



CENTRO DE TECNOLOGIAS AVANÇADAS
EM FLUORESCÊNCIA

MANUAL OFICIAL DO CTAF



Guia de Utilização do Software para
Visualização e Análise de Imagens Científicas



MICROSCOPIA



CITOMETRIA



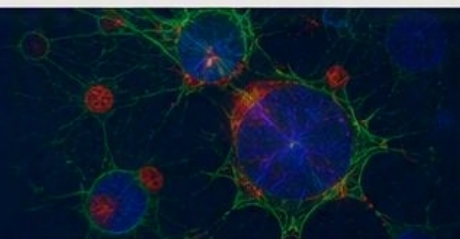
ANÁLISE DE IMAGENS



Centro de Tecnologias Avançadas em Fluorescência (CTAF)
Universidade Federal do Paraná (UFPR)

AUTOR DO MANUAL
Israel Henrique Bini

VERSÃO INSTITUCIONAL



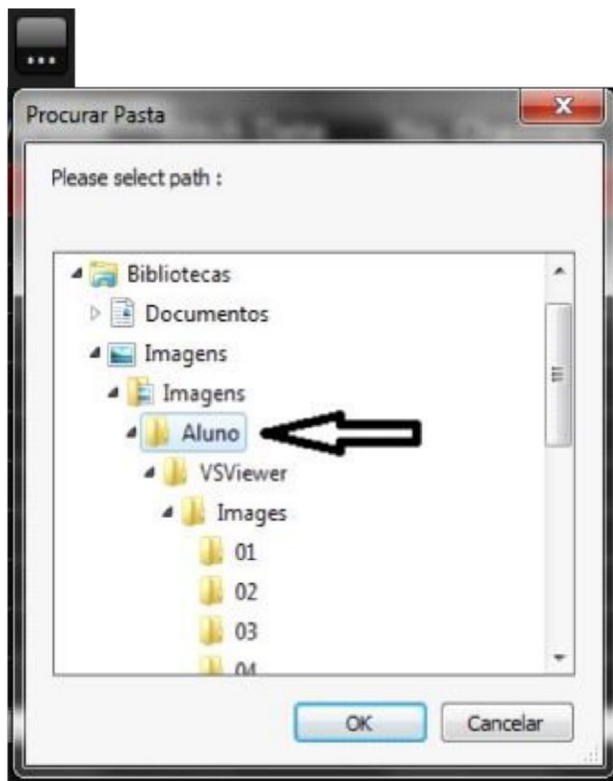
MANUAL DO PROGRAMA VSViewer

1. Iniciando o VSViewer:

- Abra a pasta MetaSystems;
- Abra a pasta Bin;
- Execute o programa VSViewer. Este programa abrirá logo em seguida não sendo necessário fazer qualquer instalação em seu computador.

2. Abrindo uma imagem;

- No canto superior esquerdo clique em:
- File
- Open Ou utilize o atalho Ctrl+O. Isso abrirá a janela “*VSViewer open*”;
- Nesta janela clique em um quadrado com três pontinhos. Isso abrirá a janela “**Procurar Pasta**”.
- Encontre a pasta que contém os seus arquivos (no nosso exemplo é a pasta Aluno):



Importante: para abrir corretamente os arquivos selecione sempre a pasta anterior à pasta VSViewer, e clique em OK.

O programa VSViewer necessita de um sistema de pastas para reconhecer e abrir os arquivos. Este sistema de pastas é composto pela seguinte estrutura:

1ª pasta: Uma pasta com o nome do aluno, do material escaneado, do grupo, ou qualquer outro nome que você queira colocar. Ex: Aluno

2ª Pasta: VSViewer

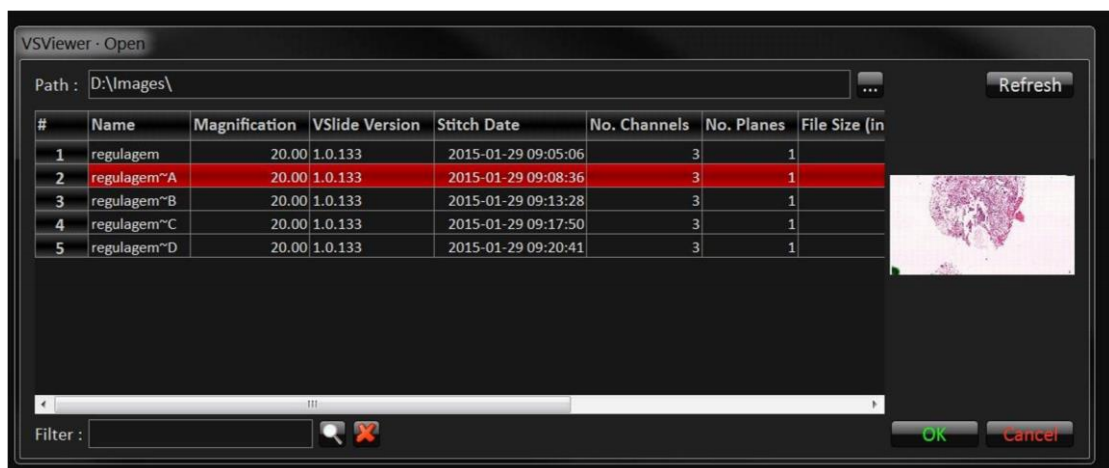
3ª Pasta: Images

4ª Pasta: É uma pasta com nome ou códigos da lâmina que foi escaneada. Ex: 01, 02, 03

No interior da 4ª pasta estão de 3 à 5 arquivos com as informações e imagens escaneadas. Estes arquivos possuem exatamente o mesmo nome desta pasta. Se você alterar o nome da pasta ou de um destes arquivos o VSViewer não conseguirá abrir a imagem. Se você precisar renomear alguma destas pastas você terá que renomear os arquivos internos com exatamente o mesmo nome da pasta.

Por exemplo: Dentro da pasta 01 eu tenho os arquivos: 01.vsa, 01.vsc, 01.vsi, 01.vsr, 01.vsv. Se eu precisar renomear a pasta 01 para Rato_1 eu terei que renomear os arquivos internos para Rato_1 também, obtendo: Rato_1.vsa, Rato_1.vsc, Rato_1.vsi, Rato_1.vsr, Rato_1.vsv.

- Depois que você clicou em *OK*, a janela “*VSViewer open*” exibirá o nome das lâminas e uma pré-visualização das imagens.



- Selecione o nome da lâmina e clique em *OK* e a imagem será aberta.

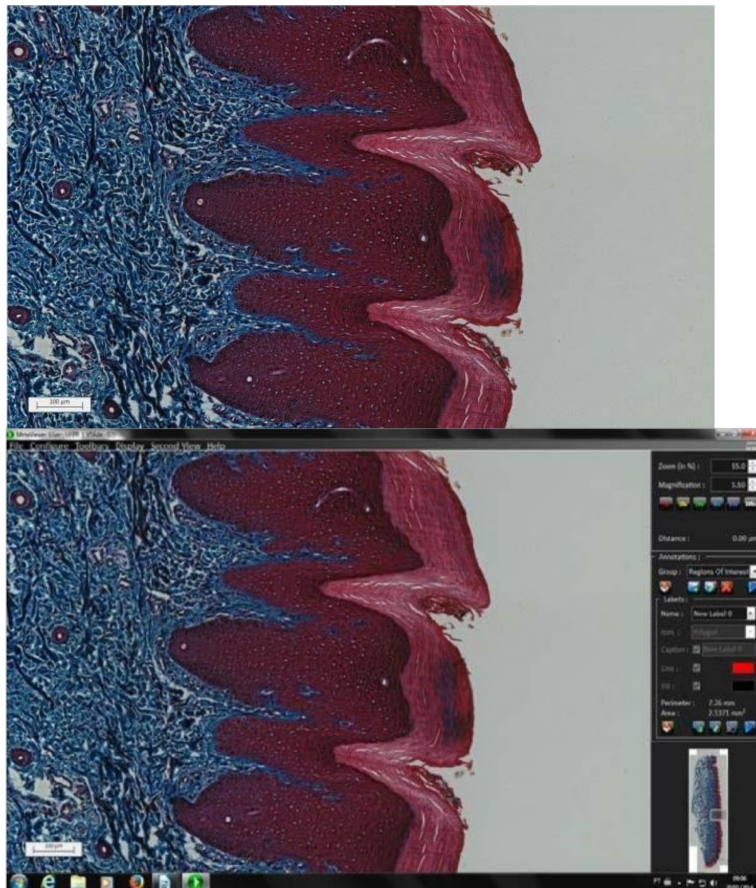
3. Convertendo uma imagem para os formatos TIFF, JPEG e outros

Existem duas formas de converter imagens para outros formatos que podem ser abertos e utilizados em outros programas. São eles o *snapshot* e o *extract*.

3.1 Snapshot ...

O Snapshot é bastante simples e funciona como se fosse um *printscreen* da imagem que está aparecendo no VSViewer. Portanto ele salvará a imagem no aumento que está sendo exibido e no formato da tela do VSViewer. Por exemplo:

- Se a tela do VSViewer estiver maximizada o Snapshot será maior como abaixo:



- Se você reduzir a tela o *snapshot* também será menor:

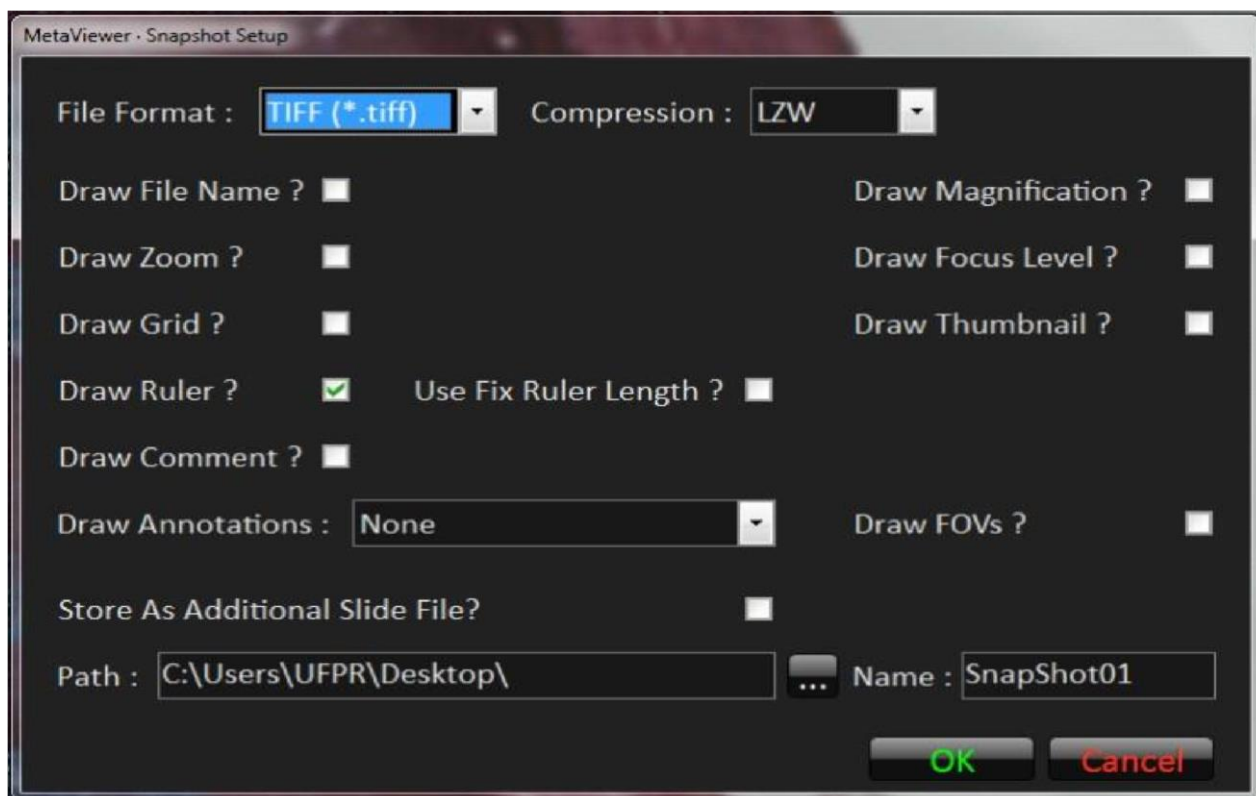


- Para fazer um *snapshot*, no canto superior esquerdo clique em:

- *File*

- *Snapshot ...*

Isso abrirá a janela “***Snapshot Setup***”;

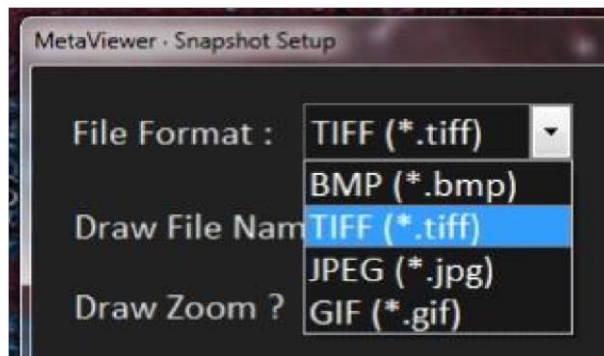


Dentro desta janela você poderá selecionar vários parâmetros:

3.1.1 Formato do Arquivo:

O formato de saída do arquivo em *File Format*:
Que podem ser:

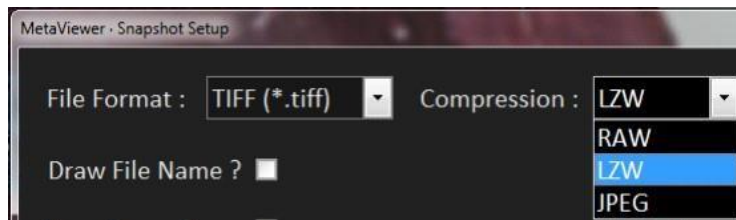
- BMP;
- TIFF;
- JPEG;
- GIF;



Escolha o formato de acordo com sua preferência ou com seus objetivos.

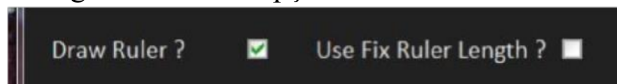
- O formato TIFF (o mais utilizado) apresenta algumas opções de compressão para reduzir o tamanho do arquivo final:

- RAW: sem compressão, produz arquivos grandes de alta qualidade de imagem.
- LZW: compressão baixa, produz de tamanho mediano mantendo a qualidade alta.
- JPEG: alta compressão, produz arquivos pequenos com perda considerável de qualidade.



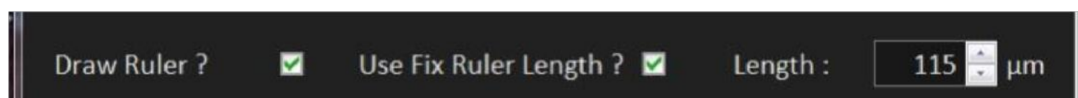
3.1.2 Barra de Escala

A barra de escala sairá na imagem final se a opção “**Draw Ruler ?**” estiver selecionada:



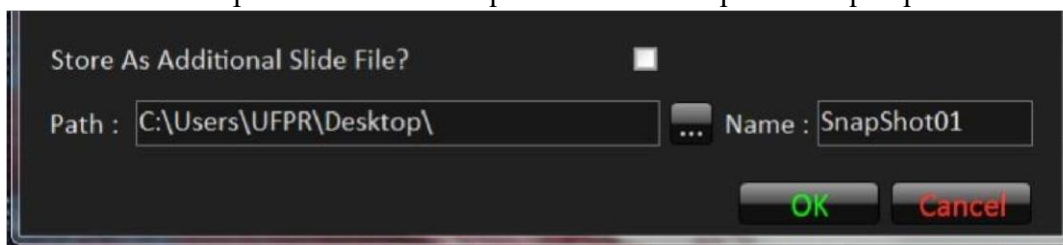
Nesta opção a Barra que sairá na imagem terá um tamanho pré-definido pelo próprio VSViewer.

Se você quiser modificar o tamanho da barra, basta selecionar a opção “**Use Fix Ruler Length** ?” e definir o tamanho desejado.



3.1.3 Nomear e Escolher o local onde salvar o arquivo.

Certifique-se de que a opção “**Store As Additional Slide File?**” **NÃO** esteja selecionada. Desta forma você poderá nomear o arquivo e escolher a pasta em que quer salvá-lo.

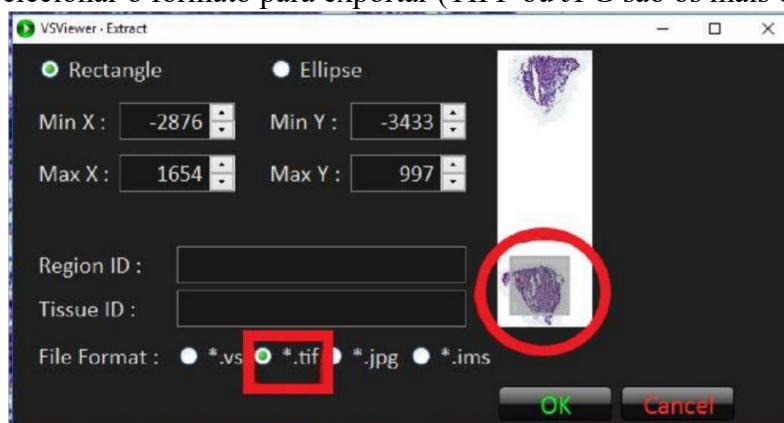


3.2 Extract / Export

1ª - Extract

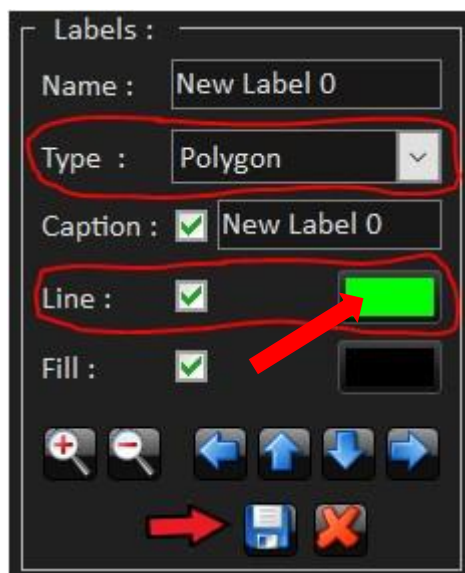
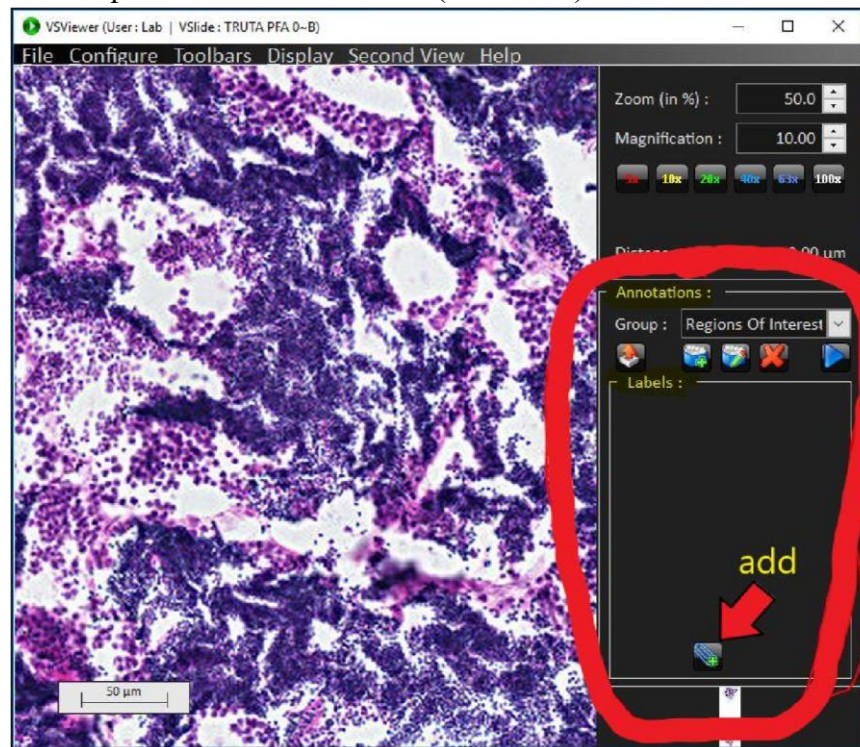
- No canto superior esquerdo clique em:
- *File*
- *Extract*

Abrirá uma janela onde você pode definir o tamanho da área que será extraída, clicando com os botões direito e esquerdo do mouse da miniatura da imagem que aparece. Você pode, então, selecionar o formato para exportar (TIFF ou JPG são os mais comuns)



2º - Export

- Na lateral direita do programa existe uma janela *Annotations > Labels* onde na parte inferior há um desenho de um clipe com um sinal de mais (botão *add*).



- Clique no botão *add*.
- Em *Type* escolha uma forma de selecionar uma área dentro da imagem, pode ser um quadrado (*square*), um círculo (*circle*) ou se você quiser pode desenhar uma área com a opção *Polygon*.
- Se não estiver vendo bem a linha que define a área de seleção mude sua cor na opção *Line*. Clique na cor e mude.
- Selecione a área desejada e clique em salvar (“*save*”).

Depois de selecionada a área, verifique as opções de extração acessando a opção:

- *Configure*

- *Setup*
- Clique na aba *Extract* e defina o formato que a imagem será exportada e outras opções de seu interesse.

Eu recomendo:

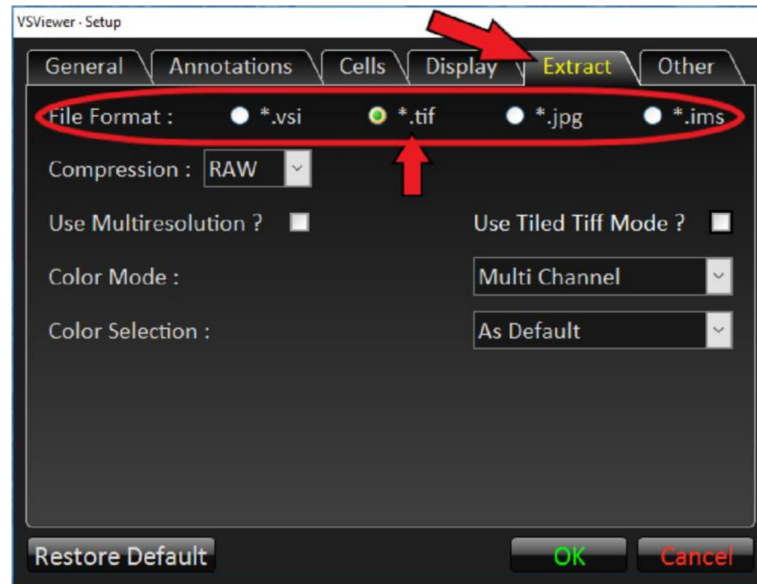
Formando: TIFF.

Compressão: RAW.

Color mode: *Multi Channel*.

Color selection: *As default*

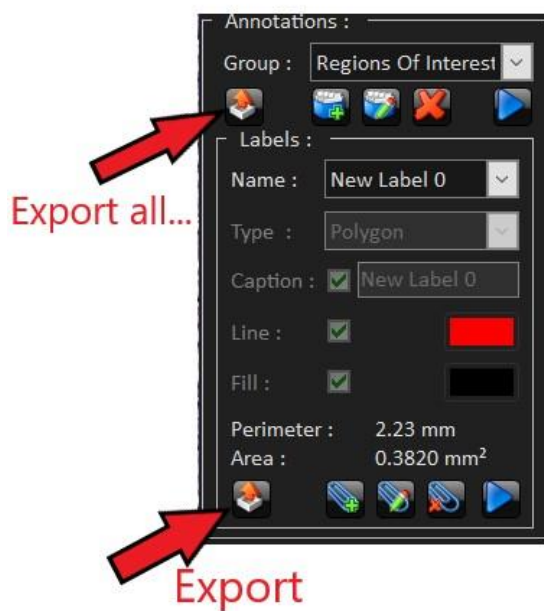
Desativar: *Use Multiresolution* e *Use Tiled Tiff Mode*



Porém, fique livre para alterar e testar as outras opções para definir o que mais atende suas necessidades.

- Clique *ok*

Volte na janela *Labels* do canto direito e embaixo da palavra "*Area*" existe um botão com uma flecha para cima (botão *export*) clique nele e sua imagem será exportada no formato que você selecionou.



Você pode ainda exportar mais de uma área ao mesmo tempo.

Acrescente novas áreas no botão *add* da janela *labels* e quando terminar use o botão "*export all ...*" na janela *Annotations* abaixo da palavra *Group*.

Sua imagem foi salva na pasta de origem, no caso do nosso exemplo na pasta *Aluno*.

4. Calibrando a escala das imagens exportadas:

A forma de calibrar a escala depende de qual programa você está utilizando para abrir e trabalhar com sua imagem.

Contudo algumas considerações devem ser feitas:

As imagens exportadas pelo modo **Snapshot** devem se calibradas utilizando a barra de escala salva na própria imagem, quando é selecionada a opção **Draw Ruler** na janela **Snapshot Setup**.

As imagens exportadas utilizando a opção **Extract** no menu **File** ou a opção **Export** na janela **Annotations/Labels** podem ser calibradas utilizando os valores abaixo:

Objetiva usada na captura	Valores para calibração
10x	1.56 pixel/ μ m
20x	3.1 pixel/ μ m
63x	9.8 pixel/ μ m

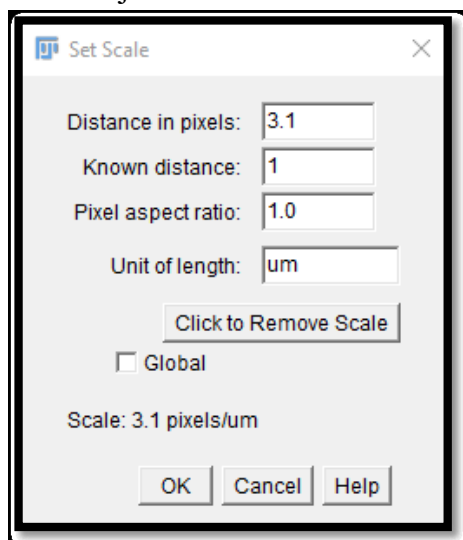
A barra de escala da imagem obtida pelo modo **Snapshot** só pode ser utilizada para calibrar imagens obtidas pelos modos **Extract** e **Export**, se o zoom escolhido para exportar a imagem for de 100%.

4.1 Calibrando escala no FIJI/ImageJ

Na barra superior clique em:

- **Analyze**
- **Set Scale...**

Abrirá a janela **Set Scale**:



Na janela **Distance in pixels**: insira o valor da tabela assim de acordo com a objetiva que a imagem foi capturada.

Na janela **Known distance**: insira o valor igual a 1

Na janela **Unit of length**: mude a unidade para micrômetros, micros ou a sigla μ m (com u).

Para calibrar várias imagens selecione **Global**.

Clique ok e pronto, o FIJI esta calibrado.

Confira no canto superior esquerdo da janela onde a imagem está aberta, se o tamanho da imagem em pixel mudou para μ m.

