



DERRIÈRE **LE BLOB**, LA RECHERCHE

#Blob**CNRS**

TUTORIEL D'ANALYSE D'IMAGES

Dans ce document vous allez apprendre comment faire une analyse d'image sur le logiciel ImageJ et obtenir des données pour l'analyse par machine learning qui sera faite par la suite.

Document mis à jour le 16 juillet 2022



Télécharger ImageJ

Téléchargez ImageJ ici <https://imagej.nih.gov/ij/download.html>

[home](#) | [news](#) | [docs](#) | [download](#) | [plugins](#) | [resources](#) | [list](#) | [links](#)

Download

Platform Independent

To install ImageJ on a computer with Java pre-installed, or to upgrade to the latest full distribution (including macros, plugins and LUTs), download the [ZIP archive](#) (6MB) and extract the ImageJ directory. Use the *Help>Update ImageJ* command to upgrade to newer versions.

Mac OS X

Download [ImageJ bundled with Java 1.8.0_172](#) (may need to work around Path Randomization). [Instructions](#). With M1 (ARM) Macs, download [ImageJ bundled with Zulu OpenJDK 13.0.6](#).

Linux

Download [ImageJ bundled with Java 1.8.0_172](#) (82MB). [Instructions](#).

Windows

Download [ImageJ bundled with 64-bit Java 1.8.0_172](#)(70MB). [Instructions](#).

Documentation

Tiago Ferreira's comprehensive [ImageJ User Guide](#) is available as an 8MB PDF document and as a [ZIP archive](#). The online [JavaDoc API documentation](#) is also available as a [ZIP archive](#).

Source Code

The ImageJ [Java source](#) consists of 132,000 lines of code in 348 files. It is available [online](#) and as [zip archives](#).

Example Images

[31 downloadable sample images and stacks](#) are available in ImageJ's *File>Open Samples* submenu. These images, and more, are also available as a [8.2MB zip archive](#).

You can also browse the ImageJ download directory at imagej.nih.gov/ij/download/. Newer ImageJ distributions are available at <http://wsr.imagej.net/distros/>. Refer to the [release notes](#) for a list of new features and bug fixes.

[top](#) | [home](#) | [news](#) | [docs](#) | [download](#) | [plugins](#) | [resources](#) | [list](#) | [links](#)

Choisissez la version appropriée selon votre système d'exploitation. Exemple pour un mac vous pouvez choisir Mac OS X, pour un PC Windows. (Si vous utilisez Linux vous n'avez pas besoin de précision 😊)

Installez le logiciel.

L'icône du logiciel est un microscope.

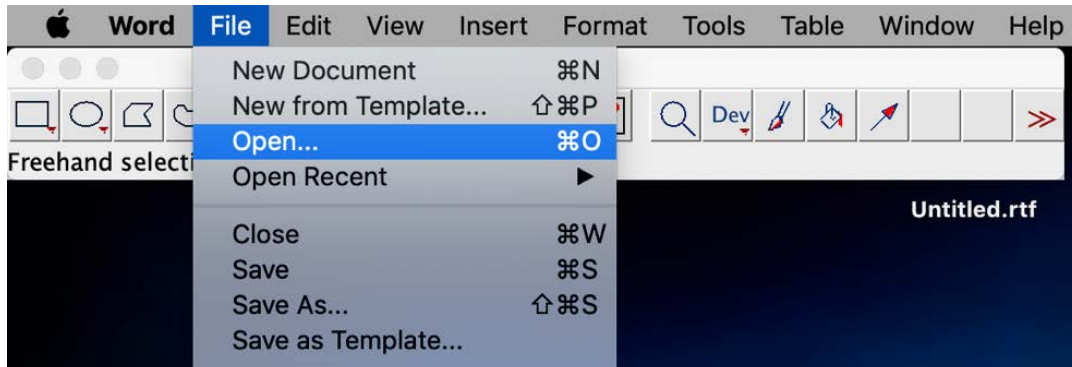


Lancez le logiciel et vous verrez apparaître cette barre d'outils :

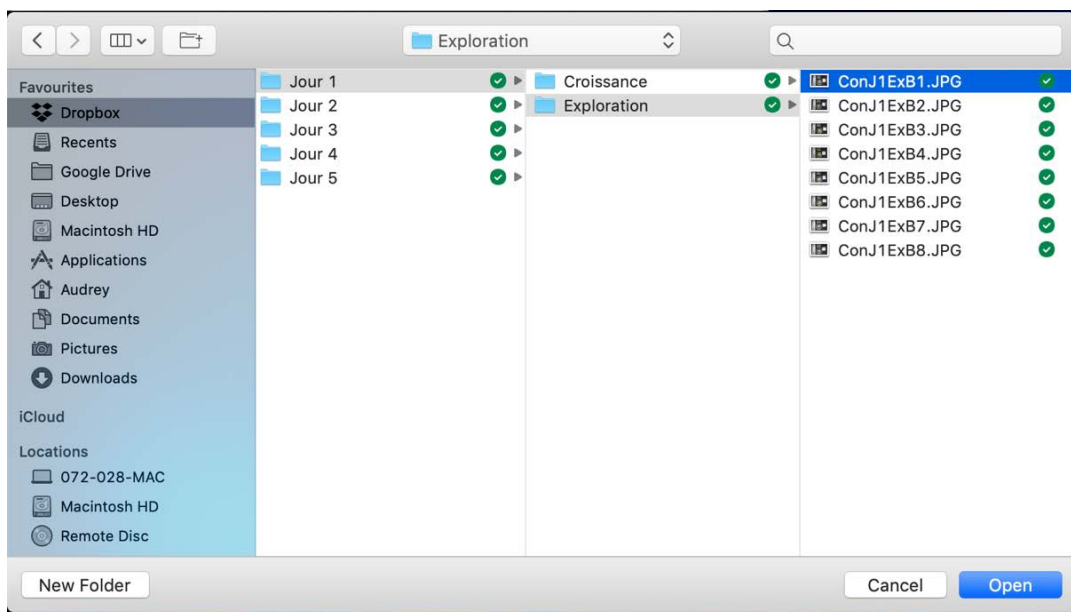


Ouvrir un fichier

Ouvrez une image : File -> Open

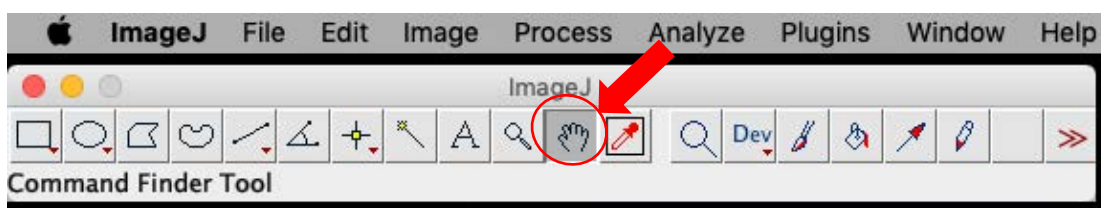


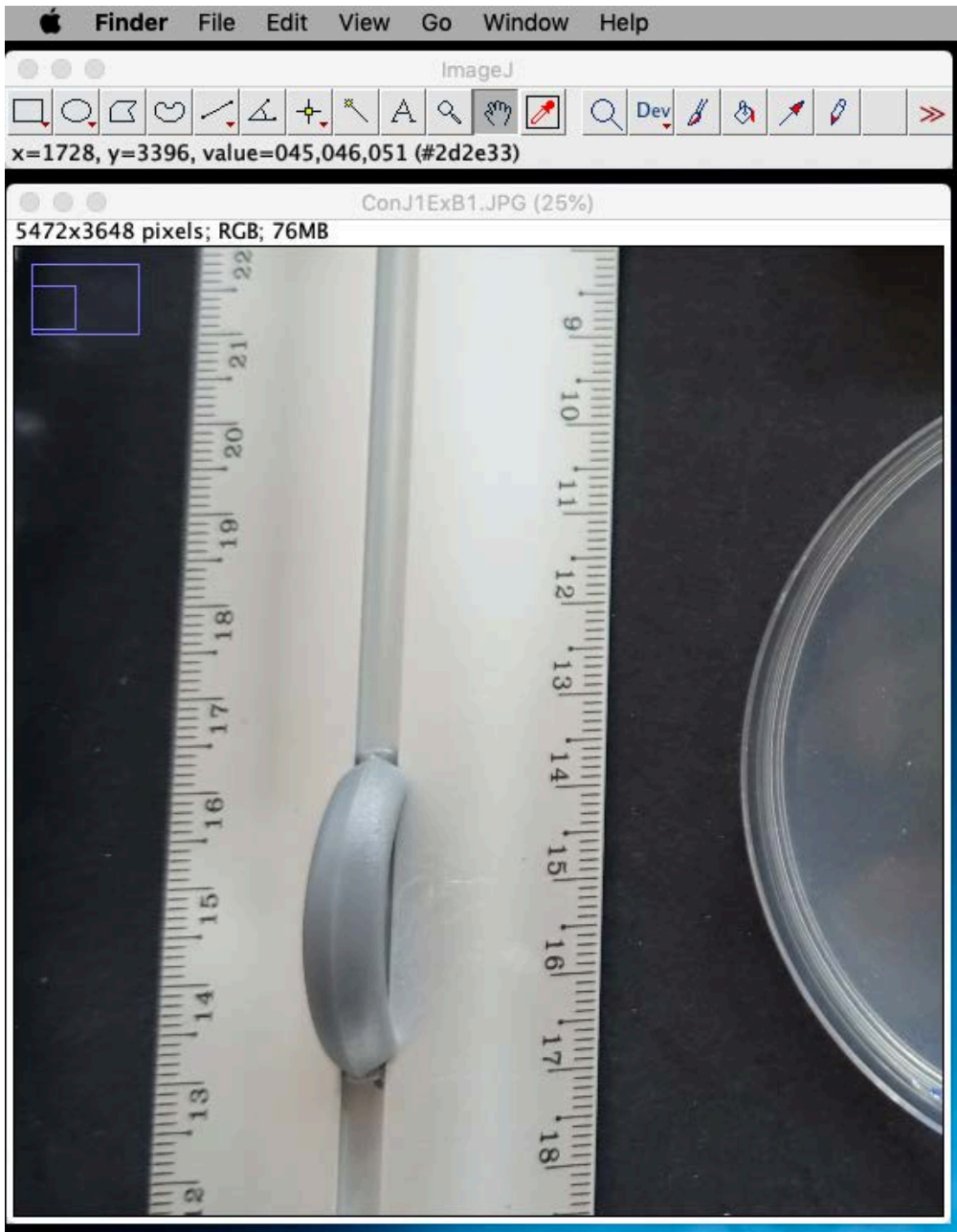
Sélectionnez le dossier où se trouve les photos et cliquez sur la première photo ConJ1ExB1.jpg (Contrôle, jour 1, Exploration, B1)
Cliquez sur **Open**



Définir l'échelle

Zoomez sur l'image (appuyez sur la touche « + » de votre clavier) afin que la règle (double décimètre ou autre) apparaisse plus grande. Vous pouvez vous déplacer dans l'image en utilisant la « main » dans la barre d'outils.

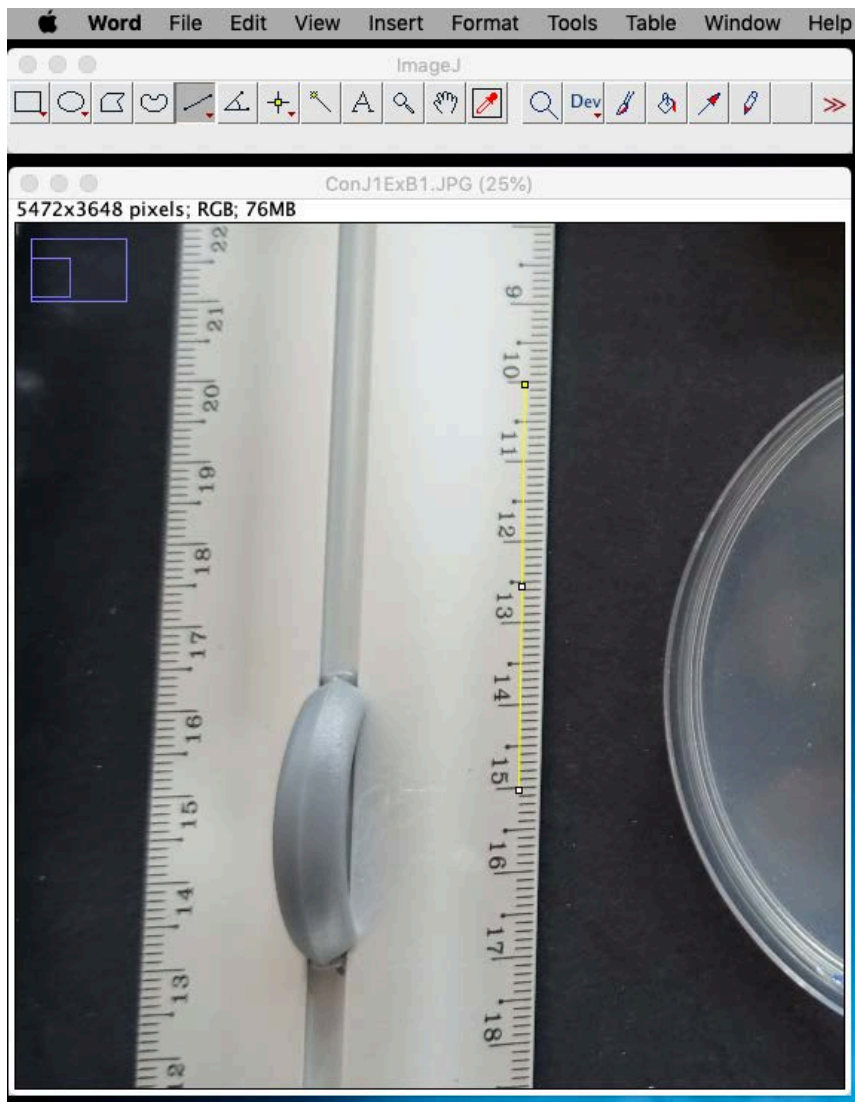




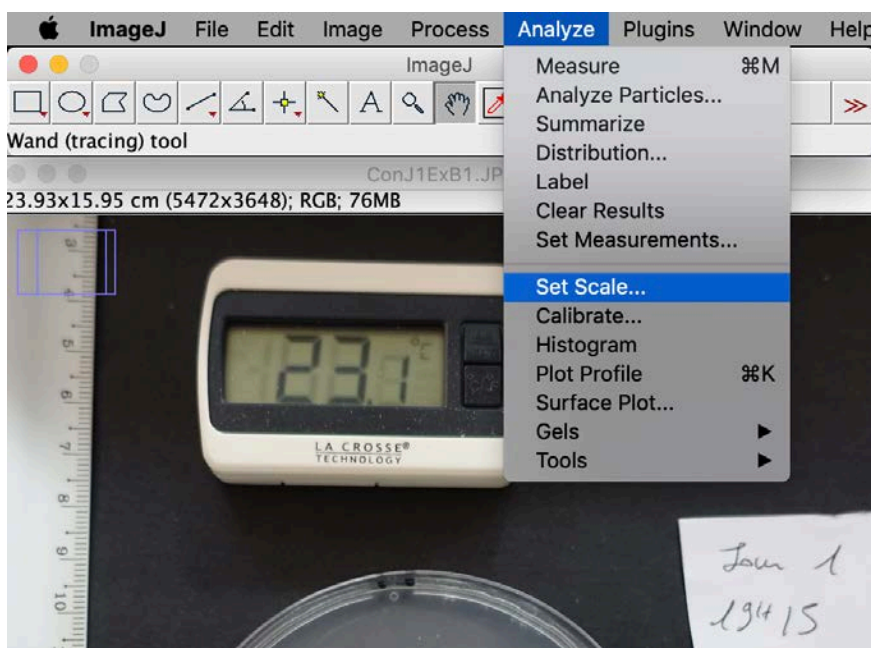
Pour définir l'échelle de votre image il vous faut tracer une droite avec l'outil ligne dans la barre d'outils (indiqué par la flèche rouge ci-dessous). Idéalement, il vous faut tracer la ligne directement sur le double décimètre, si vous l'avez oublié, tracez le diamètre de votre boîte de pétri qui est une distance connue.



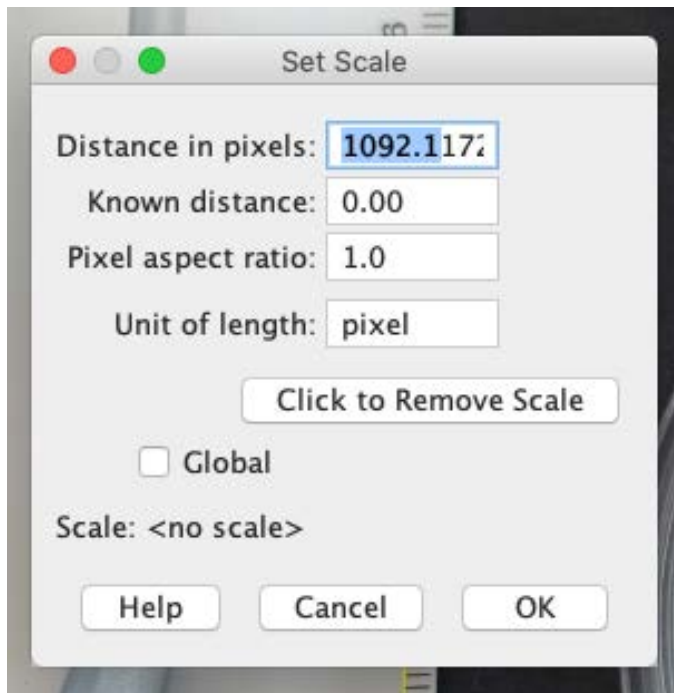
Pour tracer la ligne, cliquez sur l'image et maintenez appuyé jusqu'à atteindre la distance souhaitée (ici 5cm sur la photo).



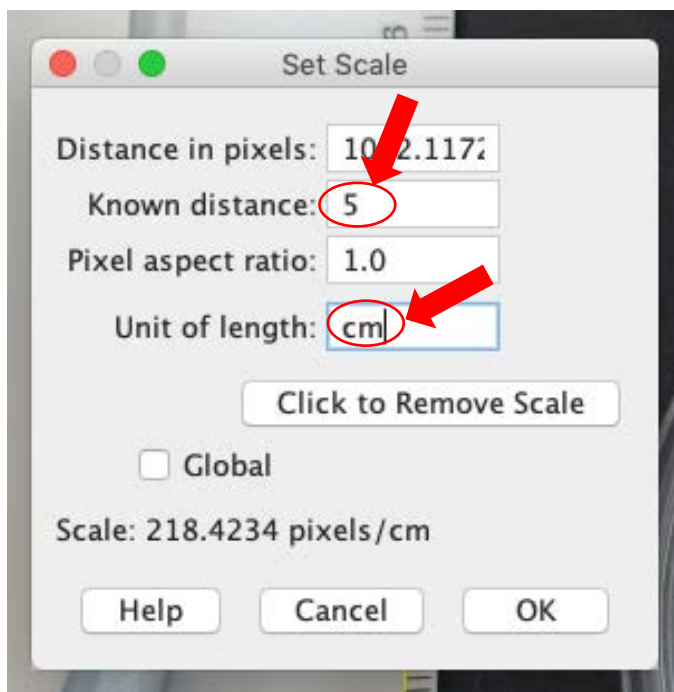
Une fois la ligne tracée allez sur : Analyse -> Set Scale



Vous allez voir une fenêtre s'ouvrir



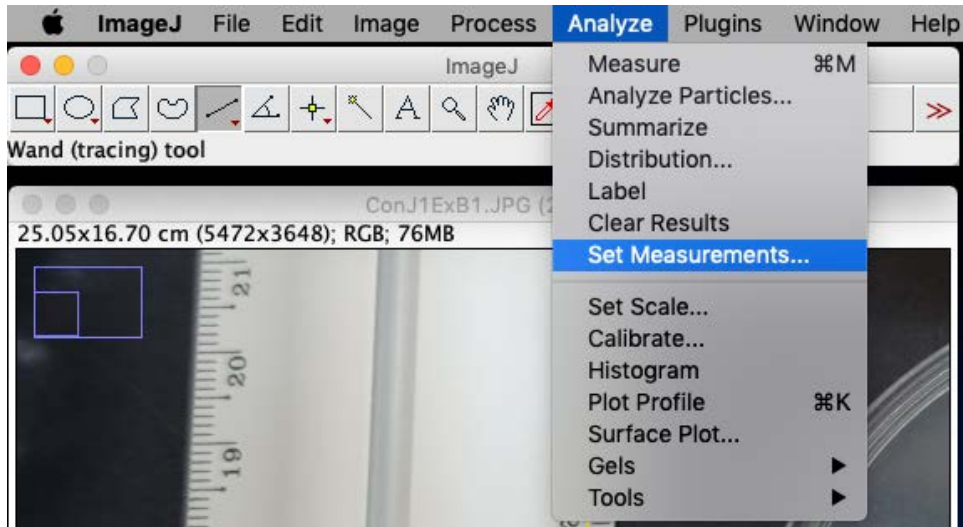
Vous devez entrer la distance réelle (**Known distance**), ici **5cm** (cela peut être n'importe quelle distance), et l'unité dans laquelle cette distance est indiquée (**unit of length**), ici **cm** (**ne mettez pas autre chose que cm afin d'uniformiser les données récoltées**). Cliquez sur **OK**



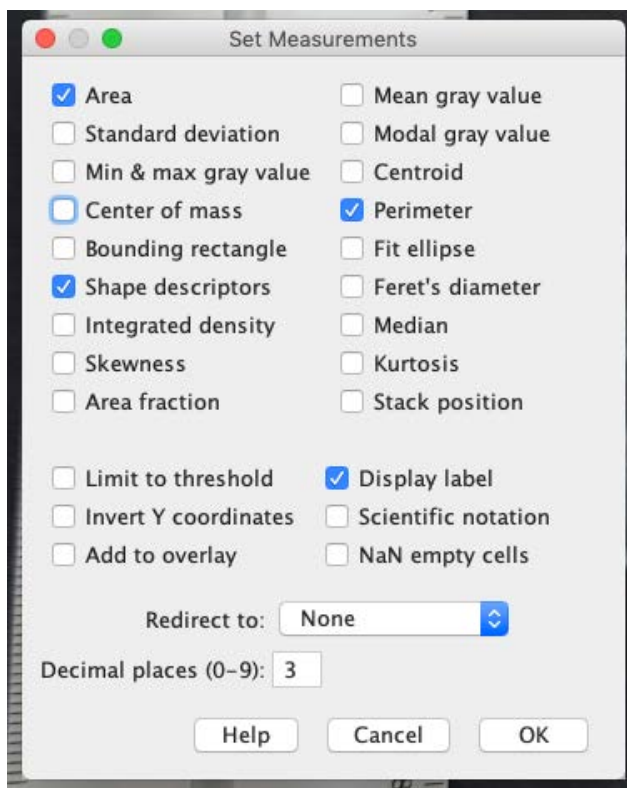
Si jamais vous n'avez pas mis de double décimètre, pas de panique, utilisez-le diamètre de la boîte et reportez sa distance en centimètre dans « Known distance ».

Mesurer les paramètres

Allez sur : Analyse -> Set Measurements



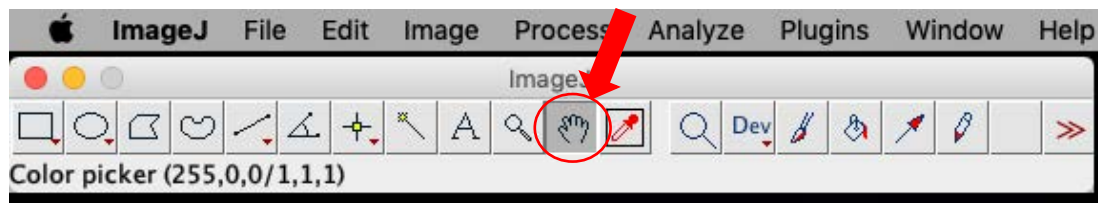
Une fenêtre s'ouvre, vous offrant de nombreuses options, sélectionnez l'option « **area** » (aire), l'option « **perimeter** » (périmètre), l'option « **shape descriptors** » (descripteur de forme) et « **display label** » (indiquer le nom de l'image), enlevez toutes les autres options présélectionnées et cliquez sur **OK**.



Une fois que vous avez défini les paramètres que vous souhaitez mesurer il faut indiquer au logiciel où est le blob. Deux solutions pour cela.

Dessinez à la main

Tout d'abord, déplacez-vous dans l'image en utilisant la « main » dans le menu afin que le blob apparaisse au centre de l'image

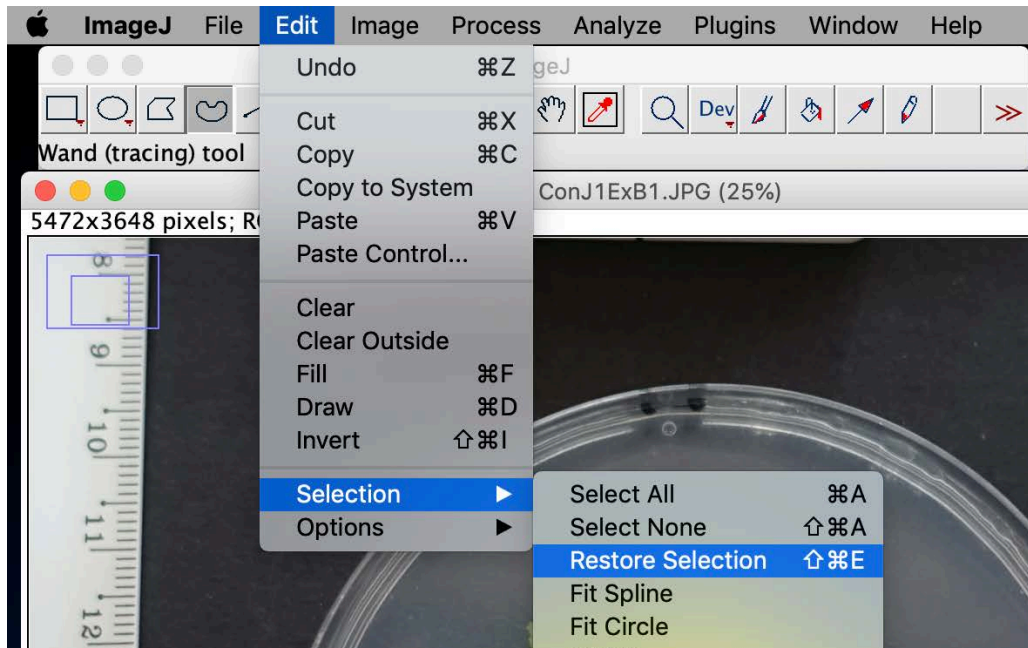


Dessinez le blob à la main (lorsque vos images sont mal contrastées ou floues). Pour cela sélectionnez l'outil « **freehand selection** » (voir flèche rouge ci-dessous) et dessinez à main levée le contour du blob. Utilisez la souris, le touchpad ou un stylet. Cliquez et maintenez appuyé tout au long du contour.

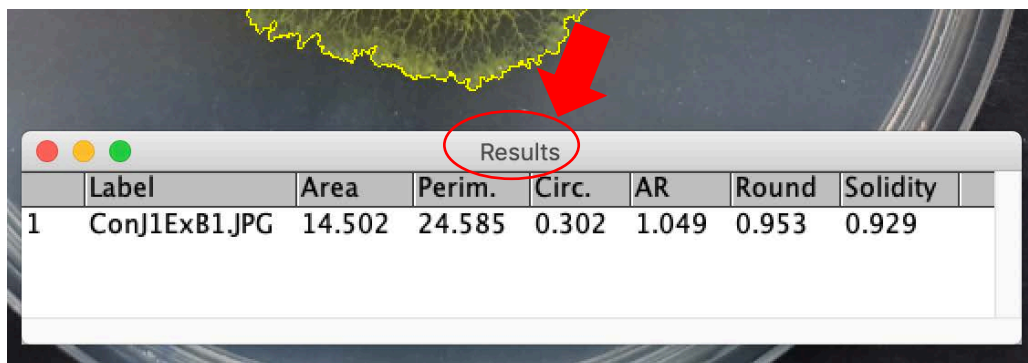


Si vous n'êtes pas satisfait de la forme dessinée, vous pouvez ajouter des contours pour cela maintenez la touche **shift** (**maj** pour Mac) appuyée et ajoutez des contours en cliquant sur la souris (maintenez le clic). Pour retirer des contours, maintenez la touche **Alt** appuyée et rognez les contours en cliquant sur la souris (maintenez le clic)

Si vous ne maintenez pas le clic appuyé et que le contour disparaît, pas de panique
Allez sur Edit-> Selection -> Restore selection.



Une fois le contour terminé, appuyez sur la touche **M** de votre clavier, vous allez voir une fenêtre apparaître qui va vous donner les paramètres recherchés.



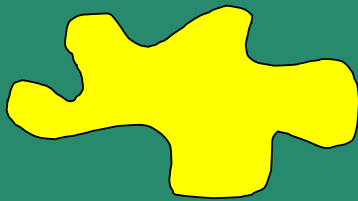
Si vous faites une erreur et appuyez sur **M** par inadvertance, vous pouvez supprimer une ligne. Pour cela cliquez sur la ligne en question et appuyez sur « suppr » ou « delte » sur votre ordinateur.

Une fois que vous avez appuyé sur **M**, **ne cliquez pas sur l'image pour ne pas supprimer le contour que vous avez dessiné.**

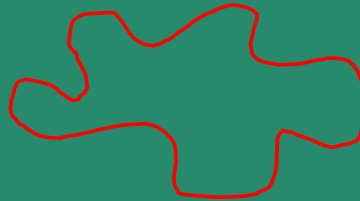
Si cela arrive, pas de panique ! (voir section précédente).
Allez sur Edit-> Selection -> Restore selection.

Pour info, les paramètres de morphologie donnés par image J sont :

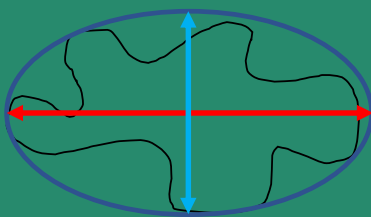
- **L'aire** : la surface couverte par le blob, quand le blob explore il s'étire et son aire augmente
- **Le périmètre** : la longueur du contour du blob, lorsque le blob forme des pseudopodes son périmètre augmente.
- **La Circularité** : Une valeur de 1 indiquant un cercle parfait. Lorsque la valeur s'approche de 0 elle indique une forme non circulaire. **Formule $4\pi \times [\text{Aire}] / [\text{Périmètre}]^2$**
- **Le AR ratio Ellipse** : Le ratio entre l'axe le plus grand et l'axe le plus petit d'une ellipse qui contiendrait le blob (voir figure ci-dessous). Formule : **$[\text{Axe le plus grand}] / [\text{Axe le plus petit}]$** . Lorsque le rapport est de 1 le blob peut être contenu dans un cercle (mais cela ne veut pas dire qu'il est circulaire !). Lorsqu'il est supérieur à 1 cela indique que le blob est de forme allongée.
- **La rondeur** : $4 \times \text{aire} / (\pi \times \text{Axe le plus grand}^2)$, ou l'inverse du AR ratio Ellipse.
- **La solidité** : Rapport de l'aire du blob sur l'aire de son enveloppe convexe. L'enveloppe convexe du blob correspond au plus petit domaine convexe contenant entièrement le blob, formule : **$[\text{Aire du blob}] / [\text{Aire Convexe}]$** (aire du blob en jaune / aire convexe en vert). Cet indice s'il est proche de la valeur 1 nous indique que le blob est compact et s'il est proche de 0 cela indique un blob extrêmement digité





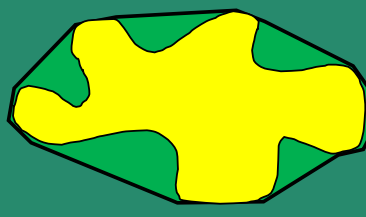
 Aire du blob





 Périmètre du blob



 Plus petit axe de l'ellipse
 Plus grand axe de l'ellipse



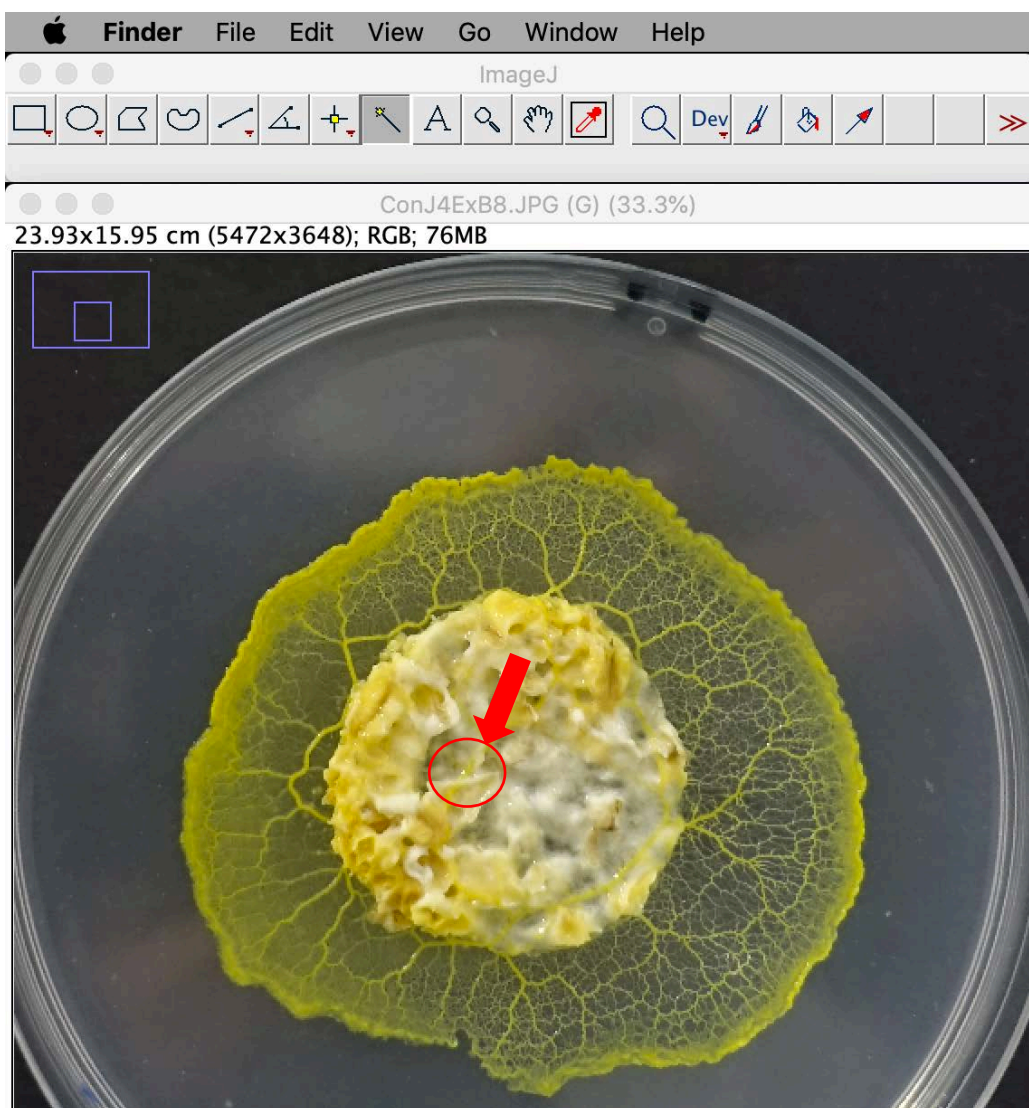
 Aire convexe
 Aire du blob

Baguette magique

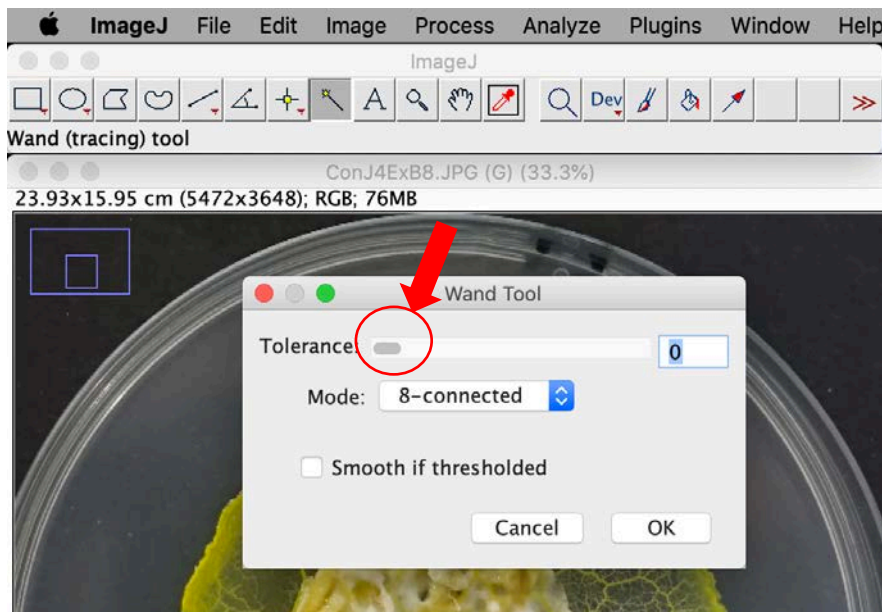
Si vous avez des images bien contrastées et de bonne qualité, vous pouvez utiliser l'outil baguette magique (indiqué par la flèche rouge ci-dessous).



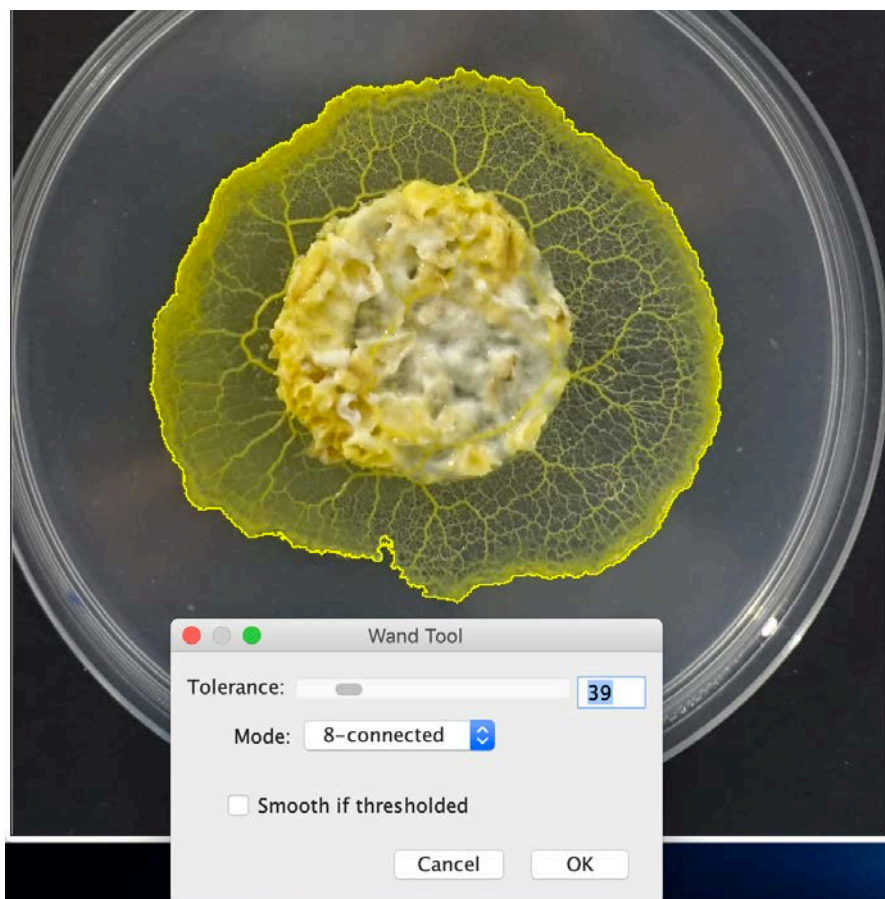
Cliquez sur le blob, vous allez voir que le blob n'est pas sélectionné, on voit juste un point jaune (indiqué par la flèche rouge ci-dessous)



Il vous faut alors modifier la sensibilité de la baguette. Pour cela double-cliquez sur l'outil baguette et vous allez voir une fenêtre apparaître qui vous permettra de modifier la sensibilité de la baguette (« Tolerance »). Faites bouger la barre grise (indiquée par la flèche rouge ci-dessous)



En modifiant la « **tolerance** » vous constaterez que l'outil sera parfois capable de délimiter le blob entièrement.



Une fois que vous avez délimité le blob appuyez sur **M**, **ne cliquez pas sur l'image pour ne pas supprimer le contour que vous avez dessiné.**

Si cela arrive, pas de panique !

Allez sur Edit-> Selection -> Restore sélection (voir section précédente).

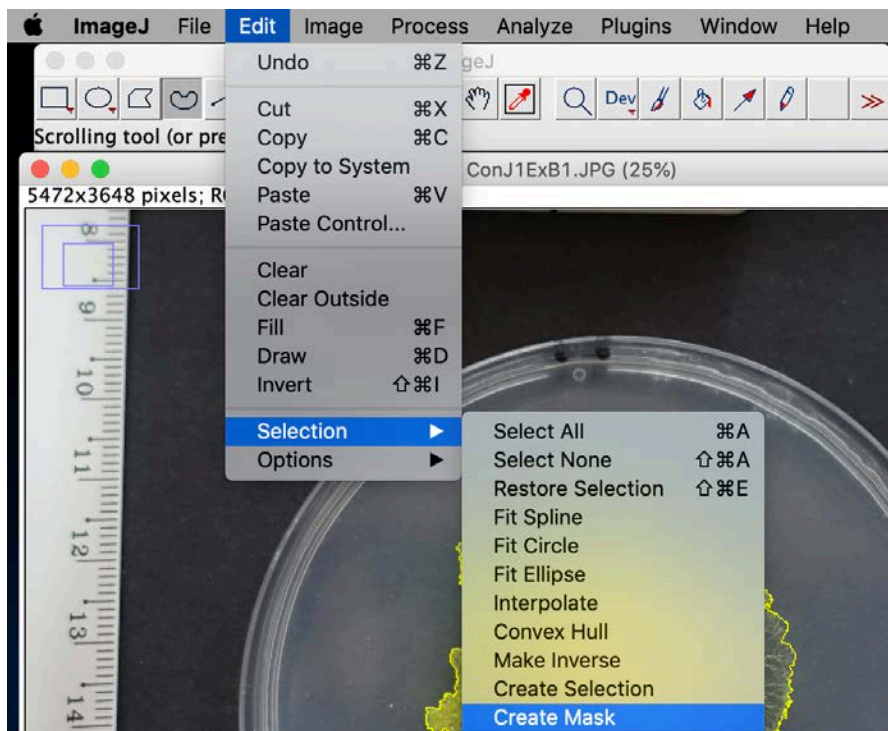
Données pour le Machine Learning

Les mesures enregistrées précédemment vont nous aider à avoir des premiers résultats. Toutefois, analyser toutes les données ainsi est un travail de titan. C'est pourquoi nous allons aussi faire appel au **machine learning**. Mais pour cela nous avons besoin d'analyser un certain nombre d'images à la main.

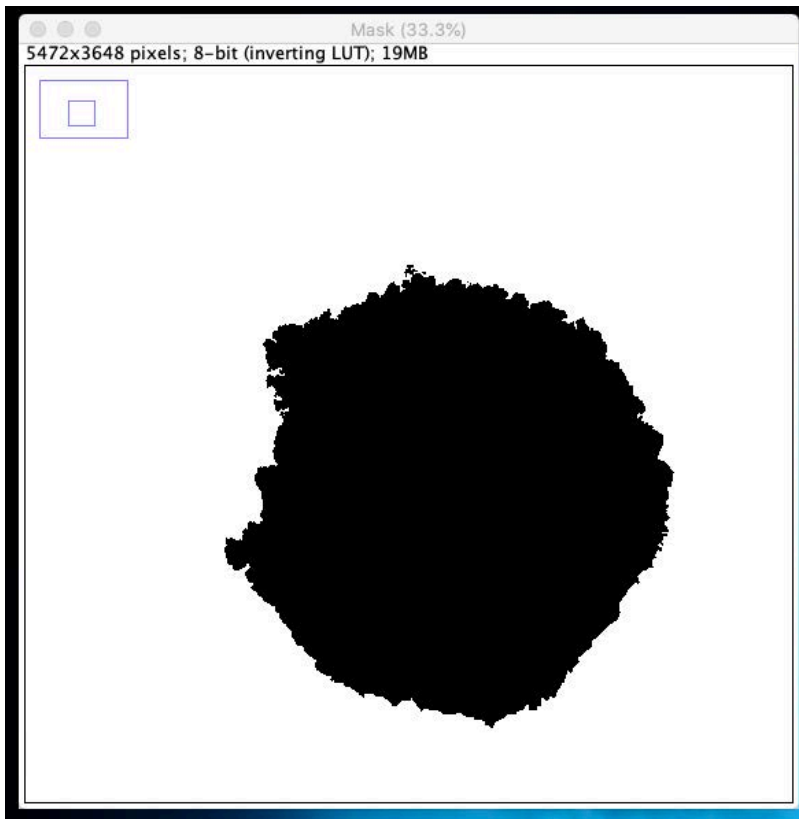
Le Machine Learning ou apprentissage automatique consiste à laisser des algorithmes découvrir des "patterns", à savoir des motifs récurrents, dans des ensembles de données. Ces données peuvent être des chiffres, des mots, des images, des statistiques... Ici on souhaite que les algorithmes reconnaissent automatiquement le blob dans une image. Pour entraîner les algorithmes de Machine Learning on a besoin d'indiquer à la machine où est le blob sur une série d'images. Les algorithmes de Machine Learning apprennent de manière autonome à effectuer une tâche (ici reconnaître un blob sur une image) et à réaliser des prédictions à partir de données entrées par l'utilisateur et améliorent leurs performances au fil du temps. Une fois entraîné, l'algorithme pourra retrouver les blobs dans des images nouvelles. Les données que l'on doit donner aux algorithmes sont la position des blobs et de la boîte de pétri sur l'image. Pour cela on génère des masques et on enregistre les coordonnées des blobs et des boîtes de pétri.

Enregistrer le « masque »

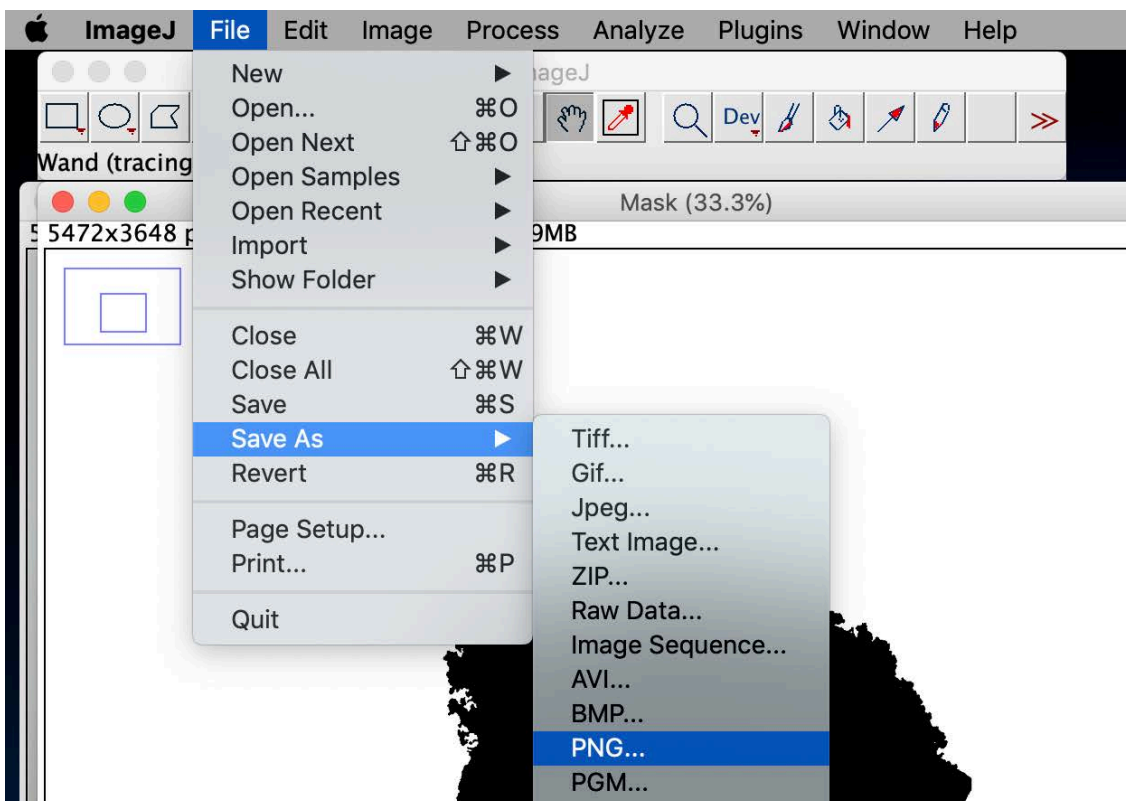
A partir du contour du blob que vous avez dessiné on va créer un masque.
Allez sur : Edit -> Selection -> Create Mask



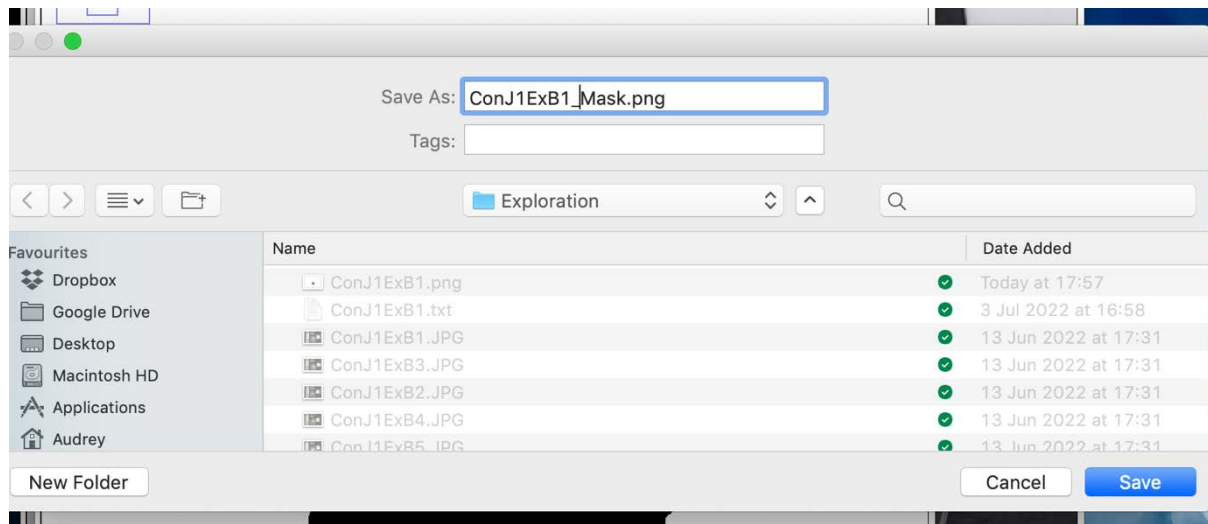
Une nouvelle image en noir et blanc apparaît



Enregistrez cette image au format PNG dans le dossier d'origine
File -> Save as -> PNG



Appelez le masque **ConJ1ExB1_Mask.png**



Une fois que le masque est sauvegardé fermer le fichier masque (l'image en noir et blanc), **ne cliquez pas sur l'image originale (la photo) pour ne pas supprimer le contour que vous avez dessiné.**

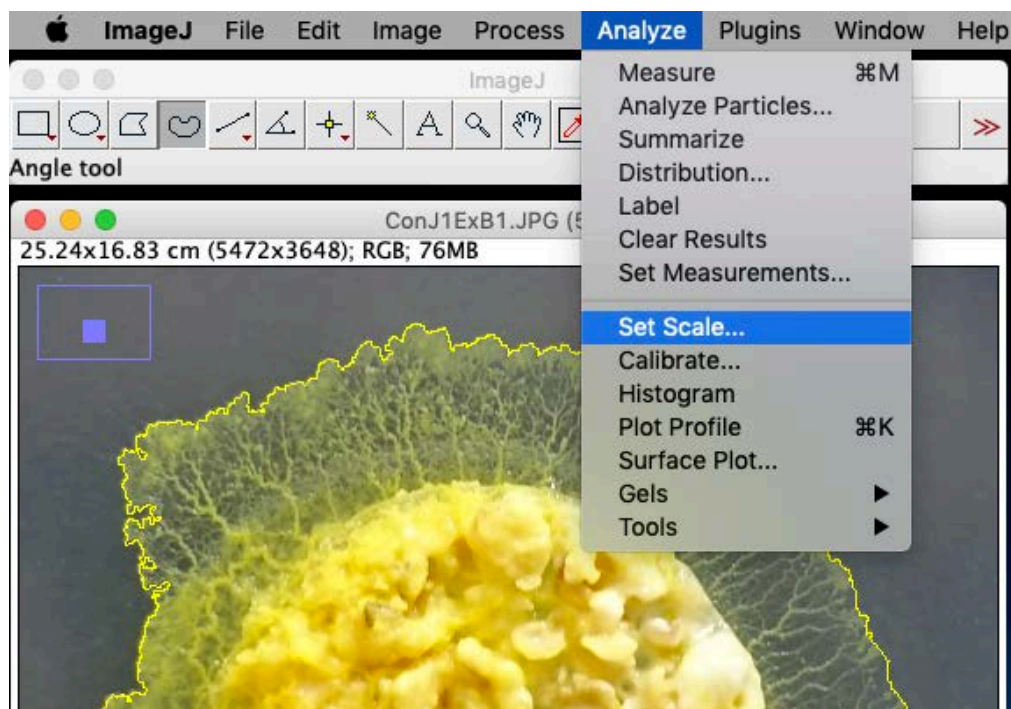
Si cela arrive, pas de panique !

Allez sur Edit-> Selection -> Restore sélection (voir section précédente).

Coordonnées X Y du blob

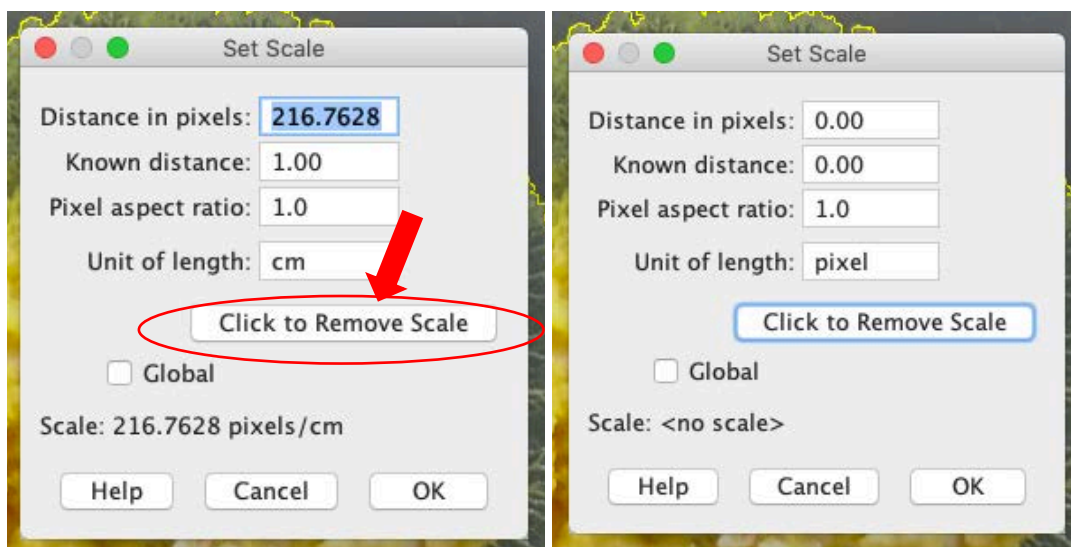
Un fois le masque créé on va enregistrer les coordonnées spatiales du blob. Pour cela, vous allez retirer l'échelle car il nous faut les coordonnées en pixel (tous les participants n'auront pas des images de même échelle).

Allez sur : Analyse -> Set Scale

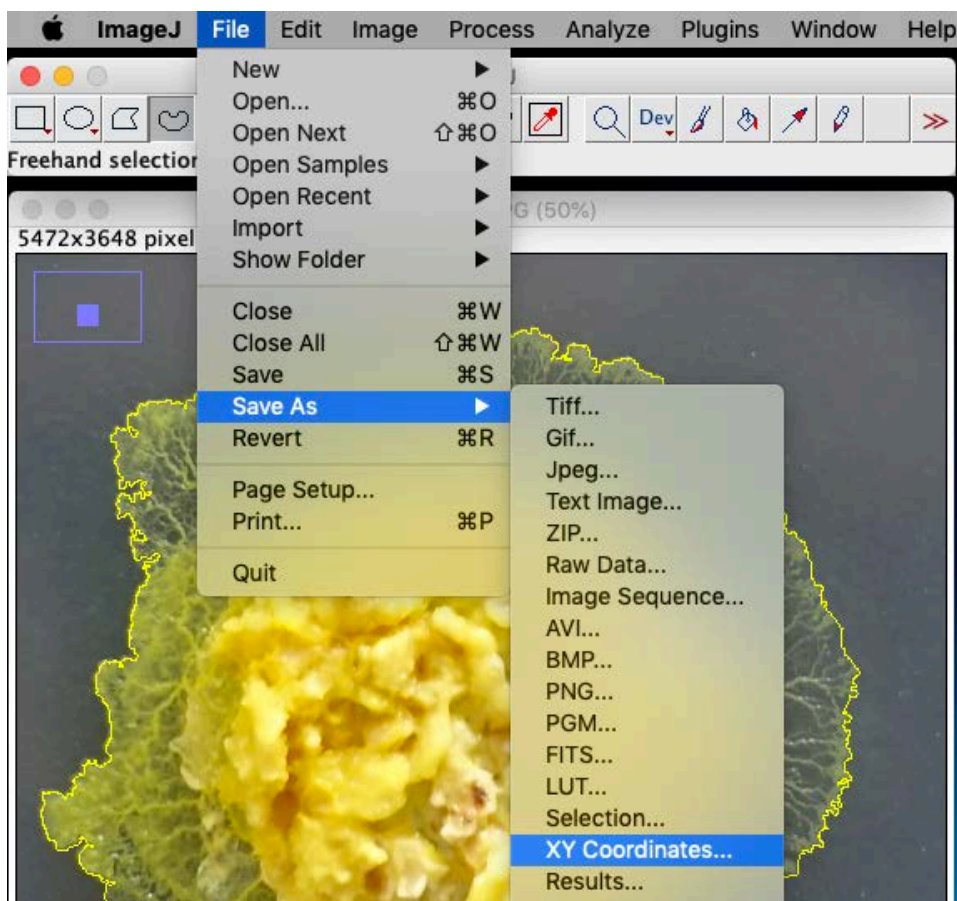


Cliquez sur « **Click to remove scale** » (retirer l'échelle) et

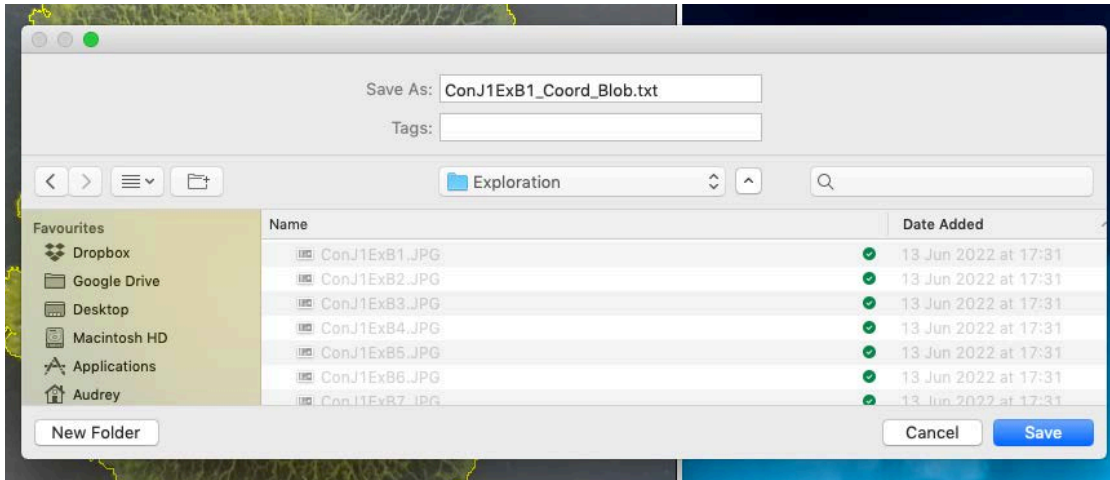
Vous devez voir apparaître la fenêtre avec **known distance** = 0 et **unit of length** = pixel



Allez sur : File -> Save As -> XY Coordinates

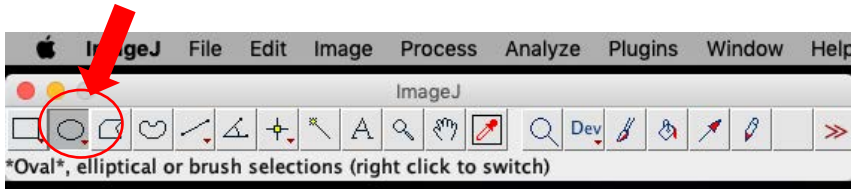


Sauvegardez le fichier dans le dossier d'origine, sous le nom **ConJ1ExB1_Coord_Blob.txt**



Coordonnées X Y de la boîte

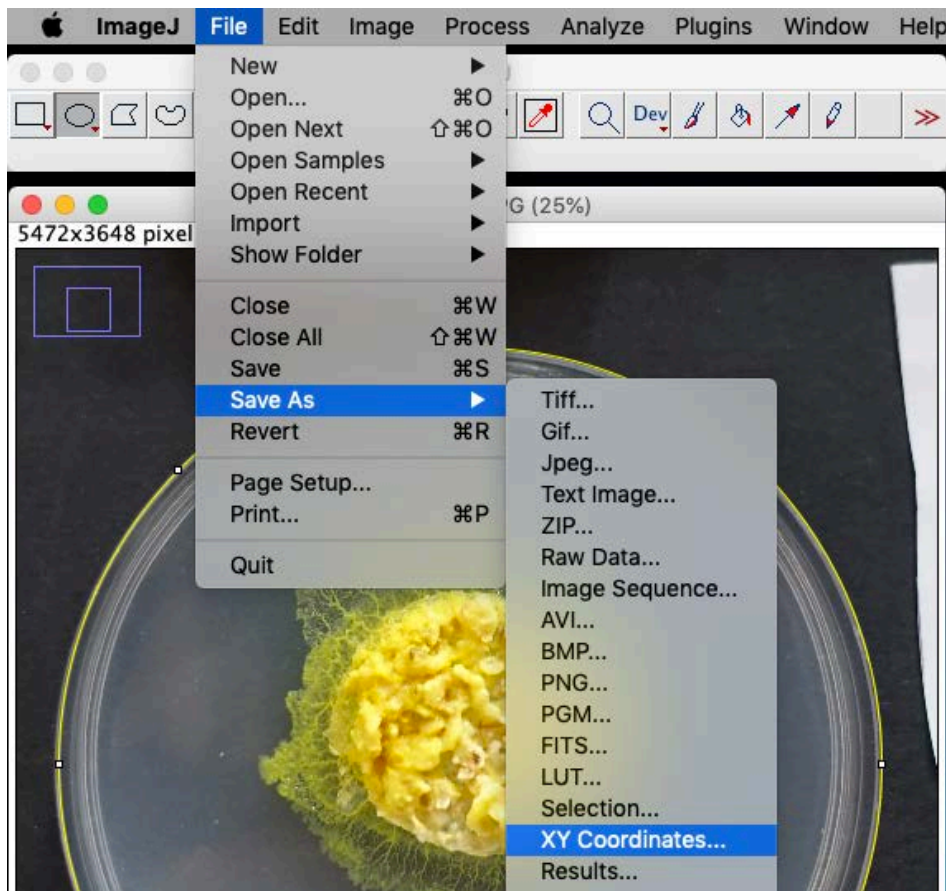
Sélectionnez maintenant l'outil "oval"



Tracez le contour de la boîte, pour cela cliquez sur le bord de la boîte et tout en restant appuyé sur le cercle étendez la sélection. Pour ajuster la taille du cercle à la taille de la boîte cliquez sur les petits carrés blancs autour du cercle. Faites de multiple ajustements jusqu'à ce que le cercle adopte parfaitement le contour de la boîte.



Allez sur : File -> Save As -> XY Coordinates



Sauvegardez le fichier dans le dossier d'origine, écrire le nom **ConJ1ExB1_Coord_Boite.txt**

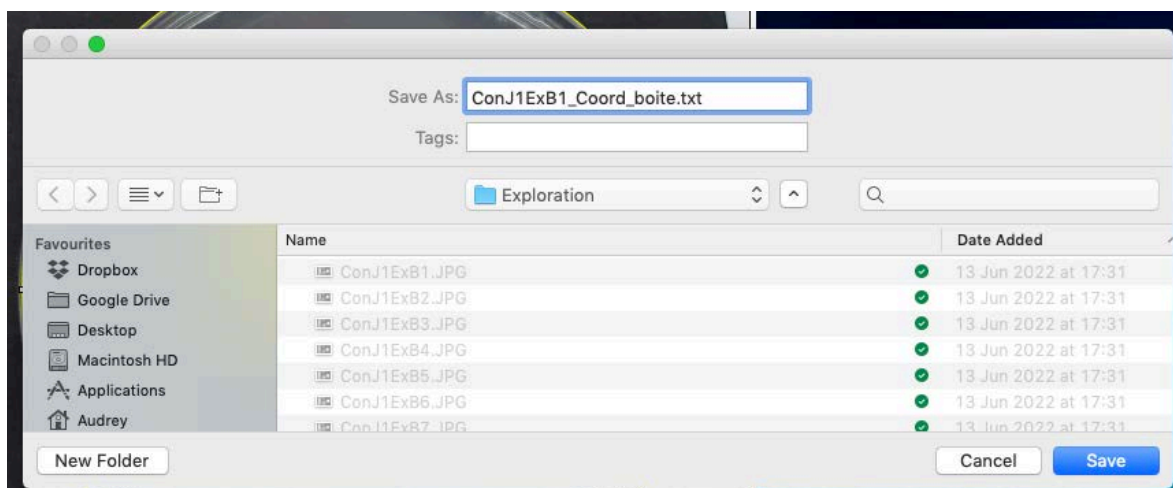
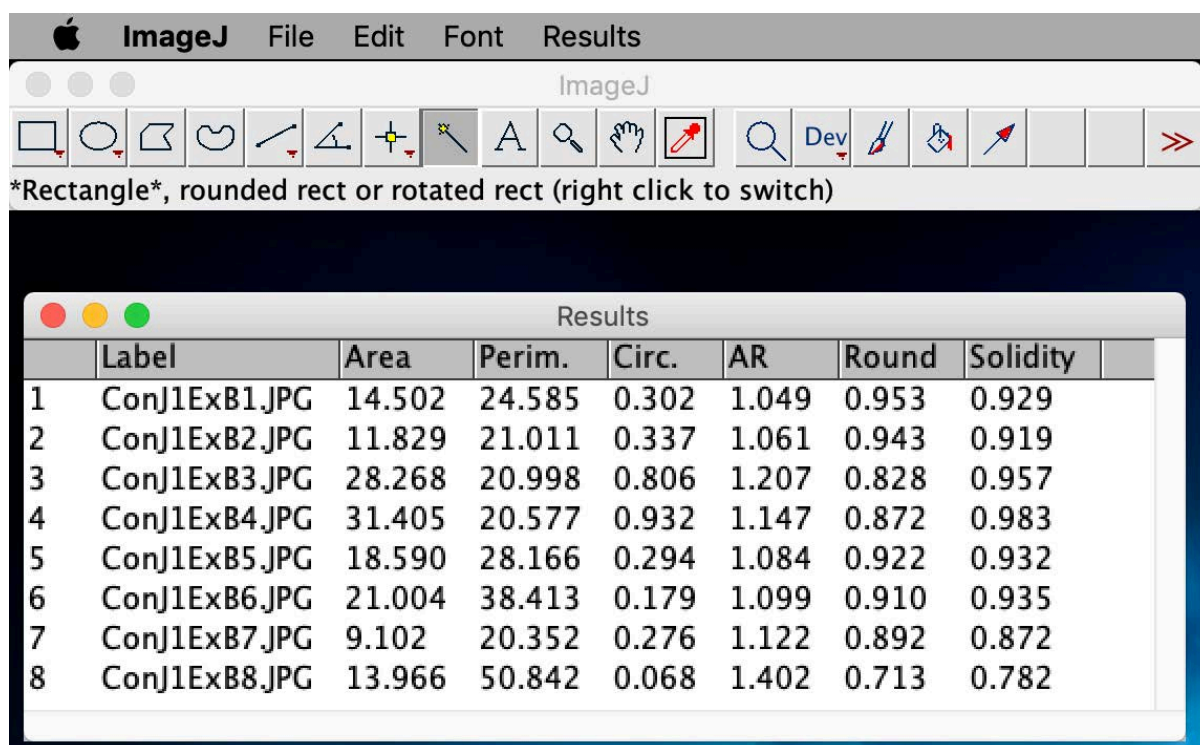


Image suivante

Une fois le masque et les coordonnées du blob et de la boîte sauvegardés, fermez le fichier image ConJ1ExB1.jpg (ne sauvegarder pas les changements sur l'image), ne fermez pas le tableau « results ». Ouvrez à l'image suivante ConJ1ExB2.jpg et faites à nouveau toutes ces opérations.

Sauvegarder les données

Quand vous avez terminé les 8 images de l'expérience exploration du Jour 1
Sauvegardez le tableau de résultats

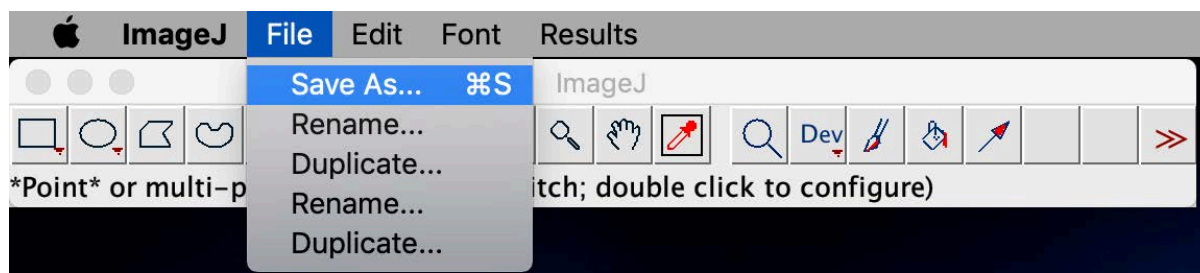


The screenshot shows the ImageJ interface with the Results window open. The Results window contains a table with the following data:

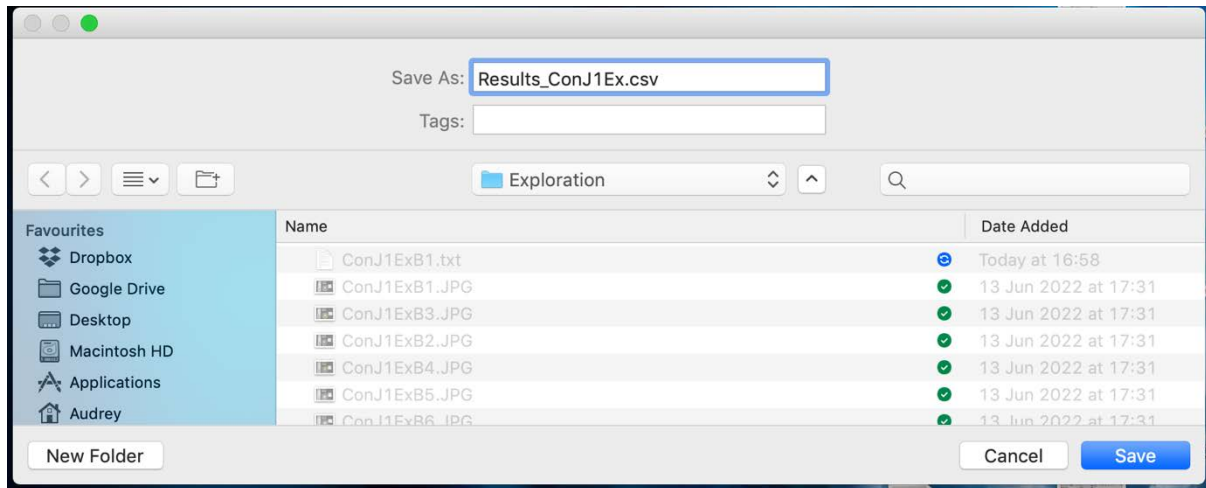
	Label	Area	Perim.	Circ.	AR	Round	Solidity
1	ConJ1ExB1.JPG	14.502	24.585	0.302	1.049	0.953	0.929
2	ConJ1ExB2.JPG	11.829	21.011	0.337	1.061	0.943	0.919
3	ConJ1ExB3.JPG	28.268	20.998	0.806	1.207	0.828	0.957
4	ConJ1ExB4.JPG	31.405	20.577	0.932	1.147	0.872	0.983
5	ConJ1ExB5.JPG	18.590	28.166	0.294	1.084	0.922	0.932
6	ConJ1ExB6.JPG	21.004	38.413	0.179	1.099	0.910	0.935
7	ConJ1ExB7.JPG	9.102	20.352	0.276	1.122	0.892	0.872
8	ConJ1ExB8.JPG	13.966	50.842	0.068	1.402	0.713	0.782

Cliquez sur le tableau et Allez sur File -> Save As

Nommez le tableau **Results_ConJ1Ex.csv** (Groupe Contrôle, Jour 1, Expérience Exploration)



The screenshot shows the ImageJ interface with the File menu open. The 'Save As...' option is highlighted, and the keyboard shortcut ⌘S is visible. The menu also shows 'Rename...' and 'Duplicate...' options.



Donc pour le jour 1 vous devriez avoir les fichiers :

ConJ1ExB1_Mask.png
 ConJ1ExB1_Coord_Blob.txt
 ConJ1ExB1_Coord_Boite.txt
 ConJ1ExB2_Mask.png
 ConJ1ExB2_Coord_Blob.txt
 ConJ1ExB2_Coord_Boite.txt
 ConJ1ExB3_Mask.png
 ConJ1ExB3_Coord_Blob.txt
 ConJ1ExB3_Coord_Boite.txt
 ConJ1ExB4_Mask.png
 ConJ1ExB4_Coord_Blob.txt
 ConJ1ExB4_Coord_Boite.txt
 ConJ1ExB5_Mask.png
 ConJ1ExB5_Coord_Blob.txt
 ConJ1ExB5_Coord_Boite.txt
 ConJ1ExB6_Mask.png
 ConJ1ExB6_Coord_Blob.txt
 ConJ1ExB6_Coord_Boite.txt
 ConJ1ExB7_Mask.png
 ConJ1ExB7_Coord_Blob.txt
 ConJ1ExB7_Coord_Boite.txt
 ConJ1ExB8_Mask.png
 ConJ1ExB8_Coord_Blob.txt
 ConJ1ExB8_Coord_Boite.txt
Results_ConJ1Ex.csv

Jour suivant

Une fois les résultats du jour 1 sauvegardé, fermez le tableau, vous pouvez ensuite attaquer le Jour 2 et ainsi de suite avec le groupe expérimental et le groupe contrôle.

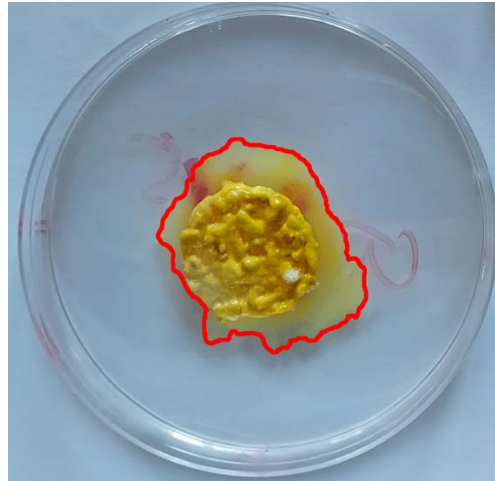
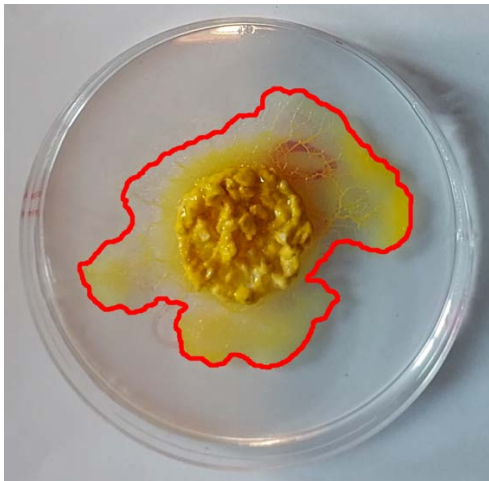
Expérience croissance

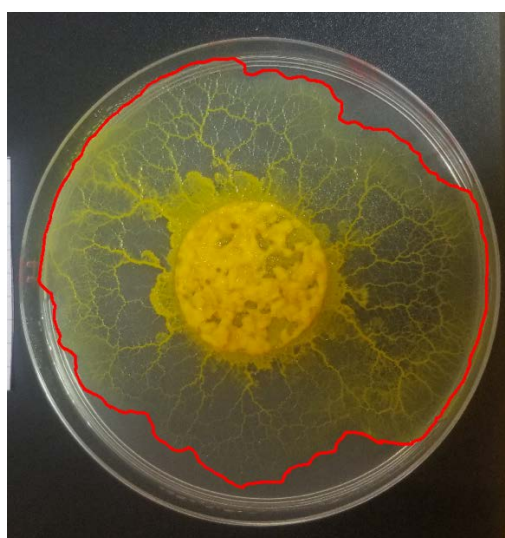
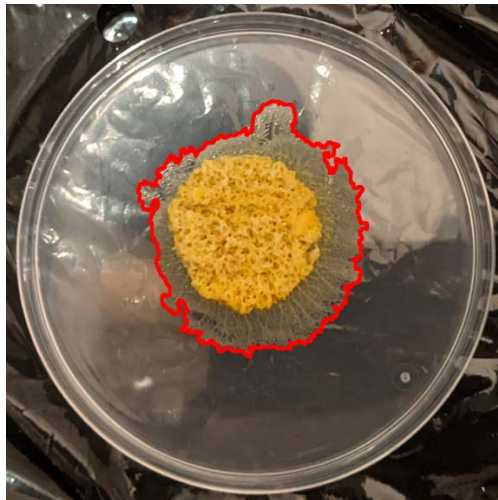
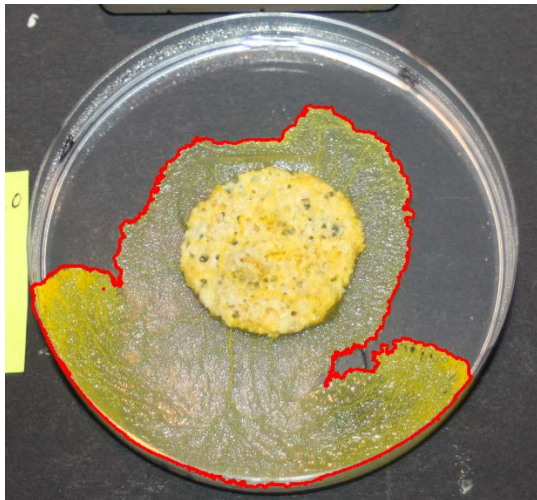
Une fois l'expérience exploration analysée faite de même avec l'expérience croissance

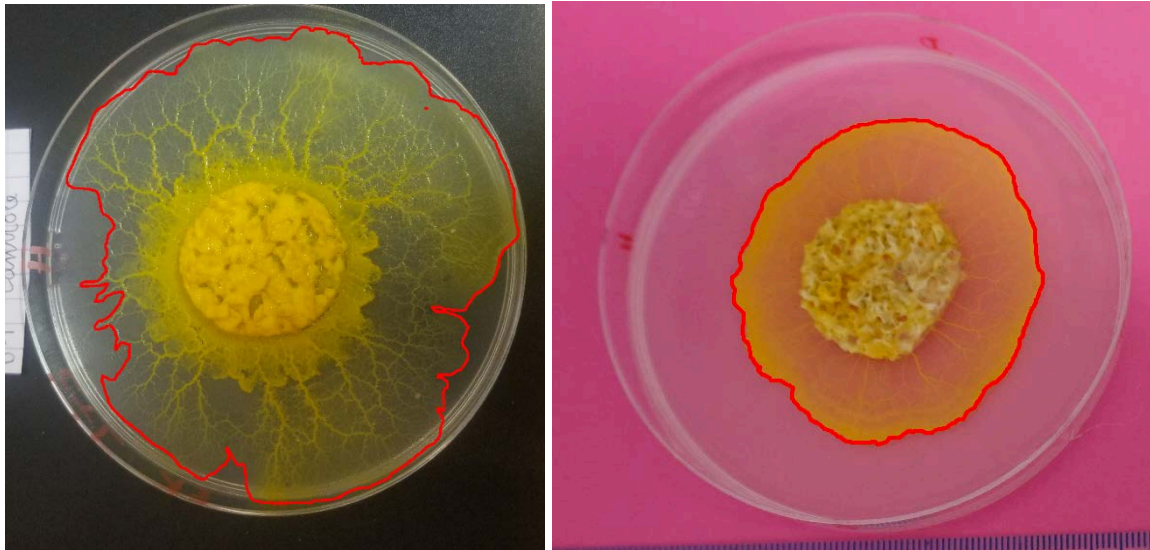
Exemple de contours pour expérience croissance



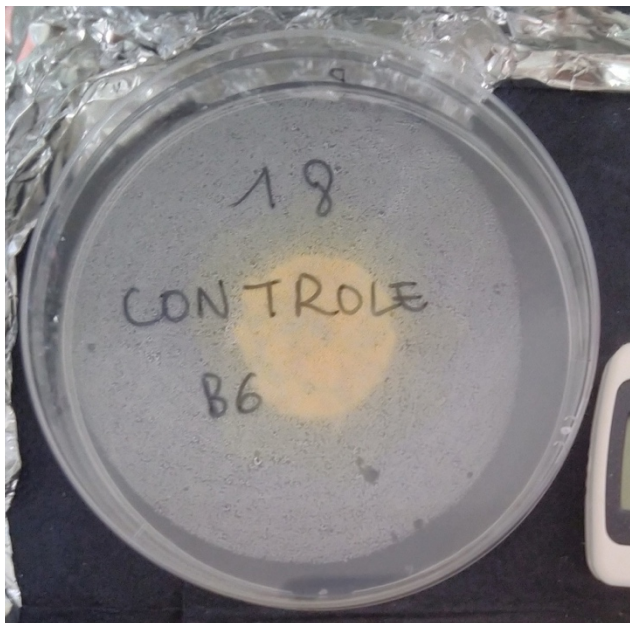
Exemples de contours







Impossible à analyser (exemple)



Derrière le blob, la recherche

Retrouvez en ligne toutes les ressources et informations sur le projet de science participative proposé par le CNRS :

<https://www.cnrs.fr/fr/cnrsinfo/le-blob-et-la-demarche-scientifique>

Et suivez le projet sur les réseaux sociaux avec le hashtag #BlobCNRS

