



Thème 03 - Les outils de base 2

Une des raisons pour lesquelles ImageJ est populaire est sa facilité d'extension par des macros, scripts ou plugins. Dans cette partie, vous apprendrez à utiliser et à enregistrer des macros, la façon de traiter des images par lots, comment installer et utiliser de nouveaux plugins, comment utiliser des ensemble d'outils et comment travailler avec des images 3D.

Exercice 3.1: Utilisation des macros

Nous allons utiliser une macro à partir du site Web d'ImageJ. La macro *ROI_Color_Coder.ijm* permet de coder en couleur les contours des objets en fonction des paramètres mesurés (aire, intensité, périmètre, etc)

Ouvrez l'image *A4 1.tif DAPI* à partir du dossier *01 – opening images..* Utilisez le menu **Help>Macros...** . Recherchez la macro *ROI_Color_Coder.ijm* et faites la glisser sur la fenêtre ImageJ. La macro a besoins du ROI_manager avec les sélections et des mesures correspondantes dans les fenêtre *Results*. Codez les couleurs des noyaux par superficie. Essayez à nouveau un codage couleur par *Roundness*. Astuces: Utilisez **Macros>Run (ctrl-r)** dans la fenêtre d'édition de macro-pour exécuter la macro. Pour avoir la valeur de *Roundness*, cocher l'option *Shape Descriptors* dans le boîte de dialogue **Analyse>Set Measurements...**

Exercice 3.2: macros Enregistrement et traitement par lots

Avec l'aide de l'enregistreur de macros (**Plugins>Macros>Record...**) vous pouvez enregistrer les commandes que vous exécutez et créer une macro.

a) Sur l'image *A4 1.tif DAPI* exécuter certaines commandes (**Process>smooth**, **Process>find edges**, ...) pour les enregistrer avec l'enregistreur de macros. Appuyez sur le bouton *Create* pour créer la macro. Recharger l'image originale (**File> Revert ou ctrl - r**) et exécuter la macro dans la fenêtre d'édition de macro.

b) Enregistrer une macro pour mesurer les caractéristiques (surface, intensité moyenne, etc) des noyaux dans l'image *A4 dapi 1.tif* du dossier *03 - basic tools 02/in*. Elle doit comporter les étapes suivantes:

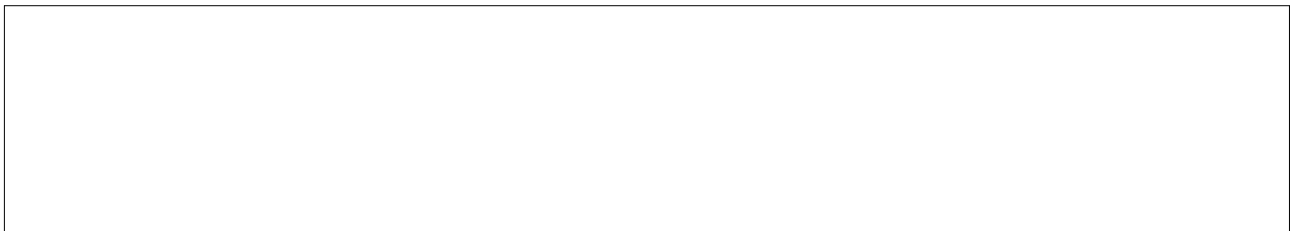
- définir les mesures que vous voulez avoir en résultat, cocher *Centroid*
 - fixer un seuillage automatique sur l'image
 - exécuter l'analyseur de particules (avec l'option *Display Results*)
 - exécutez la commande (**Analyser> Label**) pour voir quels objets ont été trouvés
- Appliquer la macro à toutes les images du dossier *03 - basic tools 02/in*, l'une après l'autre.

c) Exécuter la macro sur le dossier entier en utilisant **Process>Batch>Macro...** Copiez et collez la macro dans la fenêtre, sélectionnez le dossier d'entrée et le dossier de sortie et cliquer sur *Process*. Qu'est-ce que vous obtenez dans le dossier de sortie? Qu'est-ce que vous obtenez dans la fenêtre résultats?

Exercice 3.3: Utilisation des plugins

Les plugins sont des modules Java qui peuvent être utilisés pour ajouter des fonctionnalités à ImageJ. De nombreux plugins sont disponibles pour la microscopie.

- a) Installer le plugin SIOX partir du site Web ImageJ. Ouvrez la page de plugins **Help>Plugins**. Rechercher SIOX et cliquez sur le lien. Faites glisser le lien *siox.jar* sur la fenêtre ImageJ. Créer un sous-dossier 'segmentation' dans le dossier plugins et mettre le plugin dedans. Puis utiliser **Help>Refresh Menus**
- b) Ouvrir *Pot104Cycle0083.jpg* du dossier 03 - basic tools 02 et essayez d'utiliser le plugin SIOX pour segmenter la plante (la séparer du fond).
<http://fiji.sc/wiki/index.php/SIOX: Simple Interactive Object Extraction>
- c) Créer un masque en utilisant le plugin SIOX.
Du masque créer une sélection (**Edit>Selection>Create Selection, Edit>Selection>Make Inverse**). Mettre la sélection sur l'image originale (**Edit>Selection>Restore Selection**) afin de contrôler la qualité de la segmentation.
- d) Mesurer la superficie de la plante.



Exercice 3.4: Travailler avec des piles d'images 'Stacks'

Un stack peut représenter soit un volume (piles d'image en z) soit une série d'image dans le temps. Ouvrez l'exemple *t1-head.tif* à partir du dossier 03 - basic tools 02. Noter le curseur situé sous l'image. Vous pouvez l'utiliser pour sélectionner l'image visible de la pile. Le bouton de lecture et de pause à côté du curseur permettent de démarrer et d'arrêter l'animation de la pile. Un clic droit sur le même bouton ouvre la boîte de dialogue des options pour l'animation.

- a) Démarrer l'animation. Changer la vitesse d'animation.
- b) Essayez les commandes **Image>Stacks>z project, Image>Stacks>3d-project** (sélectionnez *Mean Value* comme type de projection) et faire un montage avec **Image>Stacks>Make Montage...**
- c) Faire une projection 3D autour de l'axe des x et une autour de l'axe des y en utilisant la valeur moyenne comme type de projection. Renommer les images résultantes, sinon elles auront le même nom, ce qui peut entraîner des problèmes. Essayez les commandes **Combine** et **Concatenate** du menu **Image>Stacks>Tools**. Astuce: - Pour concaténer les images doivent avoir la même taille en x et y. Vous pouvez ajuster la taille de l'image en utilisant **Image>Adjust>Canvas Size....**
- d) Essayez la visualisation 3D (**Plugins>3D>Volume Viewer**).
- e) Essayez **Plugins>3D>ImageJ 3D Viewer**. Régler *Resampling factor* à 1 et appuyez sur OK pour convertir en 8 bits. Tant que l'outil de défilement (la main) est sélectionné, vous pouvez faire tourner l'objet dans l'image. Vous pouvez effectuer un zoom avec l'outil loupe. Si vous perdez l'objet

View>Reset View dans la fenêtre de la visionneuse 3D.

Faire une sélection à main levée sur la tête. Sélectionnez l'objet dans le menu **Select**, puis **Edit>Fill Selection**. Tourner l'objet. Qu'est-il arrivé?

