github: [github.com/cusniwtt](https://github.com/cusniwtt)

**Licenses**

[MIT License](#) [Copyright \(c\) 2023 Earnn](#)

**Web Application for Automatic Nucleus Counting 3D Immunofluorescence Tissue Biopsies Using Image Processing**

A PROJECT SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF THE REQUIREMENTS FOR THE DEGREE OF BACHELOR OF SCIENCE (COMPUTER ENGINEERING), FACULTY OF ENGINEERING,  
KING MONGKUT'S UNIVERSITY OF TECHNOLOGY THONBURI 2022

Made with Streamlit

# User Satisfaction

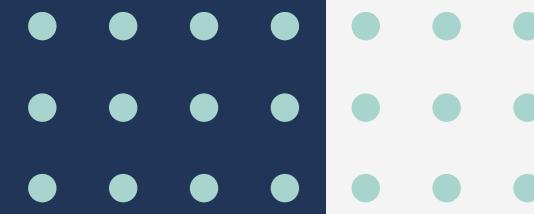


หัวข้อ	คะแนนเต็ม (5 คะแนน)
1. ด้านการออกแบบและการจัดการรูปแบบ	
• ความเหมาะสมในการเลือกใช้รูปแบบ ขนาด สีตัวอักษรบนเว็บแอปพลิเคชัน	4.75
• ความเหมาะสมในการเลือกใช้ข้อความเพื่ออธิบายการใช้เว็บแอปพลิเคชัน	4.17
• ความเหมาะสมในการใช้สัญลักษณ์หรือรูปภาพในการสื่อความหมาย	4.17
• ความสวยงามและความทันสมัยของเว็บแอปพลิเคชัน	4.50
• ความน่าสนใจของหน้าเว็บแอปพลิเคชัน	4.20
• ความเหมาะสมของสีพื้นหลังที่ง่ายต่อการใช้เว็บแอปพลิเคชัน	4.83
คะแนนเฉลี่ย	4.47
2. ด้านการแสดงผลลัพธ์การนับจำนวนนิวเคลียส	
• รูปภาพผลลัพธ์และตารางมีความชัดเจนและเข้าใจ	4.54
คะแนนเฉลี่ย	4.54
3. ด้านการใช้งานได้ตามฟังก์ชันการทำงาน	
• การใช้คำสั่งในส่วนการอัปโหลดรูปภาพ ที่ง่ายต่อการใช้งาน	4.83
• การใช้คำสั่งในการบันทึกผลลัพธ์ที่ได้ลงอุปกรณ์ของตนเอง ที่ง่ายต่อการใช้งาน	4.83
• การใช้คำสั่งการย่อ/ขยายรูปผลลัพธ์ ที่ง่ายต่อการใช้งาน	4.33
• ความเร็วในการประมวลผลของเว็บแอปพลิเคชัน	4.16
• ประโยชน์ในการใช้งานเว็บแอปพลิเคชัน	4.70
• ภาพรวมของเว็บแอปพลิเคชันตรงต่อความต้องการของผู้ใช้	4.54
คะแนนเฉลี่ย	4.56

น้อยที่สุด = 1 คะแนน, น้อย = 2 คะแนน, ปานกลาง = 3 คะแนน, มาก = 4 คะแนน และ มากที่สุด = 5 คะแนน



# System test results



ตารางที่ 4.8 ตารางสรุปผลการทดสอบระบบในแต่ละกรณี

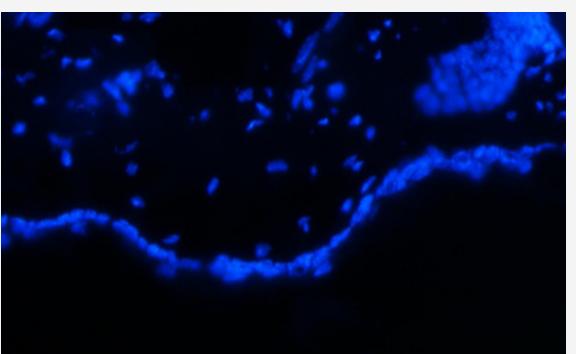
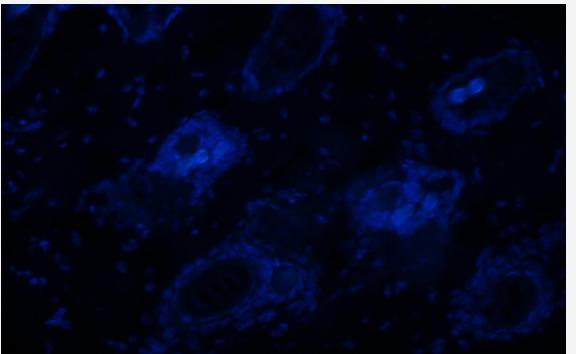
หัวข้อ	ผลลัพธ์	
	ผ่าน	ไม่ผ่าน
<b>1. การทดสอบการทำงานของระบบ</b>		
• การ Build และ Deploy บน Docker Desktop	✓	
• การ Build ด้วย GCP Cloud Build	✓	
• การ Deploy ด้วย GCP Cloud Run และใช้ Firebase Hosting	✓	
<b>2. การทดสอบการทำงานของส่วนต่อประสานกับผู้ใช้</b>		
• การอัปโหลดรูปภาพ	✓	
• การแสดงรูปผลลัพธ์	✓	
• การดาวน์โหลดรูปภาพผลลัพธ์	✓	
• การดาวน์โหลดตารางผลลัพธ์	✓	

07

# Conclusion & Discussion Part

# Conclusion

## Immunofluorescence Tissue



## Nucleus Counting Model

Deep Learning  
• YOLO

## Evaluation

F1-score  
0.902

## Web Application

The screenshot shows the Imgpress web application interface. It includes a header bar with the title 'imgpress-prod-nitmihuwa-as-a.run.app' and a 'Home' button. Below the header is a navigation menu with 'Home' and 'Result'. The main content area has a heading 'Upload Your Image' with a file upload input field. To the right, there is a summary section titled 'Imgpress' which describes the tool as an automated quantification tool for DAPI-stained nuclei in immunofluorescence tissue. It was created by S. Kanchayapond, N. Nichapat, and R. Wayu. The summary also includes details about the tool's purpose and usage.

# Limitations & Future Development

## Limitations

- จากชุดข้อมูลเนื้อเยื่อผิวนังทำให้แบบจำลองสามารถตรวจจับเฉพาะเนื้อเยื่อผิวนัง
- กรณีรูปที่มีขนาดใหญ่ จะส่งผลต่อความเร็วในการประมวลผลของอัลกอริทึม

## Future Development

- เพิ่มจำนวน dataset ให้มากขึ้นเพื่อเพิ่มความแม่นยำของแบบจำลอง
- เพิ่มประเภทของ dataset ให้รองรับกับนิวเคลียร์สูตรแบบอื่นๆ เช่น เนื้อเยื่อตับ เนื้อเยื่อปอด
- พัฒนาอัลกอริทึมให้รองรับการทำงานแบบ parallel

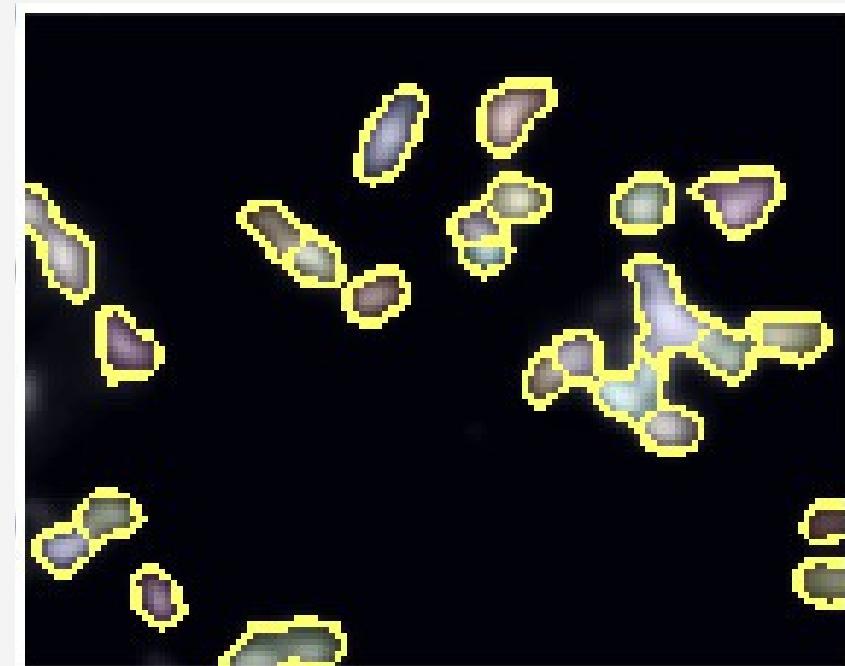
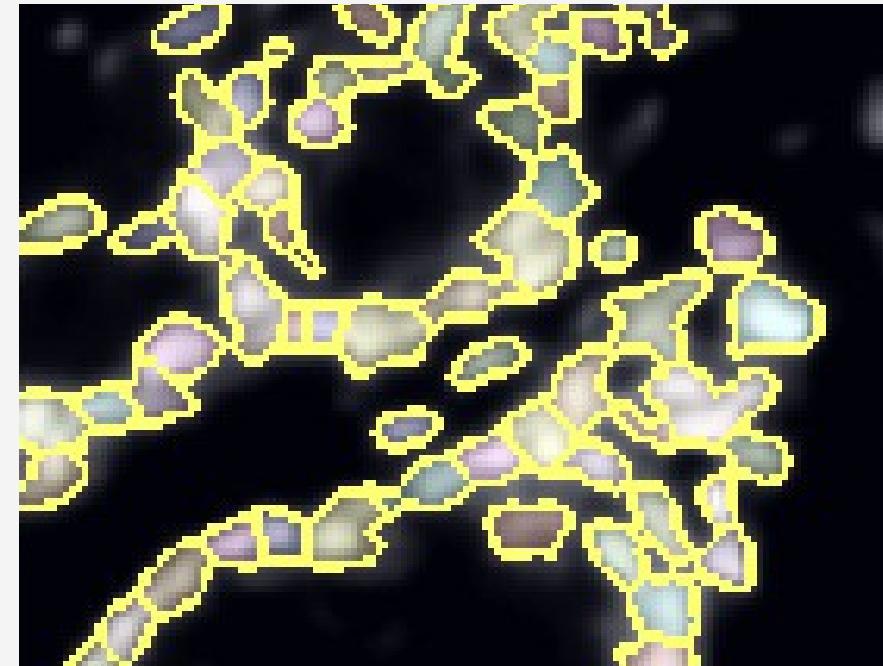
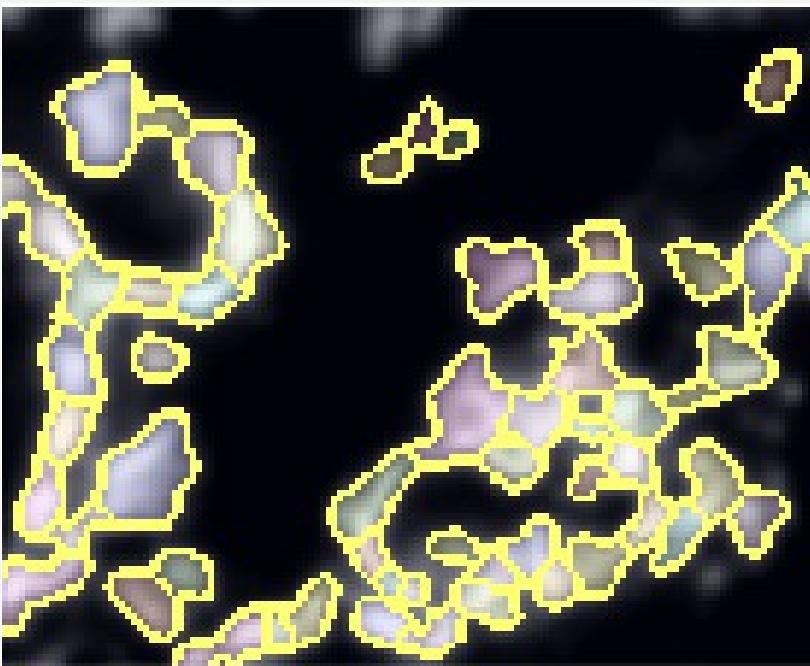
Thank You

# Experimental Result

## Image Processing

ตารางที่ 4.4 ตารางผลการทดลองการปรับพารามิเตอร์ของแบบจำลอง Image Processing

Method	Precision	Recall	F1 Score	ENr	DSC
Image Processing	0.665	0.945	0.781	1.083	0.670

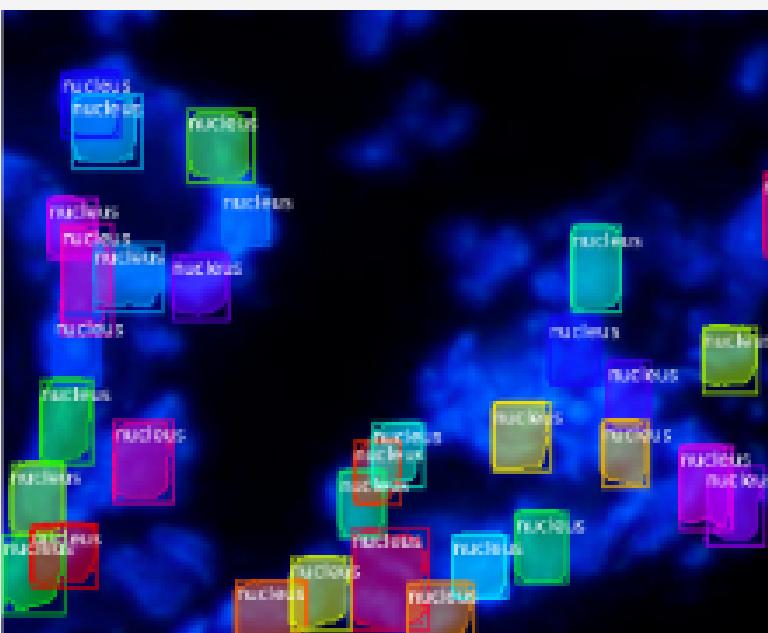


# Experimental Result

## Mask R-CNN

ตารางที่ 4.1 ตารางผลการทดสอบของแบบจำลอง Mask R-CNN

Method	Precision	Recall	F1 Score	ENr	DSC
Base	0.904	0.465	0.601	0.502	0.537
Non-maximum Suppression(NMS)= 0.5	<b>0.941</b>	0.409	0.547	0.456	0.509
momentum = 0.3	0.914	<b>0.607</b>	<b>0.713</b>	<b>0.659</b>	0.571

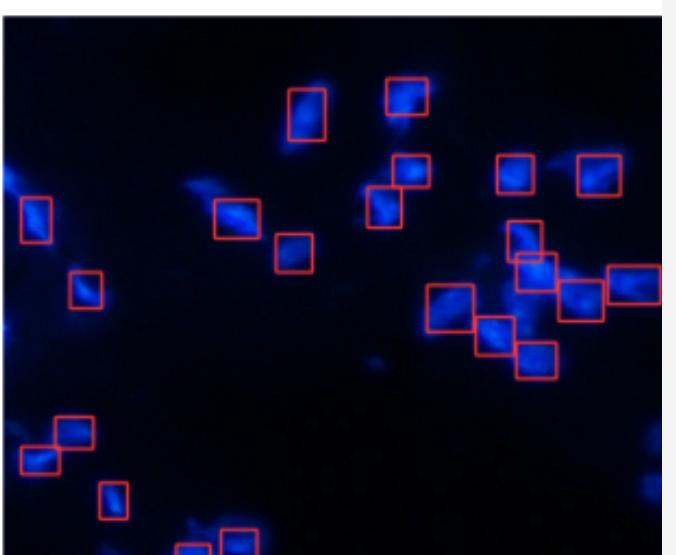
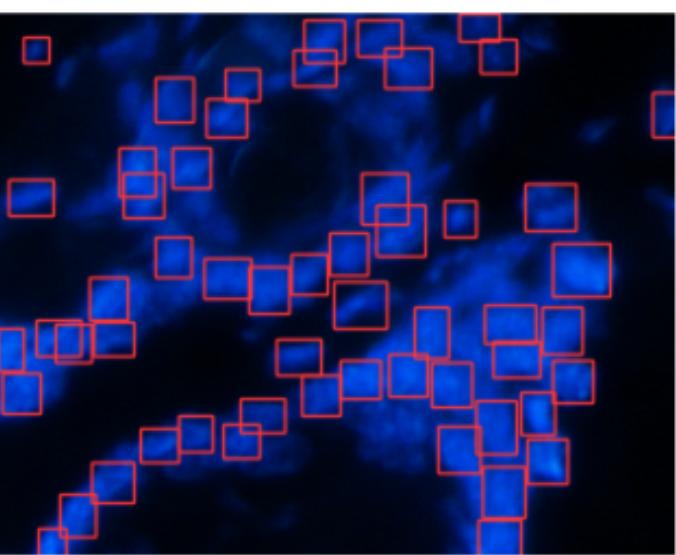
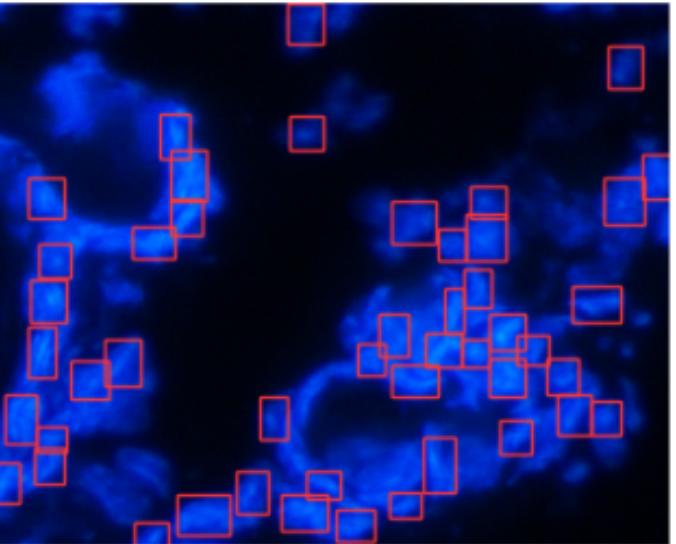


# Experimental Result

## YOLO

ตารางที่ 4.2 ตารางผลการทดสอบของแบบจำลอง YOLO

Method	Precision	Recall	F1 Score	ENr	DSC
Base	0.802	0.862	0.831	0.907	0.710
Dropout = 0.1	0.802	0.862	0.831	<b>0.918</b>	0.708
Leaky = 0.1	0.831	0.890	0.859	0.881	0.687
Hardswish	0.802	0.862	0.831	<b>0.918</b>	0.708
momentum = 0.90	0.840	0.813	0.826	0.826	0.708
scale image = 0.8	0.859	0.888	0.873	0.859	0.708
object loss = 0.5	0.826	0.805	0.815	0.719	0.683
All of changed parameters	<b>0.896</b>	<b>0.908</b>	<b>0.902</b>	0.823	<b>0.713</b>



# Experimental Result

## U-Net

ตารางที่ 4.3 ตารางผลการทดสอบของแบบจำลอง U-Net

Method	Precision	Recall	F1 Score	ENr	DSC
<b>U-Net with Adam</b>					
BCE	0.816	0.874	0.835	0.908	0.722
Dice+Jaccard	0.793	0.817	0.780	0.905	0.706
<b>U-Net with SGD</b>					
BCE	0.763	<b>0.926</b>	0.824	1.506	0.730
Dice+Jaccard	0.812	0.884	0.834	0.936	0.724
<b>IRNV2 U-Net with Adam</b>					
BCE	<b>0.828</b>	0.886	<b>0.849</b>	0.908	<b>0.740</b>
Dice+Jaccard					
<b>IRNV2 U-Net with SGD</b>					
BCE	0.719	0.896	0.780	<b>1.090</b>	0.645
Dice+Jaccard	0.761	0.924	0.823	0.941	0.732
<b>RA U-Net with Adam</b>					
BCE	0.803	0.858	0.814	0.962	0.733
Dice+Jaccard	0.804	0.899	0.840	0.895	0.733
<b>RA U-Net with SGD</b>					
BCE	0.802	0.920	<b>0.849</b>	0.954	0.728
Dice+Jaccard	0.800	0.881	0.827	0.897	0.725

