M1 Imageurs, Poitiers 2022

Introduction aux macros ImageJ

Fabrice P. Cordelières

16 mars 2022

Matériel de cours
disponible sur GitHub

Corrigés en pièces jointes au pdf

Table des matières

Chapitre 1: Les bases du langage macro ImageJ

Ce premier chapitre est destiné à vous montrer les points communs, mais surtout les différences entre les langages de programmation avancés que vous pouvez connaître et le langage de scripting propre à ImageJ. Le langage macro, quoique moins puissant et moins formel qu'un vrai langage de programmation, permet une automatisation rapide de tâches, soit pour une utilisation directe, soit pour le prototypage de tâches complexes qui pourront faire ultérieurement l'objet de modules spécifiques, codés en Java.

L'outil de base

Le Macro Recorder

Le `Macro Recorder` permet d'enregistrer (presque) toutes les opérations réalisées par l'utilisateur. Il suffit de le lancer pour voir se créer une série d'instructions permettant de reproduire le protocole de traitement et d'analyse sur une autre image. Il se trouve dans le menu `Plugins>Macros>Record` et fonctionne de la même manière sous ImageJ et Fiji.

Éditer une séquence et la sauvegarder : .txt ou .ijm ?

Bien que permettant l'édition des instructions, le `Macro Recorder` n'est pas l'éditeur à proprement parler des macros ImageJ. Pour le faire apparaître, il suffit de cliquer sur le bouton `Create`.

Un éditeur plus complet s'affiche, différent suivant qu'on utilise ImageJ ou Fiji. Sous ImageJ, l'éditeur est un simple éditeur de texte, sans coloration syntaxique. En revanche, il embarque quelques fonctionnalités intéressantes :

- Un outil de déboggage, accessible via le menu `Debug`. Il permet notamment l'exécution pas-à-pas de la macro.
- Le `Function Finder`, accessible via le menu `Macros>Functions Finder...` : il permet de visualiser et de réaliser une recherche dans l'ensemble des fonctions macros. Le menu `Help>Macro Functions...` renvoie vers la **page de référence du site d'ImageJ.**

Sous Fiji, l'éditeur de macros offre une coloration syntaxique. En revanche, le `Function Finder` n'est pas disponible : il est remplacé par l'auto-complétion et une aide contextuelle. Les outils de deboggage/d'exécution pas-à-pas ne sont pas disponibles. Une astuce permet néanmoins de faire apparaître l'éditeur de macros ImageJ sous Fiji : il suffit pour d'ouvrir le fichier macro après en avoir ôté l'extension.

Justement, quelle extension pour nos fichiers macros ? Deux conventions sont possibles : au final, le fichier est un simple fichier texte. Peu importe, on pourra utiliser au choix txt ou ijm (Image J Macro).

Exécuter une macro ou la stopper

Sous ImageJ, pour exécuter une macro, depuis la fenêtre de l'éditeur, aller dans le menu `Macros>Run Macro` (raccourci clavier `CTRL` ou `CMD+R`). Pour en stopper l'exécution, presser la touche `Esc`.

Pour exécuter une macro sous Fiji, utiliser le bouton `Run` en bas de la fenêtre de l'éditeur ou le menu `Macros>Run Macro` (raccourci clavier `CTRL` ou `CMD+R`). Pour en stopper l'exécution, presser la touche `Esc` ou le bouton `Kill` en bas de la fenêtre de l'éditeur.

Les fonctions intégrées

Structure des fonctions

Plusieurs structures de commandes co-existent :

- `run("Nom_De_Commande", "Arguments")` : mot-clé run prenant 2 arguments 1-le nom de la fonction, 2-une chaîne de caractères contenant les arguments, séparés par des espaces ;
- `nomDeCommande("Nom_De_Commande")` : nom de la fonction, suivi d'une chaîne de caractères contenant les arguments.

Ce ne sont que 2 des formes des commandes macros : il n'y a pas de consensus sur la structure des fonctions. La raison est historique : les fonctions en "run" correspondent aux premières fonctions implémentées à l'origine du logiciel, les fonctions plus récentes reprenant une syntaxe plus proche du Java.

Trois logiques différentes

Les instructions peuvent adopter trois types de fonctionnement différents qu'il est important de distinguer :

- **Les méthodes :** ce sont des fonctions qui exécutent une opération ex : redimensionner une image, ajouter une coupe à une pile etc ;
- **Les fonctions :** elles renvoient un résultat qui peut être stocké dans une variable ;
- **Les méthodes de collecte :** c'est le cas par exemple de la fonction `getStatistics(area, mean, min, max, std, histogram)` dont l'appel stocke dans les variables fournies en arguments les informations demandées.

NB : Tout comme en Java, le ; est obligatoire, utilisé pour marquer la fin d'une instruction.

Éléments de syntaxe

Trouver ses marques avec ce nouveau langage

A l'évidence, pour des tâches simples, le `Macro Recorder` peut suffire. En revanche, dès lors qu'il faudra modifier dynamiquement un paramètre, boucler un processus sur un ensemble d'éléments ou adapter le comportement de la macro en fonction d'une entrée, il deviendra nécessaire de connaître la syntaxe d'un ensemble d'éléments de base que sont les variables, les boucles et les structures de choix. Comme dans tout langage de programmation, il sera également important de documenter son code : il est nécessaire de connaître les balises à utiliser.

Commenter son code : quelles balises ?

Les balises de commentaires sont identiques aux balises utilisées en Java :

- **Les commentaires courts :** ils sont délimités par une seule balise, le `//` ;
- **Les commentaires longs :** la balise ouvrante est `/*`, la balise fermante est `*/`.

Les variables : types, opérateurs et portée

Types de variables

Dans le langage Macros ImageJ, les variables ne sont pas typées. En revanche, trois catégories de variables sont utilisables :

- **Les variables simples :** elles sont déclarées par leur nom. L'attribution d'une valeur se fait au moyen du signe égal. Les guillemets permettent de définir la nature "chaîne de caractère" du contenu. ex : `maVariable=3;` ou `monAutreVariable="chaîne de caractères";;`
- **Les variables de type tableau :** elles sont déclarées par leur nom et l'attribution (=) suivi du mot-clé `newArray()`. Cette instruction peut prendre trois types d'arguments (voir ci-après). *Attention : le langage Macros ImageJ ne permet pas de créer de tableaux multi-dimensionnels.*
  - `monTableau=newArray();` : le tableau est initialisé mais n'a pas de dimension ;
  - `monTableau=newArray(n);` : le tableau est initialisé sans contenu mais à une dimension de "n" cases ;
  - `monTableau=newArray(1, 2, 3);` : le tableau est initialisé et dimensionné en fonction du contenu. Ses cases sont initialisée telles que `monTableau[0]` contient la valeur 1, `monTableau[1]` contient la valeur 2 etc. On peut déterminer la dimension du tableau en ayant recours à l'instruction `monTableau.length`.
- **La liste de couples clé-valeur :** On peut utiliser *une unique liste de clés-valeurs*. Voici une liste des fonctions les plus utiles :
  - `List.clear()` : efface le contenu de la liste actuelle ;
  - `List.size` : renvoie le nombre d'éléments dans la liste actuelle ;
  - `List.set(cle, valeur)` : ajoute ou modifie la paire clé-valeur dans la liste ;
  - `List.get(cle)` : renvoie la valeur associée à la clé en tant que chaîne de caractères, ou une chaîne vide si la clé n'existe pas dans la liste ;
  - `List.getValue(cle)` : renvoie la valeur numérique associée à la clé. Si elle est absente de la liste ou n'est pas une valeur numérique, l'exécution de la macro est stoppée.

Opérateurs

Les opérateurs applicables aux variables sont résumés dans le tableau pages suivante. Certaines opérations entre variables de nature différentes aboutissent à un transtypage implicite en chaînes de caractères au moment où l'opération est réalisée.

```
myVariable1 = 1
myVariable2 = " variable de type chaîne"
myVariable3 = myVariable1 + myVariable2

print(myVariable3)
```

L'exécution de la macro renvoie "1 variable de type chaîne" dans la fenêtre `Log`

Opérateur	Priorité	Description
++	1	Pré ou post incrément
−−	1	Pré ou post décrément
−	1	Soustraction bit à bit
!	1	Complémentaire du booléen
~	1	Bit complémentaire
*	2	Multiplication
/	2	Division
%	2	Reste entier de la division
|	2	Ou logique bitwise (OR, opération sur les bits)
^	2	Ou exclusif logique (XOR, opération sur les bits)
<<, >>	2	Rotation de bit (vers la gauche ou la droite)
+	3	Addition arithmétique ou concaténation de chaînes de caractères
−	3	Soustraction arithmétique
<, <=	4	Comparaisons : plus petit que, plus petit ou égal à
>, >=	4	Comparaisons : plus grand que, plus grand ou égal à
==, !=	4	Comparaisons : égal à, différent de
&&	5	Et logique (AND, opération sur les booléens)
||	5	Ou logique bitwise (OR, opération sur les booléens)
=	6	Attribution
+=, -=, *=, /=	6	Attribution combinée à une opération

Portée des variables

Le langage Macros ImageJ permet de créer ses propres groupes fonctionnels (voir le Chapitre 3 - Groupes fonctionnels). Cette possibilité permet de mieux organiser son code et d'en réutiliser certaines parties dans plusieurs macros sans pour autant avoir à tout re-coder. Ces groupes peuvent nécessiter la déclaration de variables en leur coeur : leur contenu ne sera alors pas disponible à l'extérieur de la fonction à moins qu'un retour explicite soit implémenté. De même, une variable déclarée en dehors de la fonction définie par l'utilisateur n'y sera pas directement utilisable : il faudra alors passer son contenu en argument, au moment de l'appel.

Une autre stratégie est envisageable : modifier la portée des variables. L'utilisation du mot-clé `var` devant une variable placée dans le corps de la macro (plutôt en en-tête, pour plus de lisibilité) permet de la transformer en **variable globale**, accessible depuis n'importe quel point du code.

Les boucles

Boucle définie à priori : for

Sa structure est identique à celle utilisée en Java, à la différence qu'il n'est pas possible d'utiliser un itérateur sur une liste :

```
for(initialisation; condition de poursuite; itération) {
    //Instructions
}
```

Boucle indéfinie à priori : while

Sa structure est identique à celle utilisée en Java :

```
while(condition) {
    //Instructions
}
```

Boucle indéfinie à posteriori : do/while

Cette boucle est exécutée au moins une fois, l'évaluation de la condition s'effectuant à la fin du bloc. Il se déclare comme suit :

```
do {
    //Instructions
} while (condition);
```

Structure de choix

Une seule structure de choix est disponible : la structure if/then/else - else if :

```
if(condition1) {
    //Instructions 1
}else{
    //Instructions 2
}else if(condition2){
    //Instructions 3
}
```

NB : Inutile d'essayer, la structure `switch/case` n'est malheureusement pas implémentée...

Chapitre 2: Premiers pas avec le langage macro ImageJ

Au cours de cette première séquence nous allons explorer le langage macro et découvrir les outils à disposition pour résoudre la problématique posée (voir l'encart "problématique").

Par où commencer ?

Ayant pris connaissance de la problématique, deux étapes devront être réalisées :

1. Identifier les étapes du protocole de traitement et d'analyse ;
2. Identifier les instructions clés à utiliser.

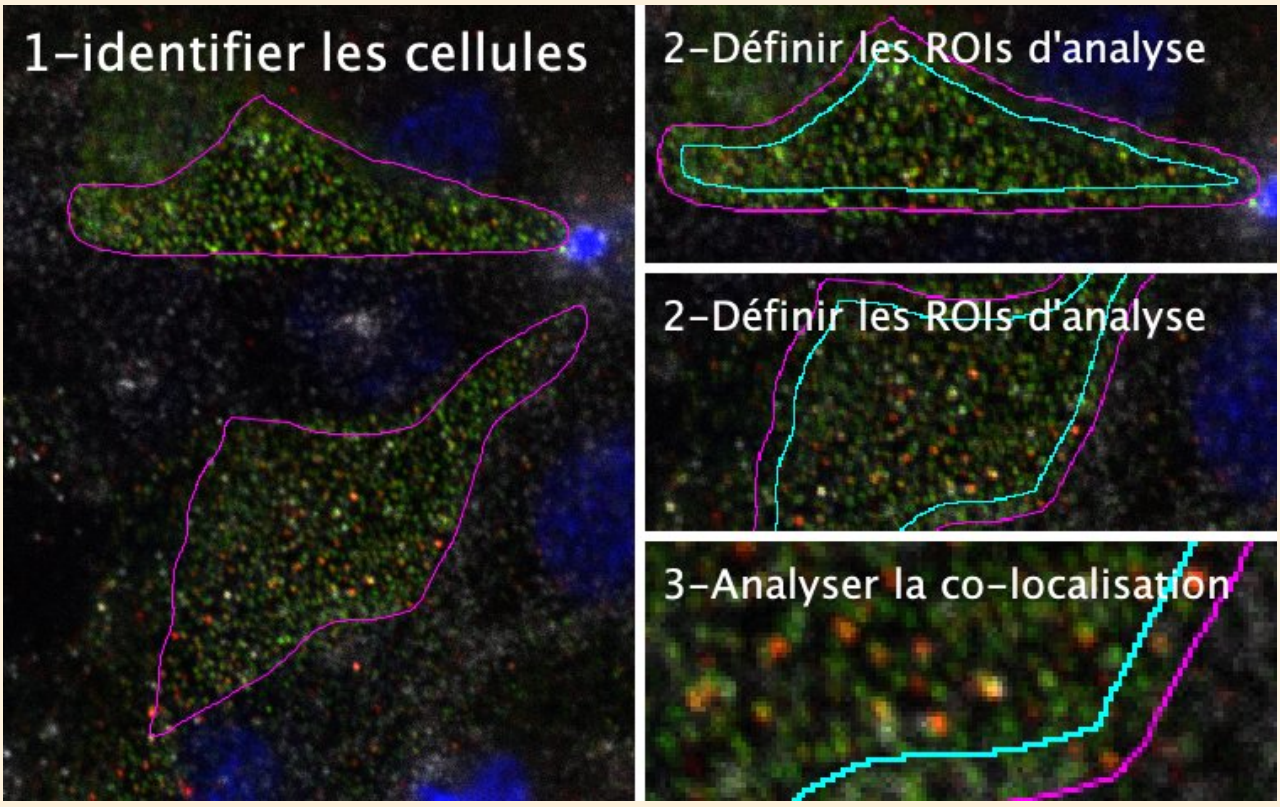
Les étapes du protocole de traitement et d'analyse

L'utilisateur a fourni un protocole détaillé. Le plus simple est donc de reprendre chaque étape proposée et d'initier la macro en utilisant chaque item comme un commentaire. L'espace laissé libre entre chaque commentaire sera progressivement complété avec les instructions adéquates.

Étape 01 : À vous de jouer !

A faire :
- Créer une nouvelle macro : `Plugins>New>Macro`
- En utilisant la syntaxe décrite au "Chapitre 1 - Commenter son code", créer un commentaire par étape de traitement

La problématique



Besoin : disposer d'une macro pour analyser sur un plan et chaque cellule individualisée, les colocalisations des 3 marquages
- Déterminer les contours sur plan focal (pas toujours le même plan d'une série Z)
- Faire le seuillage de chaque couleur (création d'un masque spatial)
- Calculer le pourcentage de colocalisation RV, VB, RB, RVB
- Sauvegarder les ROIs et résultats dans un dossier portant le nom de l'image

Identifier les instructions clés à utiliser

ImageJ dispose d'une fonction permettant d'enregistrement des opérations réalisées sous la forme d'un script : c'est le `Macro Recorder`, activé au moyen du menu `Plugins>Macros>Record...`.

Certaines fonctions ne sont pas enregistrables : en complément au `Macro Recorder` il existe une *page de référence* listant l'ensemble des fonctions accessibles en scripting. En outre, nombre de fonctions documentées incluent des exemples d'utilisation.

D'ores et déjà, au moment de l'enregistrement des instructions, il est important d'anticiper deux points en se posant deux questions. *De quelle situation partons-nous ?* En d'autres termes, une analyse précédente aura-t-elle une incidence sur la nouvelle analyse, en laissant, par exemple, des éléments pouvant compromettre l'analyse courante. *L'analyse actuelle est-elle généralisable ?* Les dénominations des éléments manipulés sont-elles fixes ? Que se passe-t-il si le nom de l'image est différent ? Il est important de prêter attention aux arguments des fonctions utilisées et à la manière dont on pourra les manipuler ultérieurement.

Étape 02 : à vous de jouer !

A faire :

- Activer le `Macro Recorder` `Plugins>Macros>Record...`
- Réaliser manuellement les étapes de traitement de l'image, pour le moment en 2D :
  1. Ouvrir une image exemple : `File>Open...`
  2. Dessiner les régions d'intérêt (ROI) à analyser : utiliser l'outil de sélection approprié
  3. Pousser tour à tour chaque ROI vers le `Roi Manager` : `Edit>Selection>Add to Manager`
  4. Sauvegarder les ROIs dans un fichier : depuis le `ROI Manager`, cliquer sur `More...>Save...`
  5. Activer la première ROI sur l'image
  6. Dupliquer la portion d'image contenant la ROI : `Image>Duplicate...`
  7. Renommer la région d'intérêt en "Cell" : `Edit>Selection>Properties...`
  8. Ajouter la ROI à l'overlay de l'image : `Image>Overlay>Add Selection...`
  9. Définir une région cytoplasmique en érodant la ROI : `Selection>Enlarge...`, utiliser une valeur de paramètre négative
  10. Renommer la région d'intérêt en "Cytoplasm" : `Edit>Selection>Properties...`
  11. Ajouter la ROI à l'overlay de l'image : `Image>Overlay>Add Selection...`
  12. Définir une région membranaire en créant une bande autour de la ROI actuelle : `Selection>Make Band...`, utiliser une valeur de paramètre égale à la valeur précédente
  13. Ajouter la ROI à l'overlay de l'image : `Image>Overlay>Add Selection...`
  14. Sauvegarder l'image de la cellule et des ROIs : faire `File>Save AS>Tiff...`
- Faire le tri des instructions et les insérer entre les commentaires par simple copier/coller

Tester la macro

La première version de la macro étant prête, il est possible de la tester en la lançant depuis l'éditeur, soit au moyen du bouton `Run` soit du menu `Run>Run`. A noter, il est possible de ne sélectionner qu'une partie du code et de n'exécuter que les lignes concernées au moyen du menu `Run>Run selected code`.

En cas de problème, quelques points à vérifier :

- Manque-t-il un point-virgule pour terminer la ligne précédent la ligne donnée en erreur ?
- Le nom des éléments à manipuler correspondent-ils aux éléments effectivement présents à l'écran ? Vérifier, par exemple, le nom des images à l'écran et les confronter aux noms des images attendus par la macro
- Pour les tables de résultats et le ROI Manager, en cas d'éléments surnuméraires : dans quel état était la ResultsTable/ROI Manager au démarrage de la macro ?
- L'éditeur de macro permet de vérifier les parenthèses, accolades et crochets : chaque balise ouvrante est-elle accompagnée d'une balise fermante ?
- L'instruction qui pose problème est-elle bien orthographiée ? On peut vérifier en enregistrant l'instruction ou en se référant à *cette page*.
- La syntaxe de l'instruction qui pose problème est-elle correcte ? Manque-t-il des arguments ? La nature des arguments est-elle la bonne ? On peut vérifier en enregistrant l'instruction ou en se référant à *cette page*.
- De quelle couleur apparaît l'instruction ? Les arguments ? L'éditeur utilise une coloration basée sur la syntaxe : les commentaires apparaissent en vert, les instructions en orange, les chaînes de caractères en rose et les nombres en violet. Si la couleur n'est pas la couleur attendue, il y a sans doute un problème.

Ajouter un peu de souplesse à la macro : utilisation de variables

En regardant le code de la macro, on peut identifier plusieurs paramètres pouvant varier d'une exécution à l'autre :

- La valeur décrivant la taille du retrait appliqué pour obtenir la portion cytoplasmique du signal
- Par voie de conséquence, la taille du bandeau membranaire. A noter : alors que la valeur précédente s'exprime en pixels, celle-ci est exprimée en microns. Il faudra trouver un moyen de conversion entre ces deux unités.

- Le chemin du répertoire de sortie.
- Le nom de base du fichier de sortie.
- Un identifiant numérique unique du fichier de sortie.

Étape 03 : à vous de jouer !

A faire :
- Créer la variable "bandWidth" contenant la valeur d'épaisseur de bandeau, exprimée en pixels.
- Créer la variable "outPath" contenant le répertoire de sauvegarde des sorties de la macro .
- Créer la variable "baseName" contenant le nom de base des fichiers de sortie.
- Créer la variable "index" contenant l'identifiant numérique unique du fichier de sortie.
- Modifier les arguments des différentes instructions afin de prendre en compte le contenu des variables. Les arguments sont des chaînes de caractères que l'on peut modifier par simple concaténation.
- Trouver une instruction permettant de rapatrier la valeur de calibration en distance de l'image (pixelWidth ou pixelheight) afin d'opérer la conversion pixels<>microns.
- Utiliser cette instruction et modifier le code de sorte à ce que la valeur appropriée soit donnée en argument à la fonction `Make Band`.
- Tester la macro.

Initialisation et interactions

Initialiser la macro

Au démarrage de la macro, il se peut que plusieurs images soient déjà ouvertes au sein du logiciel. ImageJ travaille systématiquement sur l'image active, qu'elle soit présente au démarrage ou qu'elle vienne juste d'être générée, par exemple par la macro. Afin d'éviter toute confusion, notamment due à la présence de deux images portant un même titre, une pratique possible consiste à fermer au démarrage de la macro toutes les images hormis l'image active.

Fermer une image/fenêtre *(source: doc. en ligne)* :

close()
Closes the active image. This function has the advantage of not closing the "Log" or "Results" window when you meant to close the active image. Use ***run("Close")*** to close non-image windows.

close(pattern)
Closes windows whose title matches 'pattern', which can contain the wildcard characters '*' (matches any character sequence) and '?' (matches single character). For example, close("Histo*") could be used to dispose all histogram windows. Non-image windows like "Roi Manager" have to be specified without wildcards. For text windows, wildcards are allowed if 'pattern' ends with ".txt", ".ijm", ".js" etc. Use close("*") to close all image windows. Use ***close(pattern, "keep")*** to not close text or image windows with changes. If 'pattern' is "\\Others", all images except the front image are closed. The most recent macro window is never closed.

close("*")
Closes all image windows.

close("\\Others")
Closes all images except for the front image.

L'exécution courante de la macro peut faire suite à son exécution sur une autre image. Il est fort probable qu'une liste de ROIs soit déjà présente dans le ROI Manager et qu'un tableau de résultats contienne déjà des données chiffrées. Si on relance en l'état une analyse, les résultats seront sans doute faussés par la présence de données issues des instances précédentes. Lors de l'initialisation, il faudra veiller à vider le tableau de résultats, par exemple en fermant la fenêtre du tableau ou en utilisant la fonction `Analyse>Clear Results`. Il n'y a pas de fonction directement enregistrable pour fermer le ROI Manager, mais plusieurs fonctions, dont la fonction `reset` permettent de le réinitialiser depuis une macro.

Manipuler le ROI Manager *(source: doc. en ligne)* :

roiManager("count")
Returns the number of ROIs in the ROI Manager list. See also : RoiManager.size and RoiManager.selected.

roiManager("delete")
Deletes the selected ROIs from the list, or deletes all ROIs if none are selected.

roiManager("deselect")
Deselects all ROIs in the list. When ROIs are deselected, subsequent ROI Manager commands are applied to all ROIs.

roiManager("measure")
Measures the selected ROIs, or if none is selected, all ROIs on the list.

roiManager("reset")
Deletes all ROIs on the list.

roiManager("select", index)
Selects an item in the ROI Manager list, where index must be greater than or equal zero and less than the value returned by roiManager("count"). Note that macros that use this function sometimes run orders of magnitude faster in batch mode. Use roiManager("deselect") to deselect all items on the list. For an example, refer to the ROI Manager Stack Demo macro.

Gérer les sorties

Dans le cadre de cette macro, le parti est pris d'avoir une image ouverte au démarrage. En

revanche, il est souhaité que les fichiers de résultats soient stockés dans un répertoire défini par l'utilisateur. Une interaction est requise : il faudra trouver un moyen d'afficher une boite de dialogue pour que le répertoire soit sélectionné et que le chemin puisse être stocké dans une variable.

La macro étant supposée faciliter la tâche de l'utilisateur pour l'analyse de fichiers multiples, un soin particulier devra être apporté aux conventions de nommage des fichiers de sortie. Le plus simple serait de les construire en incluant une référence au titre de l'image à laquelle ils se rapportent.

Les instructions de sauvegarde des fichiers images, ROIs et tableaux font apparaître leur chemin sous la forme d'une chaîne de caractères : il sera donc relativement simple de les construire par concaténation.

Gestion des sorties *(source: doc. en ligne)* :

getDirectory(string) or getDir(string)
Displays a "choose directory" dialog and returns the selected directory, or returns the path to a specified directory, such as "plugins", "home", etc. The returned path ends with the file separator ("/"). Returns an empty string if the specified directory is not found or aborts the macro if the user cancels the "choose directory" dialog box. For examples, see the GetDirectoryDemo and ListFilesRecursively macros. See also : getFileList and the File functions.

getTitle()
Returns the title of the current image.

Manipuler des chaînes de caractères

Une autre aspect important de la gestion des sorties de la macro est la convention de nommage des résultats. Une image contenant plusieurs cellules, soumises chacune à l'analyse, il faudra veiller à ce que l'on puisse tracer d'où vient l'analyse : quelle image ? quelle cellule ? Une des manières de procéder consiste à établir un nom de base, que l'on concaténera à un identifiant de cellule (par exemple nom-de-base_Cell_XX). L'instruction `getTitle()` nous permet de déterminer le titre de l'image courante. Celui-ci reprend le nom complet du fichier, en incluant son extension. Si l'on veut exclure l'extension du nom de base, il faudra manipuler la chaîne de caractères au moyen de certaines des instructions présentées dans le cartouche suivant.

Manipuler une chaîne *(source: doc. en ligne)* :

indexOf(string, substring(, fromIndex))
Returns the index within string of the first occurrence of substring, with the search starting at fromIndex.

lastIndexOf(string, substring)
Returns the index within string of the rightmost occurrence of substring.

substring(string, index1(, index2))
Returns a new string that is a substring of string. The substring begins at index1 and extends to the character at index2 - 1. Can be replaced with str.substring(i1,i2) in ImageJ 1.52t and later.

Mettre l'exécution en pause

La macro doit permettre à l'utilisateur de dessiner par lui-même les ROIS sur l'image. Une fois lancée, mis à part si l'on place des boites de dialogue, son exécution se poursuit sans interruption. Il faudra donc trouver un moyen de mettre en pause le script afin de redonner la main à l'utilisateur pour la création et le stockage des ROIs, en somme,d'"attendre une entrée utilisateur".

Un raffinement supplémentaire pourrait être de n'exécuter le reste de la macro qu'à la condition d'avoir une ou plusieurs ROIs à analyser. Les ROIs sont stockées dans le `ROI Manager` auquel s'applique une gamme de fonctions permettant de le manipuler et d'en extraire certaines grandeurs caractéristiques, comme le nombre d'éléments qu'il contient. Une boucle conditionnelle indéfinie à priori (voir le Chapitre 1 - Boucle while) pourrait faire l'affaire, pourvu qu'elle soit bien placée et que sa condition soit bien définie...

Attendre une entrée utilisateur *(source: doc. en ligne)* :

waitForUser(string)
Halts the macro and displays string in a dialog box. The macro proceeds when the user clicks "OK". Unlike showMessage, the dialog box is not modal, so the user can, for example, create a selection or adjust the threshold while the dialog is open. To display a multi-line message, add newline characters ("\n") to string. This function is based on Michael Schmid's Wait_For_User plugin. Example : WaitForUserDemo.

waitForUser(title, message)
This is a two argument version of waitForUser, where title is the dialog box title and message is the text displayed in the dialog.

Exercice de fin de chapitre

Vous avez tous les éléments en mains pour modifier la macro existante et la rendre plus robuste en y ajoutant l'initialisation, la gestion des sorties et de l'interaction avec l'utilisateur.

Étape 04 : à vous de jouer !

A faire :

- Pour chaque point suivant, en s'aidant du `Macro Recorder` et/ou de *cette page*, ajouter un commentaire et les instructions relatives aux étapes suivantes :
  1. Initialisation :
     . Fermer toutes les images présentes sauf l'image courante
     . Réinitialiser le ROI Manager
     . Réinitialiser la table de résultats
  2. Répertoire de sortie :
     . Demander à l'utilisateur de pointer vers un répertoire de sortie
     . Stocker le chemin dans une variable
     . Utiliser la variable pour générer les chemins de sauvegarde des fichiers
  3. Mettre l'exécution en pause :
     . Afficher une boite de dialogue invitant l'utilisateur à dessiner les ROIs et les stocker dans le ROI Manager au moyen de la touche 't' du clavier
     . A l'issue de cette étape (ou de tout autre étape adaptée), vérifier le contenu du `ROI Manager` : s'il est vide, afficher de nouveau le message
     . Sauvegarder le contenu du `Roi Manager` : `More>Save...`
  4. Réaliser la découpe des imagettes, créer les 3 ROIs au sein d'un `Overlay` et les sauvegarder dans le répertoire de sortie : vous aurez sans doute besoin d'une structure de boucle définie à priori (voir le Chapitre 1) et de réfléchir à une manière de générer un nom de sortie unique, par exemple incluant le nom de l'image d'origine
- Tester la macro : la lancer, vérifier son comportement et corriger les éventuels bugs

Chapitre 3: Fonctionnalisation de la macro et mesures

Le mot-clé de la seconde séquence sera "`function`". Nous allons tirer profit des possibilités de fonctionnalisation qu'offre le code macro. Au-delà du gain en lisibilité du code, la création de fonctions personnalisées permettra une réutilisation simplifiée de pans entiers d'instructions entre macros.

Groupes fonctionnels

Utilité des fonctions

Les groupes fonctionnels sont ce que les chapitres sont à un livre : une manière d'organiser les instructions par thématique. Le corps du code apparaît alors comme une table des matières : elle référence l'ensemble des chapitres et permet un accès direct aux sections d'intérêt.

Pour un langage aussi simple que le langage macro ImageJ, outre leur avantage structurant, les fonctions personnalisées généralistes sont utiles dans le cadre d'une réutilisation de blocs, diminuant le temps nécessaire au développement, pourvu qu'elles aient été bien réfléchies en amont.

Syntaxe des fonctions

Une fonction est déclarée par le mot-clé `function` suivi du nom de la fonction. Ce nom doit être suffisamment explicite. Par convention, on utilise la notation chameau employée en Java (les mots sont collés les uns aux autres, leur première lettre est capitalisée à l'exception de la lettre initiale). Il doit obligatoirement commencé par une lettre mais peut comporter des chiffres.

Le nom est suivi de deux parenthèses, ouvrante et fermante. Entre les parenthèses peuvent être déclarés des **arguments**, facultatifs : une ou plusieurs variables sont alors fournies entre parenthèses. La portée de ces variables est locale : elles ne sont utilisables qu'à l'intérieur de la fonction.

Les **instructions** définissant les opérations réalisées par la fonction sont placées entre **accolades**. Une fonction particulière, facultative, peut également y être présente : le mot-clé `return` permet de renvoyer le contenu d'une unique variable à l'extérieur de la fonction suite à son appel.

L'appel à la fonction se fait simplement en utilisant son nom et fournissant les arguments nécessaires. Si la fonction renvoie un résultat, il peut être attribué à une variable pour utilisation ultérieure.

```
//Appel à la fonction
resultat=maFonction(1, "arg2");

//Déclaration de la fonction
function maFonction(arg1, arg2, ...){
   //Instruction 1
   //Instruction 2
   ...
   return valeurDeSortie;
}
```

Différents types de fonctions

Les fonctions disposent de deux lots d'éléments facultatifs : les arguments et le retour. Sur la base de ce dernier, on distinguera deux grands types de fonctions : les **méthodes** qui ne disposent pas de l'élément "`return`" (le retour est `null`) et les **fonctions** qui l'utilisent pour renvoyer une unique variable.

Attention : le fait que le mot-clé ne renvoie le contenu que d'une variable ne signifie pas pour autant qu'on ne puisse renvoyer qu'une valeur. On peut, par exemple utiliser une variable de type tableau pour renvoyer un ensemble d'éléments.

Fonctionnalisation de la macro

Le code de l'**étape 04** génère a deux objectifs : permettre de collecter puis de stocker les ROIs à analyser ; découper les portions d'images à analyser, générer les différentes ROIs et sauvegarder les imagettes. Ces deux étapes peuvent être codées sous la forme de deux fonctions distinctes, prenant chacune un lot de paramètres spécifiques qu'il conviendra de définir.

La fonctionnalisation du code démarrera par une relecture des instructions et l'identification de blocs concourant à un même but. A ces fins, les commentaires sont des éléments qui peuvent aider. On pourra identifier trois étapes, chacune pouvant être encapsulée en une fonction :

- **Fonction "init" :** L'initialisation
- **Fonction "getROIs" :** L'interaction utilisateur pour la définition des ROIs et leur enregistrement

- **Fonction "cutOutROIs" :** Le découpage des imagettes, la génération des ROIs et leur sauvegarde

Afin de préparer les différentes fonctions, il sera nécessaire d'identifier les paramètres nécessaires à son fonctionnement et la sortie ou retour que chacune devra fournir :

Fonction	Paramètre(s)	Sortie
init	Aucun	Aucune
getRois	Répertoire, nom de base	Aucune
cutOutROIs	Idem + largeur de bande	Aucune

Étape 05 : à vous de jouer !

A faire :
- Adapter le code de manière à créer les 3 fonctions suivantes :
  . Fonction "**init**"
  . Fonction "**getROIs**"
  . Fonction "**cutOutROIs**"
- Testez la macro
- NB : pour qu'une fonction réalise l'opération souhaitée, il faut l'appeler...

Implémentation de l'analyse

L'analyse sera réalisée en trois étapes.

Créer les masques binaires

L'analyse reposant sur la mesure de la surface de coïncidence entre canaux, il est nécessaire de transformer notre pile d'images en une série de masques binaires. Cette opération devra être réalisée indépendamment pour chaque canal, afin de prendre en compte les différences de distributions d'intensités qui peuvent exister.

A noter : le passage d'une image d'intensités en masque binaire se fait par seuillage. Celui-ci est opéré en appliquant une règle de calcul à l'histogramme de l'image ou d'une région d'intérêt. Lors d'une étape précédente, nous avons éliminé les intensités hors cellules : il serait bon de ne prendre en compte que les intensités dans la ROI cellule afin d'être plus précis dans la détermination du seuil.

Les ROIs sont justement stockées dans l'overlay de l'image, la première ROI étant la région cellulaire. Autre point important, les structures peuvent être difficiles à segmenter du fait de la présence du bruit de fond. Une stratégie peut être appliquée, visant à éliminer ce fond, au moyen de l'algorithme "Rolling-Ball" disponible depuis `Process>Subtract Background...`

Étape 06 : à vous de jouer !

A faire :
- Ouvrir l'une des images de sortie de la macro sauvée à l'étape 5
- Enregistrer les instructions suivantes ou les insérer manuellement :
  1. Vider le ROI Manager
  2. Basculer les ROIs stockées dans l'overlay vers le ROI Manager (`Image>Overlay>To ROI Manager`)
  3. Stocker le nom de l'image courante dans une variable
  4. Séparer les images des différents canaux (`Image>Color>Split Channels`)
  5. Créer une boucle pour traiter tous les canaux sauf le premier (DAPI)
     - Sélectionner l'image du i-ème canal : après séparation, les canaux ont pour titre CXX-nom de l'image
     - Eliminer le bruit de fond au moyen de la fonction `Process>Subtract Background...`. NB : le paramètre de rayon doit avoir une valeur tout juste supérieure au rayon de la plus large des structures à conserver.
     - Activer la ROI "Membrane" sur l'image
     - Déterminer le seuillage au moyen de la fonction `Image>Adjust>Threshold`. NB : la méthode "Li" donne un bon résultat
     - Convertir l'image en masque binaire en pressant le bouton `Apply` dans la boite de réglage du seuil
     - Renommer chaque masque avec un nom standardisé
- Testez la macro
- Convertir ces instructions en une fonction que l'on nommera "**prepareData**". Bien évidemment, il faudra déclarer les paramètres utiles à lors de la création de la fonction et l'appeler pour la tester.
- Testez la macro après avoir empaqueté les instructions sous la forme d'une fonction

Combiner les masques

Maintenant que les masques C2, C3 et C4 sont afficher, reste à les combiner pour créer les masques de coincidences deux à deux et le masque de la triple coïncidence. Seulement la moitié de toutes les combinaisons possibles sont à envisager : l'intersection C2-C3 est la même que l'intersection C3-C2. De même, l'auto-intersection n'a aucun sens. Le tableau ci-après résume les combinaisons à explorer :

	C2	C3	C4
C2	x	Non	Non
C3	Oui	x	Non
C4	Oui	Oui	x

D'un point de vue programmation, on pourrait simplement coder l'ensemble des combinaisons 2 à 2 : au fond, elles ne sont qu'au nombre de 3. Néanmoins, on peut également envisager une version plus élégante en remarquant que l'index de l'image à comparer est systématiquement plus élevée que l'index de l'image de référence : C2 est comparée à C3 et C4, C3 à C4. On peut donc envisager d'utiliser deux boucle imbriquées, la boucle externe prenant les valeurs de 2 à 4, la boucle interne celles de l'index de la boucle

externe +1 à 4 : On balaye ainsi de manière automatique toutes les combinaisons. Reste la triple intersection qu'il faudra coder indépendamment.

Étape 07 : à vous de jouer !

A faire :

- Modifier la macro de l'étape 6 en y ajoutant un fonction `combineMasks` réalisant les opérations suivantes :
  1. Créer les deux boucles imbriquées permettant de générer "intelligemment" les masques combinant C2-C3, C2-C4 etc (`Process>Image Calculator`, utilisation du ET logique entre les bons masques).
  2. Bien penser à nommer explicitement les résultats !
  3. Réaliser la triple combinaison C2-C3-C4 à part en veillant à renommer le résultat
- Une fonction ne s'exécute que si elle est appelée...
- Testez la macro

Mesurer les aires

La mesure de co-localisation va être réalisée selon la méthode de Manders : il s'agit d'exprimer les pourcentages de surface de recouvrement entre signaux. Pour chaque couple de signaux, on exprime les coefficients M1 et M2 comme suit : M1=surface de l'intersection C2-C3/surface de C2, M2=surface de l'intersection C2-C3/surface de C3. Par voie de conséquence, on exprimera trois coefficients pour la triple coïncidence C2-C3-C4.

La convention de nommage des images que nous avons adoptée facilitera l'activation de la bonne image lors de la mesure de surface. Il faudra limiter la mesure de surface aux seuls pixels seuillés. On utilisera un mode particulier de mesure accessible depuis le langage macro qui permet de renvoyer les valeurs de paramètres vers une variable.

Réaliser des mesures *(source: doc. en ligne)* :

List Functions (extrait)

These functions work with a list of key/value pairs.

List.setMeasurements - Measures the current image or selection and loads the resulting keys (Results table column headings) and values into the list. Use List.setMeasurements("limit") to measure using the "Limit to threshold" option. All parameters listed in the Analyze>Set Measurements dialog box are measured, including those that are unchecked. Use List.getValue() in an assignment statement to retrieve the values.

List.setMeasurements("limit") - This is a version of List.setMeasurements that enables the "Limit to threshold" option.

List.getValue(key) - When used in an assignment statement, returns the value associated with key as a number. Aborts the macro if the value is not a number or the key is not found.

Les mesures devront être stockées dans un tableau de résultats. Grâce aux instructions ci-après, il est possible de connaître le nombre de lignes du tableau et d'adresser une colonne/ligne pour y placer un résultats.

Manipuler un tableau de résultats *(source: doc. en ligne)* :

nResults

Returns the current measurement counter value. The parentheses "()" are optional. See also : getValue("results.count").

setResult("Column", row, value)

Adds an entry to the ImageJ results table or modifies an existing entry. The first argument specifies a column in the table. If the specified column does not exist, it is added. The second argument specifies the row, where 0<=row<=nResults. (nResults is a predefined variable.) A row is added to the table if row=nResults. The third argument is the value to be added or modified. With v1.47o or later, it can be a string. Call setResult("Label", row, string) to set the row label. Call updateResults() to display the updated table in the "Results" window. For examples, see the SineCosineTable and ConvexitySolidarity macros.

updateResults()

Call this function to update the "Results" window after the results table has been modified by calls to the setResult() function.

Toute la difficulté de l'utilisation des tables de résultats réside dans l'adressage des lignes du tableau. La variable `nResults` stocke en permanence le nombre de lignes du tableau, numérotées de 0 à nResults-1.

Pour ajouter une ligne au tableau, il suffit de pousser un résultat sur la ligne nResults, soit une ligne qui n'existe pas encore. Autre point important, une fois la ligne créée, si l'on souhaite y ajouter de nouveaux résultats, il faudra adresser la ligne nResuts-1.

Quant aux colonnes, pas de soucis pour les créer : il suffit d'adresser les résultats en nommant la colonne à créer.

La macro doit permettre de réaliser les mesures dans trois régions d'intérêt : le domaine membranaire, le cytoplasme et la totalité de la cellule. Une boucle sera donc nécessaire pour réaliser les 3 mesures. Les mesures seront loggées dans un tableau de résultats dans une colonne reprenant une référence à la région d'intérêt et à l'image analysée.

Étape 08 : à vous de jouer !

A faire :

- Modifier la macro de l'étape 7 en y ajoutant un fonction `measureInROIS` réalisant les opérations suivantes pour chacune des trois ROIs :
  1. Sélectionner la i-ème ROI.
  2. Stocker son nom.
  3. Stocker le nom de l'image courant.
  4. Par sécurité, réaliser un seuil par la méthode par défaut.
  5. Rapatrier la liste des mesures en se limitant aux pixels seuillés
  6. Stocker la mesure de l'aire seuillée dans une variable.
  7. Annuler le seuillage de l'image
  8. Stocker la mesure d'aire sur la ligne appropriée, dans la colonne nommée `NOM-IMAGE\_NOM-ROI`.
  9. Eliminer la ROI de sur l'image.
- Une fonction ne s'exécute que si elle est appelée : modifier les fonctions déjà présentes pour que les mesures soient réalisées au bon moment.
- Il se peut que la fonction ait besoin de paramètres pour s'exécuter : identifier lesquels et modifier la macro en conséquence.
- Il peut être intéressant d'identifier une ligne de résultats avec le nom de l'image analysées. La fonction `setResult("Label", row, value)` pourra être utilisée à ces fins.
- Testez la macro

Répéter les opérations pour toutes les imagettes

Dans la macro de l'étape 5, nous avions l'ensemble des éléments pour créer les imagettes et leurs ROIs à partir l'image source. Dans la macro de l'étape 8, nous avons l'ensemble des étapes pour le traitement d'une imagette. Nous allons à présent assembler les deux parties du protocole d'analyse pour traiter une image, la découper en imagettes et que chacune soit analysée.

Étape 09 : à vous de jouer !

A faire :

- Modifier la macro de l'étape 8 en y intégrant les fonctions `prepareData`, `combineMasks` et `measureInROIs`
- Etablir la liste des fichiers dans le répertoire de sortie : il s'agit d'obtenir la liste des imagettes
- Pour chaque fichier du répertoire de sortie :
  1. S'assurer qu'il s'agit d'une imagette en vérifiant que son extension est ".tif".
  2. Ouvrir l'imagette.
  3. Appliquer les fonctions `prepareData` et `combineMasks`.
  4. Mettre à jour l'affichage du tableau de résultats.
  5. Fermer toute les images avant de passer à l'imagette suivante.
- Testez la macro

Calculer les coefficients de Manders

Le tableau de résultats comporte les surfaces individuelles positives pour les 3 canaux, ainsi que celles pour les intersections. Ces données doivent être rapportées aux surfaces originales pour exprimer le pourcentage de co-localisation. Toutes les données sont dans le tableau, reste à trouver un moyen d'automatiser le calcul entre colonnes du tableau et une astuce pour ne pas avoir à coder individuellement chaque calcul.

Lorsqu'un tableau de résultats est ouvert, son menu comporte la fonction `Edit>Apply Macro`. La boite de dialogue qui s'affiche permet d'effectuer des calculs entre colonnes (voir l'aide en ligne). Ces opérations sont enregistrables.

Chaque en-têtes de colonne porte pour titre `NOM-IMAGE_NOM-ROI`. Pour l'image du canal de référence, le nom de la colonne sera de la forme `C2_Cell`. Pour la colonne d'intersection entre C2-C3, elle sera de la forme `C2-C3_Cell`. On peut donc repérer les aires d'intersection des aires totales d'un canal, simplement en observant le nombre de tirets dans le nom de la colonne. De même, le signe _ sépare la partie nom de l'image de celle dévolue au nom de la ROI. L'instruction `split(string, delimiters)` utilisée judicieusement, devrait permettre d'isoler les deux parties du nom.

Pour `C2-C3_Cell`, il faudra calculer deux pourcentages de co-localisation : `C2-C3_Cell/C2_Cell` et `C2-C3_Cell/C3_Cell`. Une fois la colonne `C2-C3_Cell` identifiée, les deux colonnes de référence à utiliser sont identifiables en séparant la première partie du nom suivant les tirets. Une boucle utilisant les segments isolés du nom de l'image devrait permettre de définir l'ensemble des ratios à calculer.

Étape 10 : à vous de jouer !

A faire :

- En ayant un tableau de résultat ouvert, créer et tester la fonction `getPctColoc` comme suit :
  1. Rapatrier les titres des colonnes du tableau de résultats (`Table.headings`).
  2. Séparer la chaîne précédente suivant les tabulations afin d'obtenir une variable de type tableau contenant dans chaque case le nom d'une colonne.
  3. Pour chaque élément du tableau :
     - Vérifier que la colonne correspond à l'intersection entre plusieurs images.
     - Isoler le nom de l'image du nom de la ROI
     - A partir du nom de l'image, isoler le nom des canaux et les stocker dans une variable de type tableau.
     - Pour chaque canal, logger dans le tableau de résultat le pourcentage de son aire impliquée dans la co-localisation.
- Testez la macro

Exercice de fin de chapitre

Vous avez à présent tous les éléments en mains pour implémenter le calcul de co-localisation au sein de la macro existante.

Étape 11 : à vous de jouer !

A faire :

- Modifier la macro de l'étape 9 en y intégrant les fonctions `getPctColoc`
- Une fonction ne s'exécute que si elle est appelée
- Tester la nouvelle macro

Chapitre 4: Amélioration de l'expérience utilisateur

Pour cette dernière séquence, nous allons améliorer l'expérience utilisateur. Nous avons implémenté une analyse qui requiert un certain nombre de paramètres pour être réalisée : une boite de dialogue pour les entrer plutôt que d'avoir à éditer directement le code. Nous verrons également qu'il est possible de stocker et rappeler les préférences utilisateur.

Interface utilisateur : GUI

Créer une interface

La création d'interface (**Graphical User Interface** ou GUI en anglais), quoique rudimentaire en langage macro, est relativement simple et puissante. Certaines fonctionnalités ont été récemment implémentées sous ImageJ pour augmenter les capacités du logiciel. Notamment, une nouvelle instruction permet d'afficher une boite de dialogue afin que l'utilisateur choisisse un chemin : c'est la version intégrée du `getDirectory` que nous avons utilisé et qu'il faudra remplacer. **Attention :** pour pouvoir utiliser les fonctions les plus récentes des boites de dialogue, il est impératif de procéder à la mise à jour du coeur ImageJ utilisé par Fiji. Pour cela, aller dans le menu `Help>Update ImageJ` puis redémarrer le logiciel.

Les paramètres à collecter sont les suivants :

- **Le nom de base des images de sortie**
- **Le répertoire de sortie**
- **La largeur de la bande membranaire**
- **Le rayon à utiliser pour la soustraction de fond**

Une fois la boite de dialogue affichée, il faudra rapatrier l'ensemble des entrées utilisateur. Les éléments de la GUI ne sont pas stockés dans des variables indépendantes : on ne les adresse pas directement. Le mécanisme de collection se fait dans l'ordre où les éléments ont été ajoutés à l'affichage, au moyen de getters (fonctions permettant d'obtenir un résultat) spécifiques.

Créer une GUI *(source: doc. en ligne)* :

Dialog.create("Title")
Creates a modal dialog box with the specified title, or use Dialog.createNonBlocking("Title") to create a non-modal dialog. Call Dialog.addString(), Dialog.addNumber(), etc. to add components to the dialog. Call Dialog.show() to display the dialog and Dialog.getString(), Dialog.getNumber(), etc. to retrieve the values entered by the user. Refer to the DialogDemo macro for an example.
Dialog.addRadioButtonGroup(label, items, rows, columns, default) - Adds a group of radio buttons to the dialog, where 'label' is the group label, 'items' is an array containing the button labels, 'rows' and 'columns' specify the grid size, and 'default' is the label of the default button. (example).
Dialog.addChoice(label, items) - Adds a popup menu to the dialog, where items is a string array containing the menu items.
Dialog.addChoice(label, items, default) - Adds a popup menu, where items is a string array containing the choices and default is the default choice.
Dialog.addDirectory(label, defaultPath) - Adds a directory field and "Browse" button. The field width is determined by the length of 'defaultPath', with a minimum of 25 columns. Use Dialog getString to retrieve the directory path. Requires 1.53d.
Dialog.show() - Displays the dialog and waits until the user clicks "OK" or "Cancel". The macro terminates if the user clicks "Cancel".
Dialog.getString() - Returns a string containing the contents of the next text, directory or file field.
Dialog.getChoice() - Returns the selected item (a string) from the next popup menu.
Dialog.getRadioButton() - Returns the selected item (a string) from the next radio button group.

Bien évidemment, afin de structurer au mieux le code, l'idéal serait de créer une **fonction GUI** en charge de l'affichage et du rapatriement des paramètres.

Obtenir les paramètres : portée des variables

La fonction GUI dispose d'un certain nombre de variables pour stocker les différents paramètres. Comme indiqué au "Chapitre 1 - Portée des variables", les variables à l'intérieur des fonctions sont locales et ne sont pas accessibles depuis l'extérieur.

L'utilisation de variables globales est généralement déconseillé. En effet, si l'on veut réutiliser un bloc fonctionnel, un simple copier/coller entre macros devrait suffire. Si une fonction utilise des variables globales, en plus du bloc fonctionnel, il faudra penser à créer les variables globales qui s'y rapportent, ce qui peut compliquer la tâche. Dans le cas de la fonction GUI, non seulement elle est spécifique de cette macro, mais en plus, elle comporte de nombreuses sorties qu'il ne sera

pas pratique de stocker, par exemple, dans une unique sortie de type tableau. Nous allons donc employer des variables globales.

Sauvegarder les préférences

Le problème actuel de notre macro est qu'à chaque lancement, les paramètres sont réinitialisés. Pour le traitement d'une série d'images, l'utilisateur pourrait apprécier que les paramètres soient stockés à l'acquittement de l'interface puis rappelés à l'exécution suivante.

Le stockage de préférences est disponible lorsque l'on crée une extension Java d'ImageJ sous la forme d'un plugin : il est disponible au travers de la classe `ij.Prefs` via les fonctions `set` et `get`. Le langage macro n'expose pas directement cette classe, mais permet néanmoins un appel au travers de la fonction `call`.

Travailler avec les préférences (fonction non documentée) :

call("ij.Prefs.set", "macroPoitiers.param1", 1)

Crée une préférence dans le fichier `IJ_prefs.txt` (ce fichier est stocké dans ~/Library/Preferences/ sous Mac OS, ~/.imagej/ sous Linux ou Windows, ~ étant le répertoire utilisateur). Le second argument désigne la clé sous laquelle stockée la préférence, la clé devant obligatoirement être sous la forme "préfixe.suffixe".

maPref = call("ij.Prefs.get", "macroPoitiers.param1", "0")

Rappelle une préférence et la stocke dans la variable. Le second paramètre désigne la clé dont la valeur associée doit être rappelée. Le troisième argument est une valeur par défaut, renvoyée lorsque la clé n'est pas trouvée.

Étape 12 : à vous de jouer !

A faire :
- Créer une nouvelle macro permettant de générer l'interface graphique
- Identifier les étapes à réaliser et les instructions à utiliser
  1. Créer une variable globale stockant le nom de base des images de sortie
  2. L'initialiser en allant lire les préférences ou en lui attribuant une valeur par défaut
  3. Créer une variable globale stockant le répertoire de sortie
  4. L'initialiser en allant lire les préférences ou en lui attribuant une valeur par défaut
  5. Créer une variable globale stockant la largeur de la bande membranaire
  6. L'initialiser en allant lire les préférences ou en lui attribuant une valeur par défaut
  7. Créer une variable globale stockant le rayon à utiliser pour la soustraction de fond
  8. L'initialiser en allant lire les préférences ou en lui attribuant une valeur par défaut
  9. Créer une interface graphique
  10. Ajouter le champ de sélection du nom de base des images de sortie
  11. Ajouter le champ de sélection du répertoire de sortie
  12. Ajouter le champ de sélection de la largeur de la bande membranaire
  13. Ajouter le champ de sélection du rayon à utiliser pour la soustraction de fond
  14. Afficher la boite de dialogue
  15. Stocker dans les variables appropriées les différentes entrées utilisateur
  16. Mettre à jour les préférences système
  17. Encapsuler l'ensemble des instructions sous la forme d'une fonction `GUI`
- Tester la nouvelle macro

Exercice de fin de chapitre

Nous allons terminer ce cours en simplifiant la tâche de l'utilisateur : ses paramètres seront entrés via une interface graphique et ses préférences seront stockées au cours de l'exécution de la macro pour être rappelées à la prochaine analyse.

Étape 13 : à vous de jouer !

A faire :
- Intégrer la fonction `GUI` et les variables globales à la macro de l'étape 11
- Une fonction ne s'exécute que si elle est appelée
- Tester la nouvelle macro