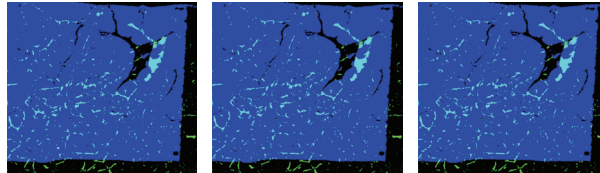


## Chapitre III

### Analyse d'images





## Macrovision et analyse granulométrique en niveaux de gris pour l'analyse histologique de tissus végétaux

Marie-Françoise Devaux<sup>1</sup>, Alain Sire<sup>1</sup>, Patrice Papineau<sup>1</sup>

**Résumé :** *Les cellules végétales des fruits, des racines et dans une moindre mesure des tiges, sont souvent de très grande taille, jusqu'à 1 mm de longueur dans le cas du péricarpe de tomate. Par microscopie optique, le champ de vue avec un objectif  $\times 10$  étant d'environ 1 mm<sup>2</sup>, la caractérisation histologique est difficile. Nous avons développé une approche de quantification à l'échelle macroscopique avec des champs de vue de l'ordre de 1 cm<sup>2</sup> dans l'objectif de caractériser des surfaces représentatives de tissus végétaux. Un dispositif d'acquisition d'images a été construit comprenant un système d'éclairage, des platines motorisées pour contrôler le positionnement de la caméra et des échantillons. La morphologie cellulaire est quantifiée par analyse granulométrique en niveaux de gris, méthode globale ne nécessitant pas de segmentation des cellules et donnant des informations sur leur taille et leur allongement.*

**Mots-clés :** Macrovision, tissus végétaux, granulométrie, morphologie mathématique, taille de cellules

### Introduction

La structure cellulaire des tissus végétaux est étudiée pour son rôle dans les propriétés d'usage des plantes. Par exemple, la taille des fruits ou de leurs tissus dépend de la taille, de la forme et du nombre de leurs cellules (Cheniclet *et al.*, 2005, Harada *et al.*, 2005). Le contrôle de la qualité des produits nécessite d'établir des liens entre la génétique, la structure et les propriétés des tissus végétaux (Chaib *et al.*, 2007). Pour cela, il est nécessaire d'analyser un nombre représentatif d'échantillons et de quantifier chacune de ces caractéristiques.

Classiquement, les études histologiques sont réalisées à l'échelle microscopique. Dans le cas des organes de stockage - fruits, racines, tubercules - les cellules peuvent être très grandes, jusqu'à 1 mm de longueur dans le cas du fruit de tomate et un petit nombre d'entre elles est visible dans le champ de vue d'un microscope. Afin de réaliser des analyses statistiques, les temps de préparation et d'acquisition des images doivent être minimisés. Dans cet article, nous proposons un système d'acquisition d'images à l'échelle macroscopique dédié à la visualisation de coupes effectuées sur des tissus végétaux frais et sans étapes de coloration ainsi qu'une procédure de traitement des images adaptée au type d'images acquises.

L'analyse histologique comprend la mesure de la taille et de la forme des cellules ainsi que leur arrangement. En microscopie les cellules sont identifiées individuellement et des paramètres morphologiques sont extraits pour chacune d'elle. En macrovision la segmentation de chaque cellule est difficile du fait du manque de résolution pour les plus petites et d'un recouvrement possible de plusieurs couches cellulaires. Nous proposons d'appliquer des méthodes d'analyse de *texture d'images* dont l'objectif est de quantifier les variations locales de niveaux de gris. La présence de petites cellules provoque des variations de niveaux de gris

---

<sup>1</sup> UR 1268 Biopolymères, interactions assemblages URBIA-INRA, F-44316 Nantes

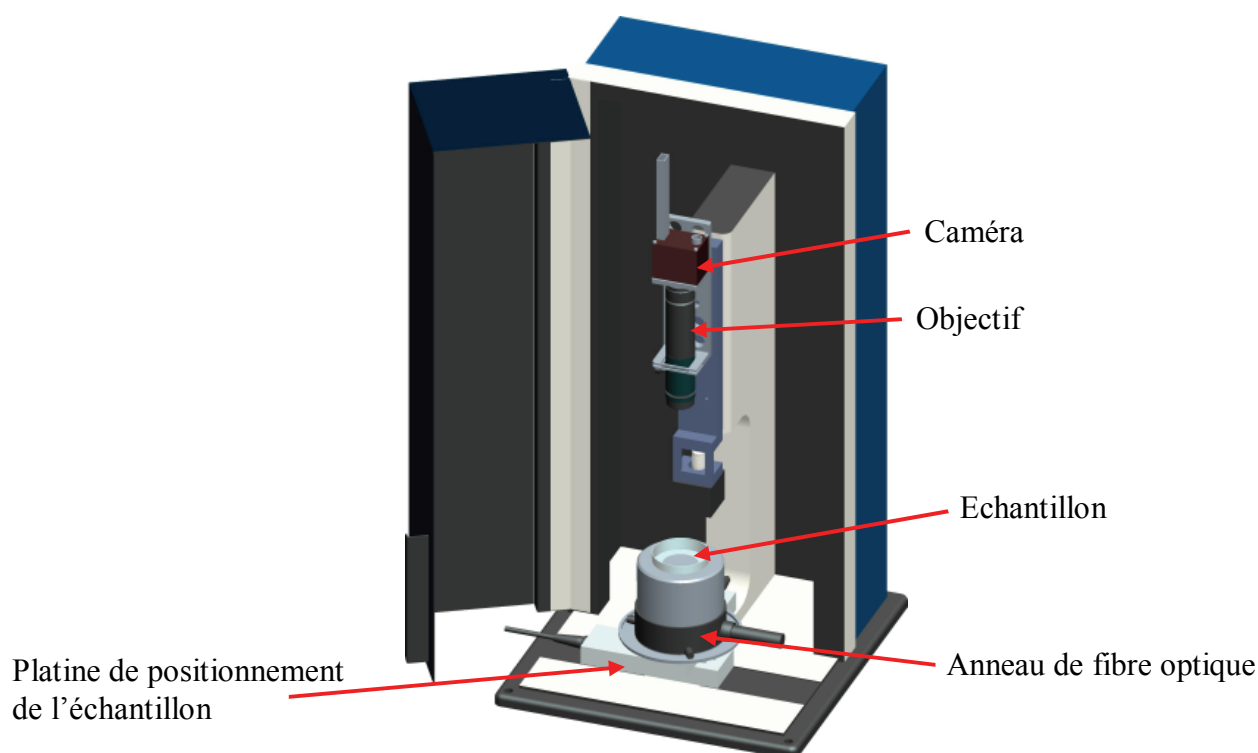
☎ 02 40 67 51 93 ✉ [Marie-Françoise.Devaux@nantes.inra.fr](mailto:Marie-Françoise.Devaux@nantes.inra.fr)

plus fréquentes que les grandes cellules ce qui induit une texture visuelle plus fine. Il existe de nombreuses méthodes d'analyse de texture d'images (Haralick, 1979, Bharati *et al.*, 2004) basées sur le traitement du signal (transformée de Fourier, en ondelettes), sur des comptages statistiques (méthode des co-occurrences de niveaux de gris, longueur de plage), sur des modélisations de transitions de niveaux de gris (modèle autorégressif, champ de markov), sur des mesures multi résolution (fractal, granulométrie par morphologie mathématique). Si beaucoup de méthodes sont performantes notamment pour classer des images, leur interprétation n'est pas toujours évidente. Parmi les méthodes disponibles, nous avons retenu l'*analyse granulométrique en niveaux de gris* issue du domaine de la *morphologie mathématique* (Soille, 2003) car elle s'interprète directement en termes de taille et de forme des objets observés.

## 1. Matériels et méthodes

### 1.1 Préparation des échantillons

L'ensemble du dispositif a été conçu pour observer des tissus végétaux issus principalement de fruits, de racines et de tiges avec une préparation des échantillons la moins lourde possible. Des cubes d'environ 1 cm<sup>3</sup> sont prélevés et des coupes d'épaisseur contrôlée sont effectuées directement sur le produit frais à l'aide d'un microtome à lame vibrante<sup>2</sup>. L'épaisseur des coupes est choisie pour minimiser l'observation de couches cellulaires superposées. En pratique, les épaisseurs dépendent de la taille des cellules et du comportement de l'échantillon à la coupe. Elles varient de 75 à 300 µm.



**Figure 1** : système d'acquisition d'images BlueBox

<sup>2</sup> HM 650 V - Microm International GmbH, Walldorf - Allemagne

## 1.2 Système d'acquisition d'images BlueBox

Un dispositif d'acquisition d'images à l'échelle macroscopique a été construit comprenant une caméra CCD, des objectifs, un système d'éclairage dont l'intensité est contrôlée, des platines motorisées pour positionner la caméra et les échantillons (**figure 1**). Le matériel est décrit plus précisément dans Papineau *et al.*, (2008).

Un anneau de fibres optiques (SCHOTT DCR® IV Light Source) est placé sur un fond noir de manière à rétro-éclairer les coupes avec un angle de 35° environ. La coupe est déposée dans une boîte de pétri placée 5 cm au-dessus du fond noir.

A l'aide d'une caméra PROSILICA EC1600<sup>3</sup> on acquiert des images monochromes de 1620 × 1220 pixels dont les niveaux de gris sont codés soit sur 8 bits entre 0 (noir) et 255 (blanc), soit sur 12 bits entre 0 (noir) et 4096 (blanc). La caméra est équipée d'un objectif PRECISE EYE de chez NAVITAR<sup>4</sup> à focale fixe. Trois grossissements sont possibles en fonction de la lentille choisie : 0,6X, 1,2X et 2,4X. Les champs de vue et la résolution disponibles sont donnés dans le **tableau 1**. Le champ de vue effectif est mesuré avant chaque manipulation grâce à une mire étalon.

Objectif	0,6X	1,2X	2,4X
Taille du pixel	7,33 µm	3,66 µm	1,8 µm
Champ de vue	11,88 × 8,95 mm	5,94 × 4,47 mm	2,97 × 2,24 mm

**Tableau 1** : *champ de vue et résolution disponibles*

L'ensemble caméra/objectif est placé sur un rail motorisé. La netteté de l'image est obtenue en déplaçant l'ensemble caméra/objectif, l'objectif étant réglé dans une position fixe.

L'échantillon est déplacé en X et Y sous la caméra grâce à deux platines motorisées MFA-CC<sup>5</sup> placées perpendiculairement l'une sur l'autre. L'utilisation de platines motorisées permet d'acquérir des images adjacentes sans rotation de l'échantillon qui peuvent être facilement assemblées sous la forme d'images mosaïques.

Le système est piloté par un logiciel développé sous LabView 8.2 (<http://www.ni.com>) conçu pour enregistrer et recharger les réglages correspondant à un type d'acquisition sous la forme de fichiers de protocoles d'acquisition d'images.

## 1.3 Granulométrie en niveaux de gris

L'analyse granulométrique par morphologie mathématique a été développée à l'Ecole des Mines de Paris (Serra, 1982). Son intérêt pour l'analyse de la taille des cellules de péricarpe de tomate a été montré dans (Devaux *et al.*, 2008).

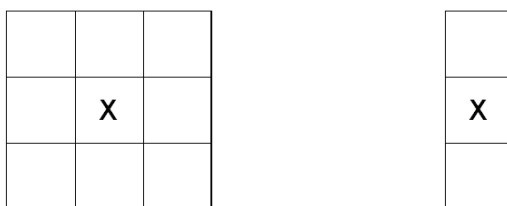
Le principe de base de la morphologie mathématique est de transformer l'image au travers d'un *masque* de géométrie connue appelé *élément structurant* que l'on déplace de façon à ce que son origine passe par toutes les positions de l'image. La taille et la forme de cet élément sont choisies pour mettre en évidence certaines caractéristiques de l'image. Les éléments

<sup>3</sup> Distributeur : Alliance Vision, F-26000 Montélimar

<sup>4</sup> Distributeur : Alliance Vision, France

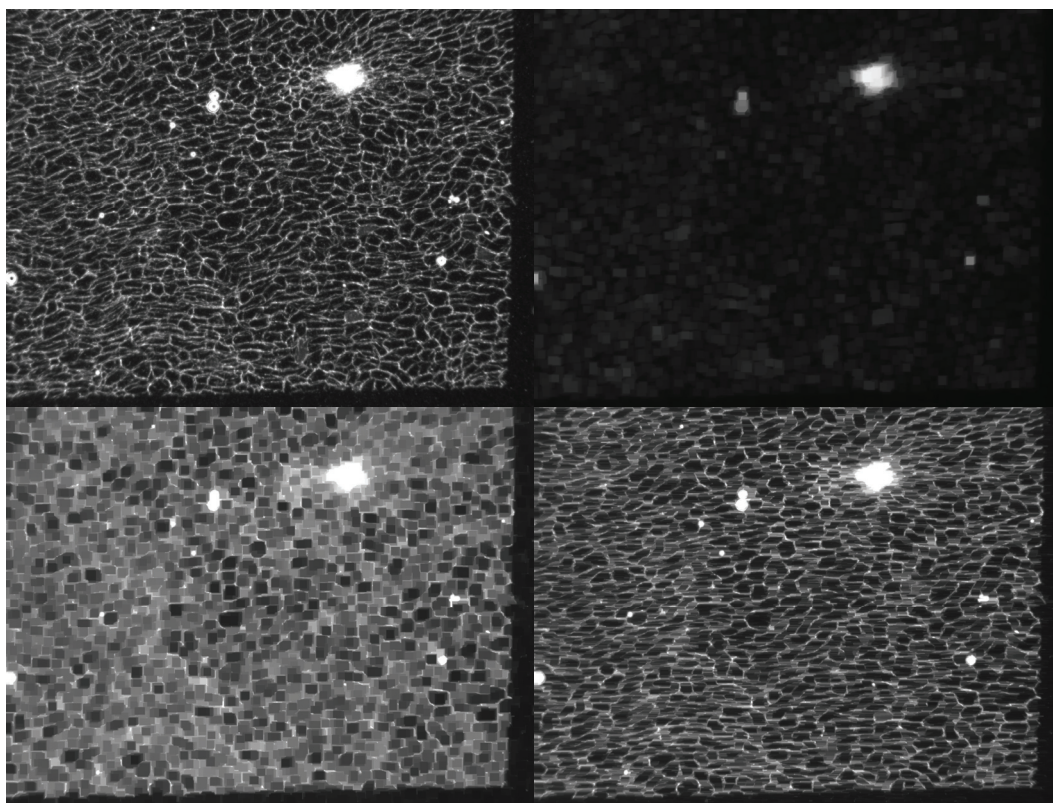
<sup>5</sup> MICRO-CONTROLE SPECTRA-PHYSICS S.A, F- 91000 Évry

structurants usuels sont le carré et la ligne. Le carré est caractérisé par la taille du côté et la ligne par sa longueur et son orientation (**figure 2**).



**Figure 2** : éléments structurants carré et linéaire vertical de taille 3 pixels

La croix marque le pixel de référence modifié en fonction des valeurs de niveaux de gris de ses voisins. Les voisins pris en compte sont ceux vus au travers de l'élément structurant



**Figure 3** : image de pomme près du cœur

Coupe d'épaisseur 150  $\mu\text{m}$  - Champ de vue : 5,8 x 4,4  $\text{mm}^2$  - résolution : 3,62  $\mu\text{m}$  ;  
 Haut : image d'origine : les cellules apparaissent en noir, les parois, les faisceaux vasculaires, les bulles en blanc - ouverture de taille 10 : élément structurant carré ;  
 Bas : fermetures de taille 10 - éléments structurants carré et linéaire horizontal ;  
 La taille de la fermeture est donnée en nombre de pixel de part et d'autre du pixel de référence : ainsi, la fermeture de taille 10 correspond à un carré de taille 21 pixels.

Les transformations de base sont l'érosion et la dilatation. L'érosion consiste à donner au pixel central la valeur minimum observée dans la fenêtre définie par l'élément structurant et la dilatation la valeur maximum. L'effet est de respectivement diminuer et augmenter la taille des objets clairs. En combinant érosion et dilatation, deux nouvelles transformations sont obtenues : l'ouverture (érosion suivie d'une dilatation de même taille) et la fermeture

(dilatation suivie d'une érosion de même taille). L'ouverture et la fermeture ont pour effet d'éliminer les objets respectivement clairs et foncés plus petits que l'élément structurant tout en préservant la taille des objets plus grands (**figure 3**). Après une ouverture de taille 10, toutes les parois des cellules sont éliminées et le faisceau et les plus grosses bulles sont conservés. Après une fermeture, les cellules dont au moins une dimension est plus petite que la taille du carré sont éliminées ; la taille des cellules les plus grandes est préservée. Ouverture et fermeture peuvent être comparées à un tamisage des objets respectivement clairs et foncés observés dans l'image.

Une distribution de taille s'obtient en appliquant des transformations de taille croissante et en effectuant une mesure après chaque transformation. Dans le cas des images de tissus végétaux, les cellules apparaissent en sombre et la taille des cellules est analysée en utilisant des fermetures de taille croissante. Après une fermeture, la somme des niveaux de gris dans l'image, notée  $V$ , augmente. Cette augmentation dépend de la quantité de cellules éliminées. Une courbe granulométrique est calculée comme le pourcentage d'augmentation de la somme des niveaux de gris en fonction de la taille de fermeture :

$$g(i) = \frac{(V(i) - V(i+1))}{(V(\text{initial}) - V(\text{final}))} \times 100 \quad (\text{Eq. 1})$$

où  $V(i)$  est la somme des niveaux de gris après la fermeture de taille  $i$ ,  $V(\text{Initial})$  la somme des niveaux de gris de l'image de départ et  $V(\text{final})$  la somme des niveaux de gris après la dernière fermeture.

Les courbes granulométriques sont tracées en fonction de la taille de l'élément structurant exprimée en pixel ou en  $\mu\text{m}$ . Des procédures d'analyse granulométrique en niveaux de gris ont été développées sous Matlab (V2007a - [www.mathworks.fr](http://www.mathworks.fr)) pour s'appliquer à des collections d'images.

### 1.4 Régions d'intérêt

L'analyse granulométrique ne doit porter que sur la région des cellules, appelée *région d'intérêt* et pas sur le fond sur lequel sont observés les tissus végétaux. Les régions d'intérêt peuvent être déterminées manuellement lorsque le nombre d'images n'est pas trop important. Des procédures automatiques doivent être développées pour les grandes collections d'images.

## 2. Résultats

Dans cet article, l'intérêt de la méthode est montré pour l'analyse de différents tissus végétaux constitués principalement de cellules de parenchyme pour lesquelles les parois sont blanches et l'intérieur de la cellule noir. Les **figures 3 à 5** montrent des exemples d'images de pomme, de tige de maïs et de tomate, acquises à l'aide du système de macrovision BlueBox. Pour chacune des images, le nombre de cellules observées est important et la structure cellulaire apparaît de manière très claire.

### 2.1 Choix de l'élément structurant

La **figure 3** illustre le choix de l'élément structurant. Les cellules sont orientées et allongées horizontalement. Les cellules sont presque toutes fermées en utilisant un élément carré alors que très peu d'entre elles sont fermées en utilisant l'élément linéaire horizontal de même taille. En pratique, les éléments structurants carrés permettent d'analyser la plus petite

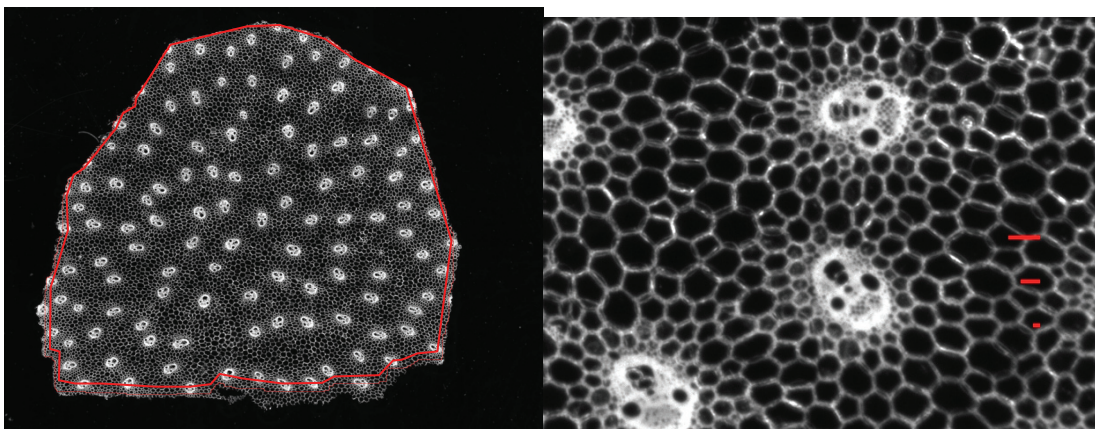


dimension. En fonction de l'information recherchée et du contrôle de l'orientation des objets dans l'image, on choisira un élément carré ou linéaire.

## 2.2 Tiges de maïs

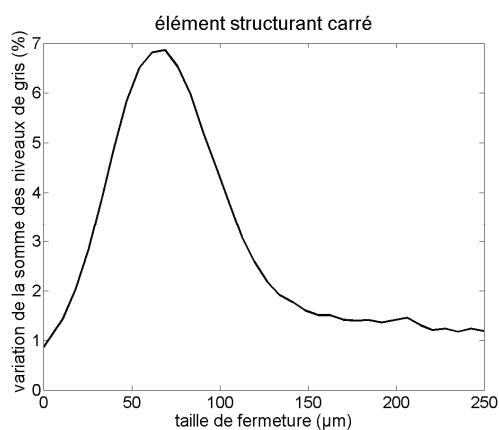
La **figure 4** montre une image mosaïque de tige de maïs reconstruite à partir de 9 images de régions adjacentes pour des coupes d'épaisseur 150  $\mu\text{m}$ . La tige est constituée de deux tissus : les faisceaux conducteurs de sève apparaissant comme des taches blanches de grande taille et les cellules de parenchymes situées entre les faisceaux.

La granulométrie par fermeture en niveaux de gris a été appliquée pour déterminer la taille des cellules de parenchymes. Les cellules étant de forme isotrope, des éléments structurants carrés ont été utilisés. La taille maximum d'analyse a été fixée à 250  $\mu\text{m}$  en explorant les diamètres de cellules à l'aide d'outils interactifs sous ImageJ ([rsbweb.nih.gov/ij](http://rsbweb.nih.gov/ij)). Elle correspond à une fermeture de taille 35.



**Figure 4 :** image mosaïque de tige de maïs (champs de vue : 15,9 mm x 12,4 mm - Résolution 3,62  $\mu\text{m}$ )  
Zoom sur une région de 2,3 x 1,7 mm avec des lignes de longueur 25, 75 et 125  $\mu\text{m}$ .

L'analyse granulométrique a été appliquée sur la région d'intérêt dont le contour est tracé sur la **figure 4**. La courbe granulométrique est tracée en fonction de la taille du côté des carrés exprimée en  $\mu\text{m}$  (**figure 5**). Les variations de niveaux de gris ont été observées principalement pour des tailles variant entre 25 et 125  $\mu\text{m}$  avec un maximum à 75  $\mu\text{m}$ . Les lignes de dimension 25, 75 et 125  $\mu\text{m}$  tracées dans l'image de la **figure 4** montrent la cohérence des valeurs trouvées et des tailles observées pour les cellules.

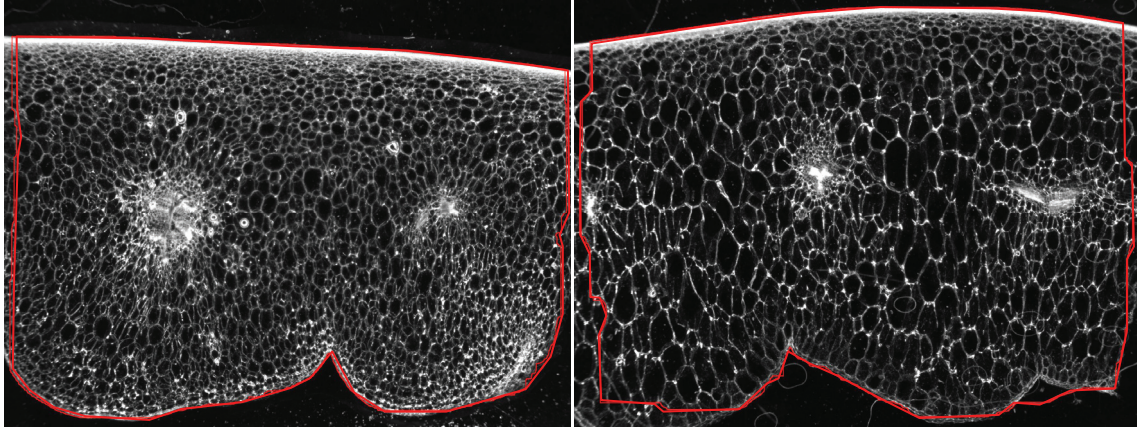


**Figure 5 :** Tige de maïs. Courbe granulométrique par fermeture à l'aide d'éléments structurants carrés



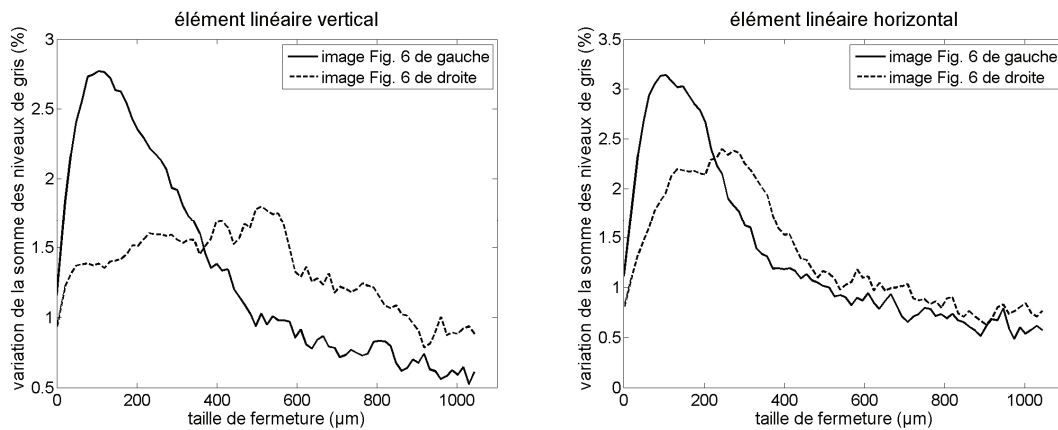
### 2.3 Péricarpe de tomate

La **figure 6** montre deux exemples d'images de péricarpe de tomate obtenues à partir de coupes d'épaisseur de 250  $\mu\text{m}$ . L'épiderme est situé en haut de l'image et on observe des faisceaux vasculaires au centre du péricarpe. Les cellules sont de taille et de forme variable en fonction de la position : petites et rondes près de l'épiderme et plus allongées dans la deuxième moitié du péricarpe.



**Figure 6** : exemples d'images de péricarpe de tomate et leur région d'intérêt.

L'allongement des cellules perpendiculairement à l'épiderme a été mis en évidence en utilisant des éléments structurant linéaires verticaux et horizontaux (**figure 7**). La taille maximum de fermeture a été fixée à 75, correspondant à une longueur de 1060  $\mu\text{m}$ , de manière à analyser les cellules de tomate les plus longues.



**Figure 7** : Courbes granulométriques extraites pour les images de tomate de la figure 6. Gauche : élément linéaire vertical. Droite : élément linéaire horizontal.

Les différences de longueur de cellules perpendiculairement à l'épiderme sont mises en évidence en utilisant un élément linéaire vertical. Dans le cas de la première image, on observe les variations de niveaux de gris majoritairement pour des tailles inférieures à 400  $\mu\text{m}$  alors que dans la deuxième image, on observe des variations jusqu'à 900  $\mu\text{m}$ .

Cette analyse est rendue possible en contrôlant le positionnement de l'épiderme dans l'image lors de l'acquisition et en quantifiant l'allongement des cellules par analyse granulométrique.

## Conclusion et perspectives

L'analyse granulométrique en niveaux de gris d'images de tissus végétaux acquises à l'échelle macroscopique permet d'extraire des informations sur la taille des cellules. L'analyse est dite globale par opposition aux approches quantifiant la taille et la forme de chaque cellule individualisée.

La fermeture étant comparable à un tamisage, les courbes granulométriques s'interprètent comme des distributions de taille. La mesure est basée sur des variations de niveaux de gris et dépend à la fois de la taille des cellules et du contraste entre parois et cellules. En ce sens, la méthode est classée parmi les méthodes d'analyse de texture d'images. Elle ne garantit pas *a priori* une relation de proportionnalité directe entre la variation de niveaux de gris et la quantité réelle de cellules d'une taille donnée. La mesure est proche d'une distribution de surface dans le cas où le contraste entre cellule et paroi est homogène dans les images.

L'intérêt majeur de la méthode est de pouvoir analyser et comparer des collections d'images de tissus végétaux sur la base de la taille des cellules. L'échelle macroscopique présente l'avantage d'observer des régions représentatives des tissus de manière rapide. L'analyse statistique peut être réalisée par analyse multidimensionnelle des courbes granulométriques (Chaïb *et al.*, 2007). Des calculs de *taille moyenne en niveaux de gris* à partir des courbes sont également envisageables.

## Bibliographie

- Bharati M.H., Jay Liu J., MacGregor J.F. (2004) Image texture analysis: methods and comparisons. *Chemometr Intell Lab* 72: 57–71
- Chaïb J., Devaux M.-F., Grotte M.G., Robini K., Causse M., Lahaye M., Marty I. (2007) Genetic and physiologic relationship among physical, sensory, and morphological attributes of texture in tomato fruit. *J Exp Bot* 58: 1915-1925
- Cheniclet C., Rong W.Y., Causse M., Frangne N., Bolling L., Carde J.-P., Renaudin J.-P. (2005) Cell expansion and endoreduplication show a large genetic variability in pericarp and contribute strongly to tomato fruit growth. *Plant Physiol* 139: 1984-1994
- Devaux M.-F., Bouchet B., Legland D., Guillon F., Lahaye M. (2008) Macro-vision and grey level granulometry for quantification of tomato pericarp structure. *Postharvest Biol Technol* 47: 199-209
- Harada T., Kurahashi W., Yanai M., Wakasa Y., Satoh T. (2005) Involvement of cell proliferation and cell enlargement in increasing the fruit size of *Malus* species, *Sci Horticult Amsterdam* 105: 447-456
- Haralick R.M. (1979) Statistical and structural approaches to texture, *Proceedings IEEE* 67: 786-804
- Papineau P., Sire A., Devaux M.-F., Bansard S. (2008) Système de prise d'image macroscopique. Journées de la mesure et de la métrologie, Biarritz, 6-9 octobre 2008
- Serra J. (1982) *Image Analysis and Mathematical Morphology*, London: Academic Press.
- Soille P. (2003) *Morphological Image Analysis: Principles and Applications*. Berlin: Springer-Verlag

## Méthode de suivi de la taille de particules de caillé dans le lactosérum pendant le processus de fabrication fromagère

Hervé Guillemain<sup>1</sup>, Thomas Cattenoz<sup>1</sup>, Bruno Perret<sup>1</sup>

**Résumé :** *Nous proposons une nouvelle méthode pour estimer la proportion volumique des grains de caillé dans le lactosérum et leur répartition par taille en fonction du temps pendant la synérèse lors du brassage en cuve de fromagerie. Elle repose sur la mise au point d'un dispositif de prise d'images original associé à un traitement spécifique des images.*

**Mots clés :** mesure en ligne, analyse d'image, taille de particule, caillé, égouttage en cuve.

### Introduction

Dans le cadre de ses travaux dans le domaine des capteurs et de la mesure en ligne pour l'automatisation de la fabrication fromagère, l'unité de génie et microbiologie des procédés alimentaires de Thiverval Grignon a travaillé sur la coagulation et le raffermissement des caillés, le présent document présente une méthode de suivi de la synérèse. La synérèse est une étape importante de la fabrication fromagère. Le lait passe tout d'abord d'un état liquide à un état de gel appelé coagulum puis la synérèse démarre et transforme le coagulum en caillé. Le réseau protéique constituant le gel se contracte et expulse une fraction liquide, le lactosérum. La quantité de lactosérum rejeté et sa dynamique (vitesse de la synérèse) ont une influence sur le développement microbien lors de l'affinage.

La synérèse peut affecter fortement la qualité finale du fromage. De nombreuses variables, liées au processus fromager, influencent la synérèse et plus globalement l'égouttage il s'agit essentiellement de la taille des particules de caillé, de la température et de la pression qui sera appliquée au moulage (Johnston *et al.*, 1998 ; Whitehead et Harkness, 1954). La mesure de la taille des grains améliorerait le processus de fabrication fromagère. Guillemain *et al.*, (2006), s'appuyant sur le brevet de Perret *et al.*, (2002), ont développé un système de mesure en temps réel de cette taille basé sur une mesure optique et une mesure de contrainte. Cette dernière permet de tenir compte de l'agitation. Ce système simple et facile à mettre en œuvre s'est révélé insuffisant pour une application industrielle malgré l'utilisation de traitements avancés du signal optique : une seule mesure en un point ne donne pas la précision voulue. Une autre méthode a été développée, dans le même esprit de mesure en temps réel, mais en deux dimensions en utilisant une caméra ou un appareil photographique numérique, elle nécessite une bonne prise de vue et des traitements avancés des images obtenues. Le suivi de la taille des grains de caillé au cours du temps devrait permettre de stopper la synérèse à un instant opportun pour la qualité finale du fromage. Nous proposons une méthode de mesure sur des échantillons synthétiques pour valider le système et l'analyse des images.

---

<sup>1</sup> UMR782 GMPA - Génie et microbiologie des procédés alimentaires - INRA- AgroParisTech -  
F-78850 Thiverval-Grignon ☎ 01 30 81 54 93 ✉ [Herve.Guillemain@grignon.inra.fr](mailto:Herve.Guillemain@grignon.inra.fr),  
[Thomas.Cattenoz@grignon.inra.fr](mailto:Thomas.Cattenoz@grignon.inra.fr), [Bruno.Perret@grignon.inra.fr](mailto:Bruno.Perret@grignon.inra.fr)

## 1. Matériels et méthodes

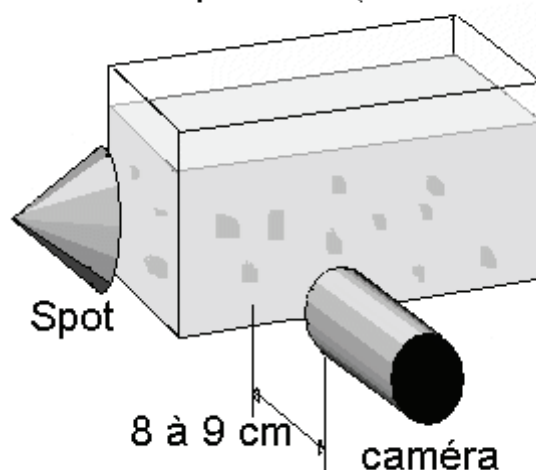
### 1.1 Dispositif expérimental

Le dispositif expérimental (**figure 1**) comporte une cuve transparente, un spot pour l'éclairage (40W, couleur jaune) et un appareil photo numérique (CANON EOS350D, Auchan) pour la prise de vue. Le spot produit une lumière permettant de contraster les grains blancs dans le lactosérum (fond opaque jaunâtre). Dans le dispositif, les grains sont préalablement calibrés à des tailles connues. Ils ont été fabriqués lors d'une précédente coagulation, triés à l'aide de tamis de 1, 2, 3 et 4 mm, puis stabilisés par du formol avant d'être stockés. Même s'ils sont tamisés, ces grains ne sont pas pour autant tous de forme identique. Le contenu de la cuve est agité à l'aide d'un barreau magnétique pour simuler le mouvement des grains dans les cuves industrielles.

Nous effectuons plusieurs mélanges lactosérum/grains pour disposer de différentes concentrations voisines des conditions fromagères (20 %, 30 %, 40 %).

Les préparations ne contiennent que de grains de taille unique (1 à 2, 2 à 3 et 3 à 4mm).

Cuve transparente (L7xH6xI14cm)



**Figure 1 :** *Dispositif expérimental utilisé pour traiter l'image acquise*

### 1.2 Prises de vues

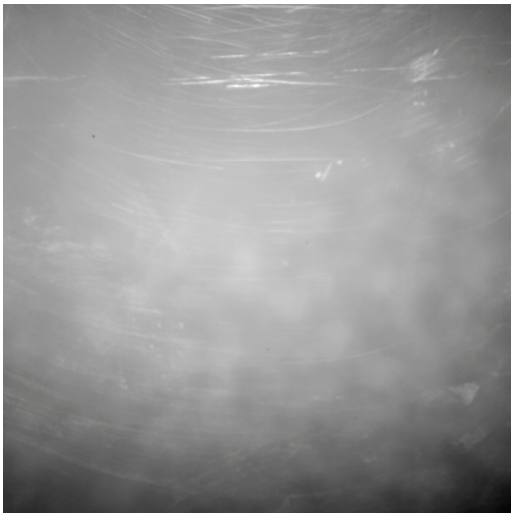
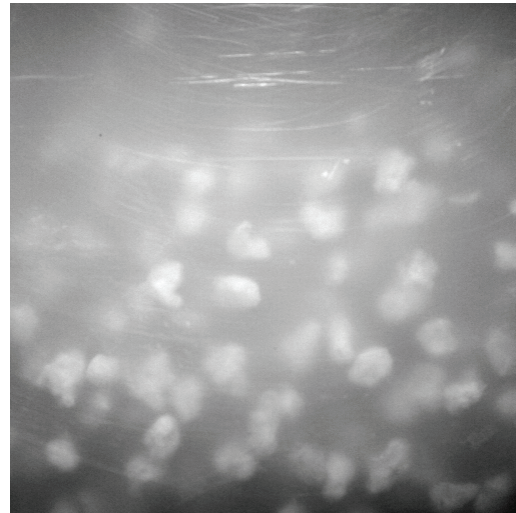
Pour un même échantillon, les images sont prises pendant l'agitation des grains à intervalle régulier de 10s (réglage manuel : temps de pause 1/200s, ouverture 5,6), pendant 3 minutes seulement pour éviter la dégradation des grains. Au total 19 images sont donc acquises pour un même échantillon. La largeur des images est de 3 456 pixels et la hauteur de 2 304 pixels. Les images d'origine sont en couleur codée sur 24 bits. Seule une région de 512 × 512 pixels est extraite de chaque image puis convertie en image monochrome dont les niveaux de gris sont codés sur 8 bits.

Le champ de vue dans les images d'origine est d'environ 8 cm de haut × 12cm de large et celui de la région 512 × 512 de 1,8 cm × 1,8 cm.

### 1.3 Algorithme de traitement

Nous avons réalisé les traitements à l'aide du logiciel **DefNouv** développé en C++ au laboratoire. Les bibliothèques de fonctions spécifiques (ligne de partage des eaux, ...) ont été réalisées par nos soins dans l'optique de créer un code portable occupant un minimum d'espace mémoire destiné à l'origine à être embarqué dans une caméra intelligente. Les traitements comportent six étapes décrites ci-dessous et illustrées sur une image de départ correspondant à des grains de taille de 2 à 3 mm représentant 20 % du mélange grains/lactosérum.

**Image initiale** (exemple)  
Grains de 2 à 3 mm, mélange à 20 % de grains



#### 1<sup>ère</sup> étape

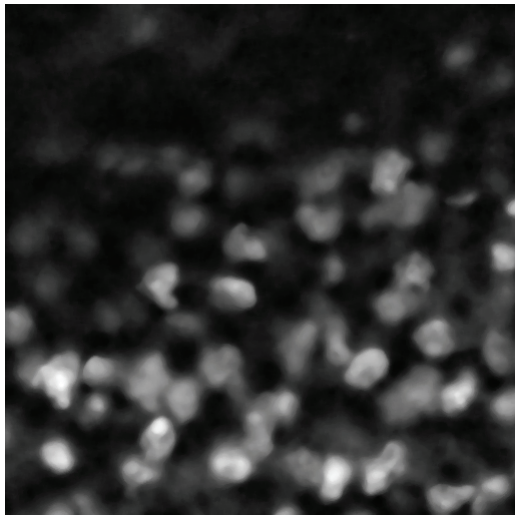
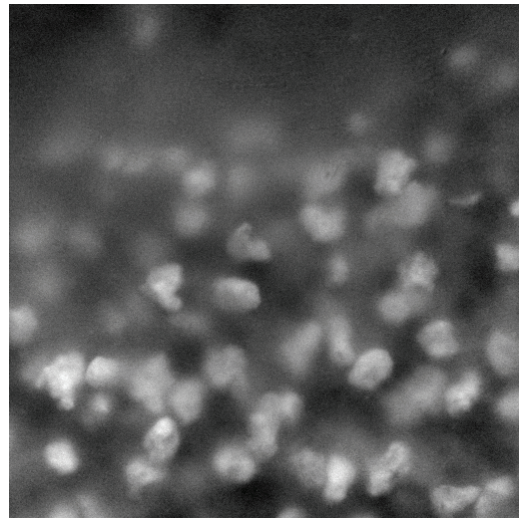
Estimation d'une image des défauts (rayures sur la paroi de la cuve et fond non uniforme dû à la diffusion de la lumière dans le milieu opaque) en 2 étapes. La 1<sup>ère</sup> étape est nécessaire pour corriger les défauts de stabilité de notre dispositif de prise de vue.

- Recadrage spatial de chaque image par rapport à la première image lue en déterminant le maximum de l'inter-corrélation avec la première image sur une zone contenant au moins un défaut convenablement orienté spatialement.
- Calcul de l'image moyenne de la série des 19 images recadrées. Le calcul d'une image sans grain est rendu possible par le mouvement aléatoire des grains. Un simple blanc réalisé à partir de lactosérum sans grain n'a pas été réalisé pour rester au plus proche des conditions opératoires réelles.



### 2<sup>ème</sup> étape

Uniformisation du fond et atténuation des défauts pour chaque image en lui retranchant une combinaison linéaire de l'image moyenne sur toute la série (image obtenue à l'étape 1). Les coefficients optimaux sont obtenus par minimisation de l'erreur quadratique moyenne entre l'image traitée et la combinaison linéaire de l'image moyenne :  $Im\_corr. = Im\_dép. - (a Im\_moy. + b)$ . a et b sont obtenus analytiquement en annulant le gradient de l'erreur quadratique. Une formule littérale permet donc d'obtenir directement les valeurs de a et b, sans recourir à un quelconque algorithme (cf. annexe).



### 3<sup>ème</sup> étape

Application d'un filtre médian de taille 8 pour atténuer le bruit tout en préservant les contours.

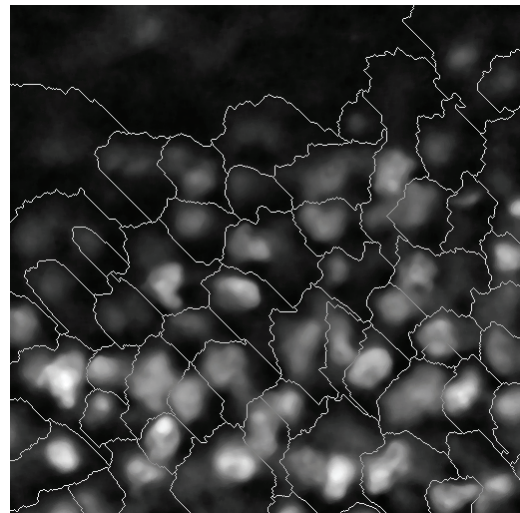
Uniformisation de l'histogramme des niveaux de gris par la méthode d'égalisation d'histogramme pour améliorer le confort visuel.

### 4<sup>ème</sup> étape

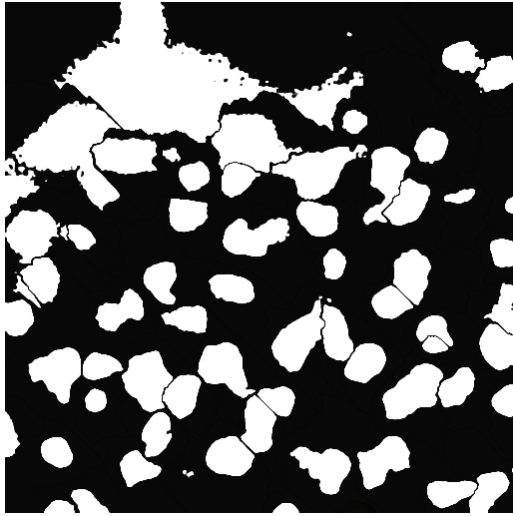
Segmentation des images (après inversion) à l'aide de l'algorithme de ligne de partage des eaux (LPE) en négligeant tous les minima locaux dont la hauteur est strictement inférieure à un seuil de 20 sur l'échelle des 256 niveaux.

L'image obtenue est une image binaire où les frontières sont représentées par des 1 et les régions par des 0. L'image représentée est le résultat d'un opérateur 'OU' logique entre l'image de départ et l'image segmentée.

Chaque région est supposée contenir 1 grain.





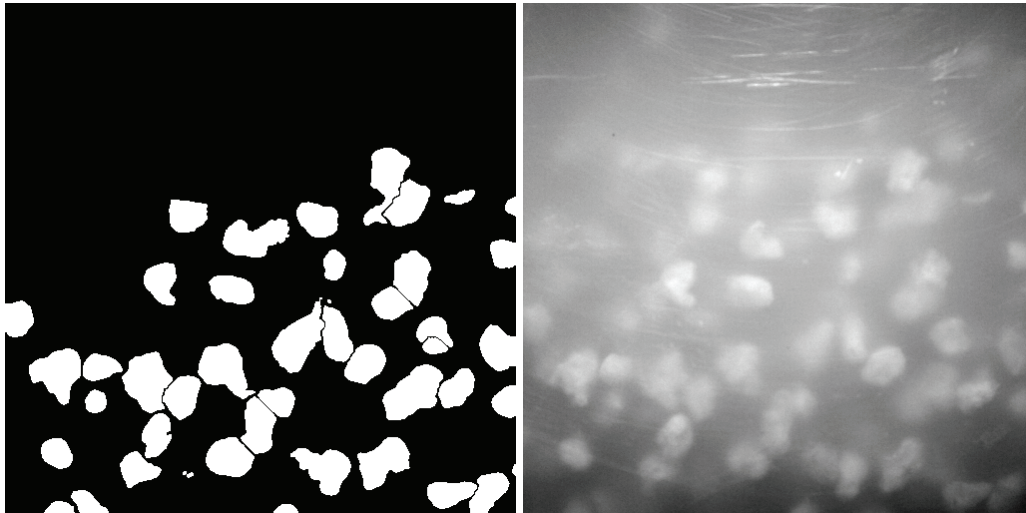


### 5<sup>ème</sup> étape

Détermination d'une 1<sup>ère</sup> approximation de la taille de chaque grain par seuillage adaptatif région par région. L'algorithme utilisé est un algorithme de relaxation probabiliste (Hummel R.A. and Zucker S.W., 1983 ; Kittler J. and Illingworth J., 1986).

La taille des grains est estimée en calculant le diamètre équivalent, et la proportion par le pourcentage de surface.

### 6<sup>ème</sup> et dernière étape



Suppression des grains trop peu contrastés. La netteté des grains est estimée par la moyenne de la norme du gradient au niveau des contours de chaque grain trouvé. Les grains trop peu contrastés sont éliminés par comparaison du gradient avec un seuil fixé à 15. Pour comparaison, l'image initiale est placée à proximité de l'image traitée.

**Figures 2 :** description des 6 étapes de l'algorithme utilisé

À l'heure actuelle, tous les paramètres de réglage, à chacune des 6 étapes, sont choisis heuristiquement de façon à réaliser un bon compromis entre résultats obtenus et temps de calcul. À l'étape 1 par exemple, plus la taille de la fenêtre utilisée dans le calcul est grande, meilleur est le recalage (car les détails sont plus nombreux) mais dans ce cas, le temps de calcul est élevé. Le paramètre le plus délicat à déterminer pour arriver à cette qualité de résultat est probablement le seuil de l'algorithme LPE à l'étape 4.

## 2. Résultats

Nous présentons sur les **figures 3** des exemples de résultats obtenus pour les 3 tailles de grains.

Les résultats traités en termes de proportions de grains par rapport au caillé (en %) et de taille de grains (en mm) sont reportés dans la **figure 4**.

Nous avons testé deux proportions (20 et 40 % de grains dans la partie liquide) avec à chaque fois 3 tailles de grains (1 et 2 mm, 2 et 3 mm, 3 et 4 mm).

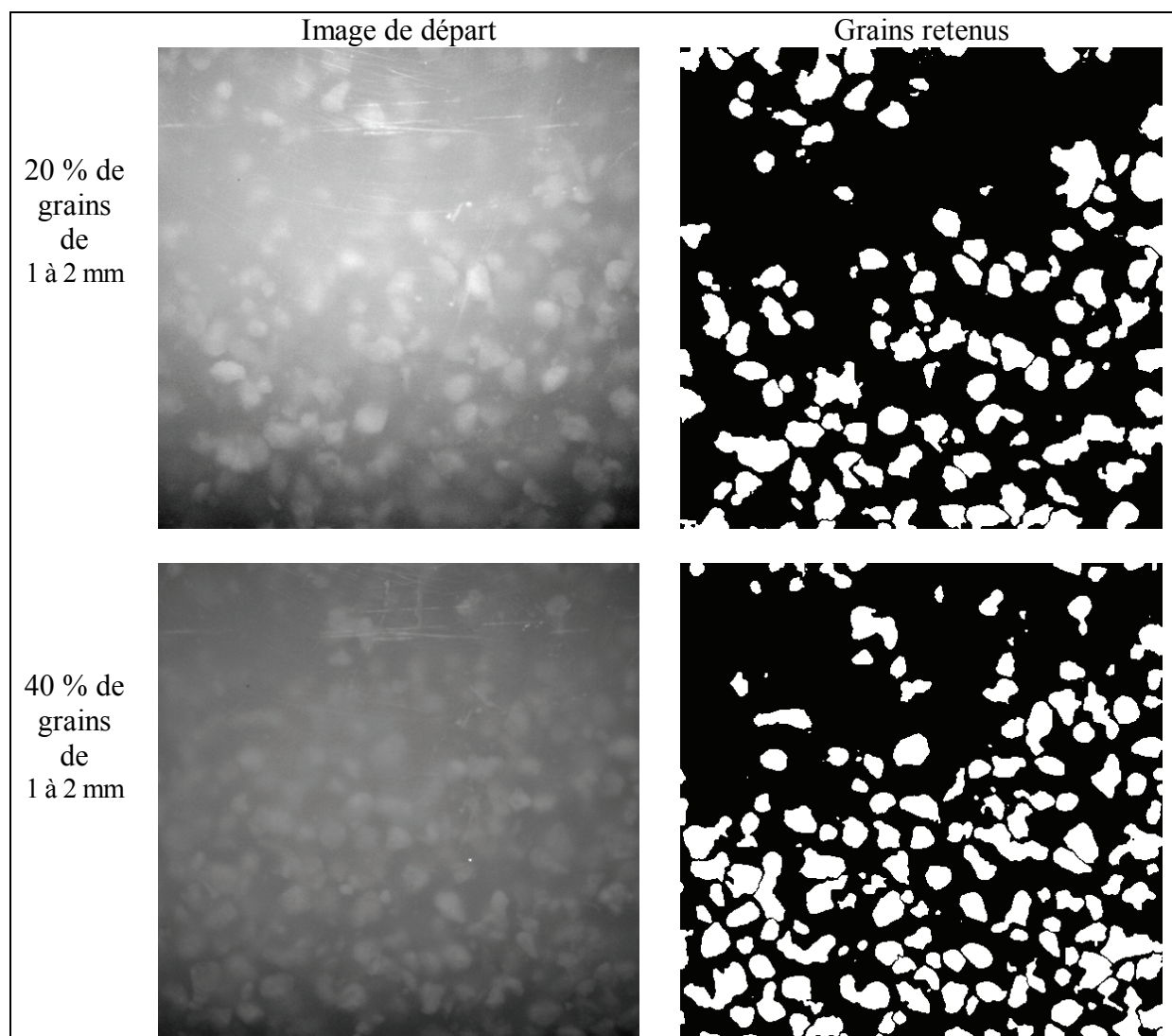
Les pourcentages de grains calculés ont tendance à être sous-estimés de 11 % pour le mélange à 40 % (quelle que soit la taille des grains). Pour le mélange à 20 %, l'erreur sur la proportion est de 4 % sauf avec les tailles 3 et 4 mm où elle est de 8,3 % (soit une erreur relative importante de 40 %).

Au niveau des tailles, les histogrammes présentés dans les figures 4 montrent une dispersion assez grande mais la moyenne correspond bien aux tailles cibles. Les histogrammes sont d'autant plus étalés que la taille standard des grains est élevée.

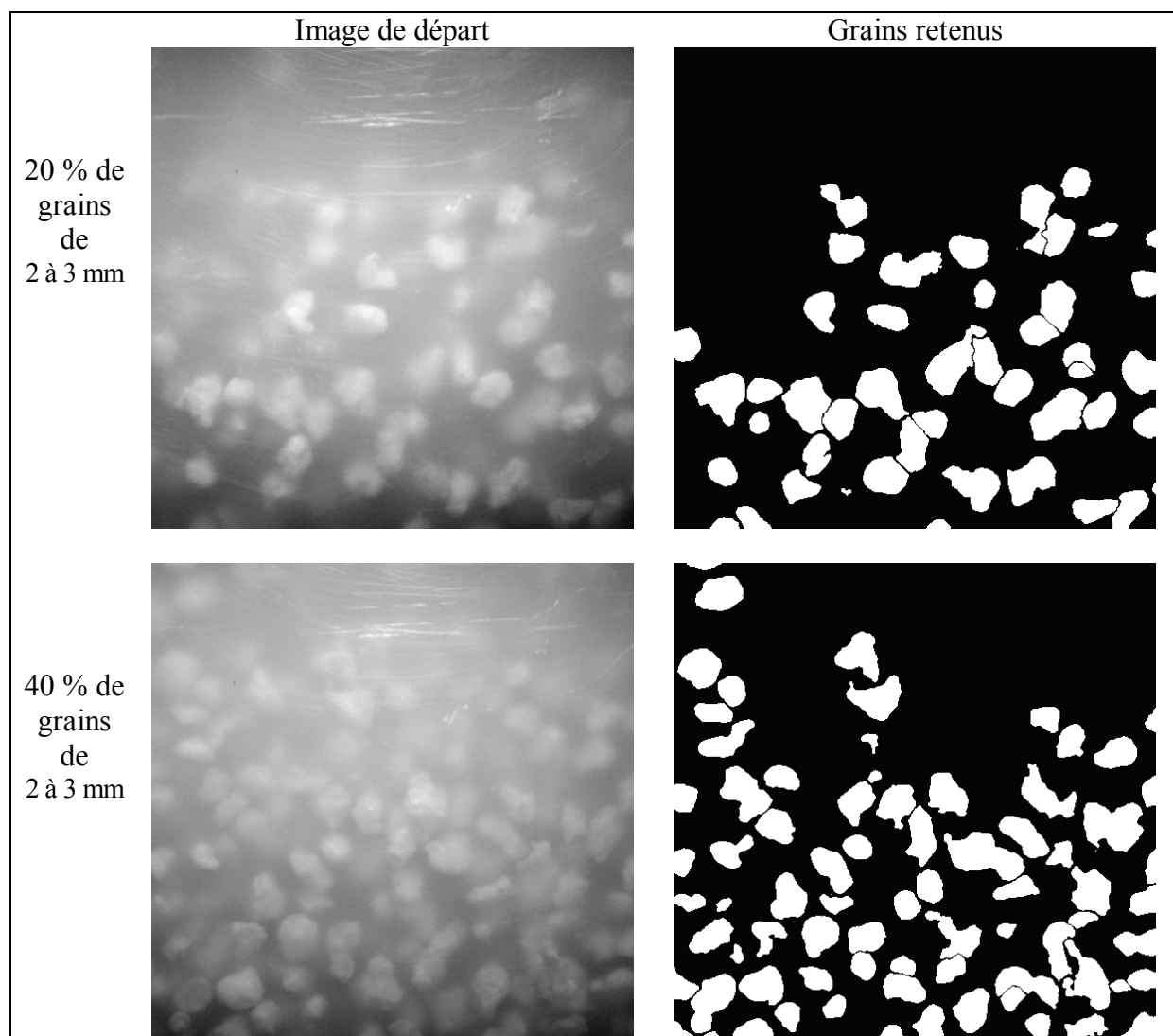
Du fait de l'anisotropie des grains de caillé, la solution proposée ici apporte une véritable amélioration par rapport à l'article publié en 2006 (Guillemin *et al.*), car elle donne une dimension supplémentaire et donc une estimation plus précise du volume des grains.

On pourrait poursuivre dans cette voie en imaginant une prise de vue stéréoscopique de la scène à l'aide de 2 caméras juxtaposées afin accéder enfin à la 3<sup>ème</sup> dimension et par conséquent, au volume réel de chaque grain.

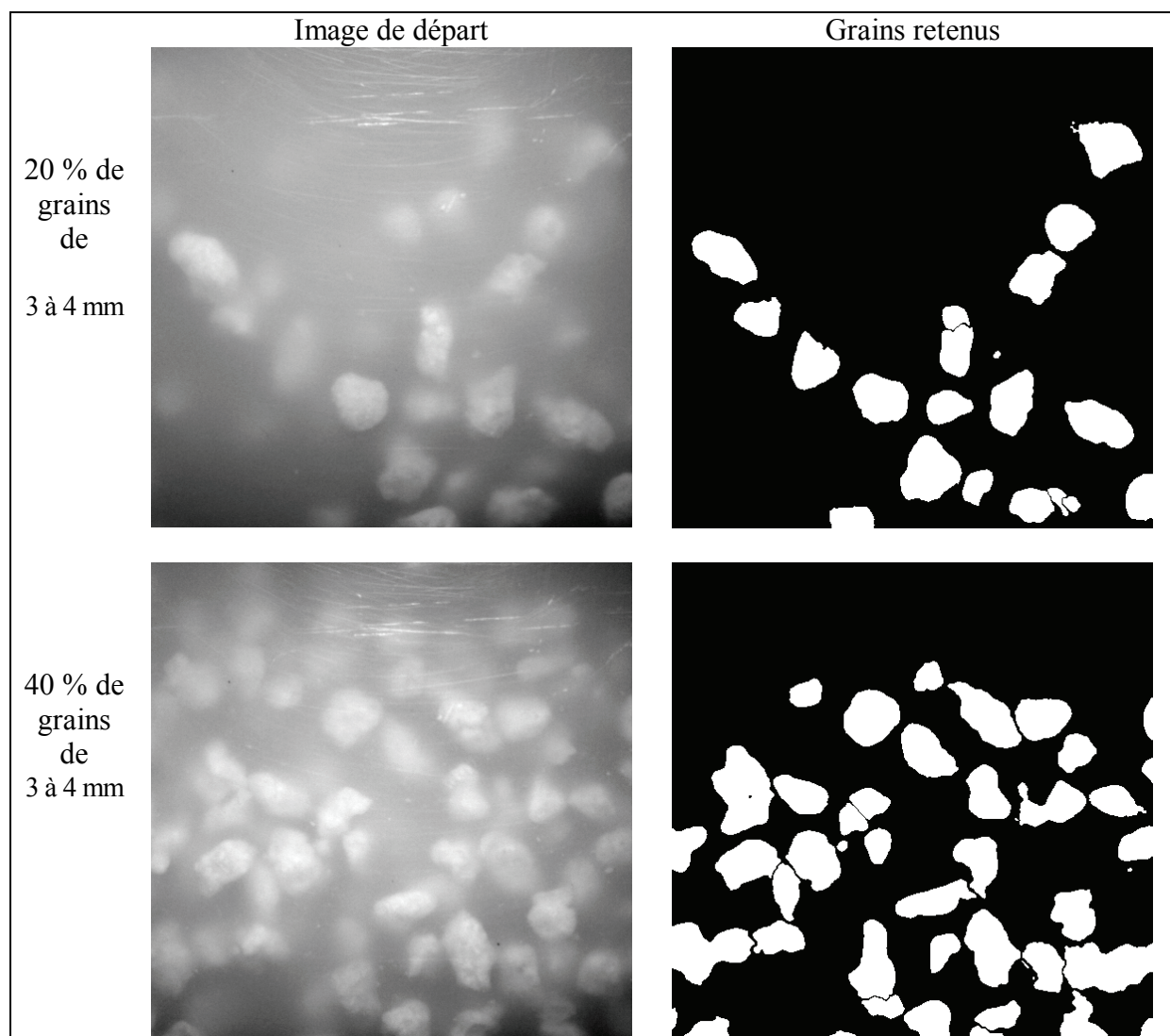
La solution proposée révélera tout son intérêt pour les fromagers quand une solution plus compacte sera mise en œuvre : de petites caméras embarquant toute la puissance de calcul nécessaire au traitement des images existent déjà. Au niveau industriel, il faut savoir que positionner la caméra pour avoir une bonne prise de vue ne sera pas toujours facile.



**Figure 3a :** *exemples d'images traitées et d'origine pour des tailles de grains de 1 à 2 mm*



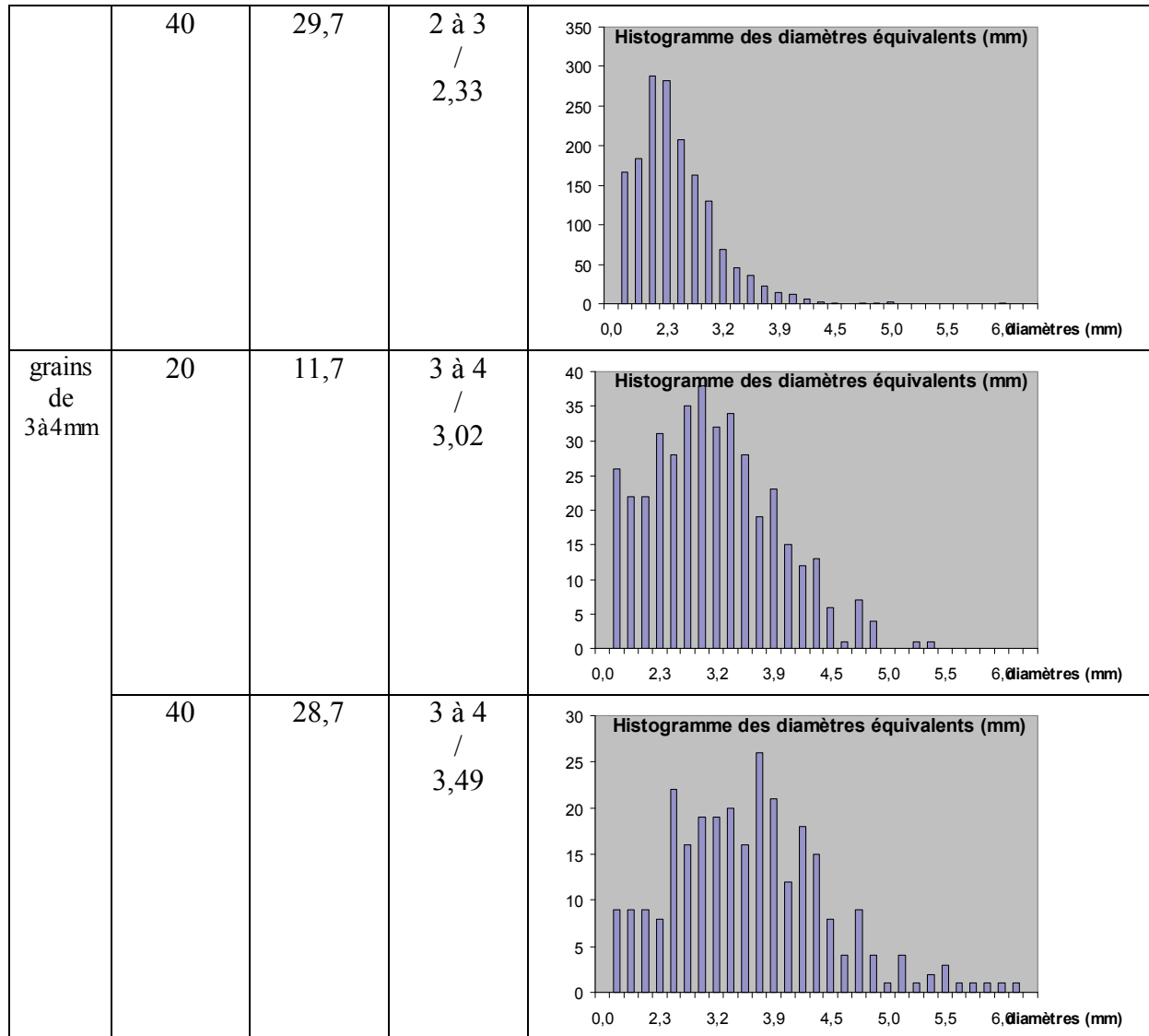
**Figure 3b** : exemples d'images traitées et d'origine pour des tailles de grains de 2 à 3 mm



**Figure 3c** : exemples d'images traitées et d'origine pour des tailles de grains de 3 à 4 mm

	Proportion de grains par rapport au lactosérum (%)		Taille des grains (mm)	
	Attendue	Mesurée	Attendue / Moyenne calculée	Mesurée (diamètre équivalent)
grains de 1 à 2mm	20	24,0	1 à 2 / 1,96	
	40	28,2	1 à 2 / 1,69	
grains de 2 à 3mm	20	16,8	2 à 3 / 2,41	





**Figure 4** : résultats obtenus à 20 et 40 % de grains pour les tailles (1 à 2 mm ; 2 à 3 mm et 3 à 4 mm)

## Conclusion

Les résultats obtenus peuvent paraître insuffisants dans une optique de suivi et surtout de contrôle de procédé : les écarts observés entre les proportions de grains mesurées et attendues sont parfois grands (de 3 à 12 %). En effet on ne s'attend pas à trouver, dans les résultats de la classification pour une classe donnée, des grains des autres classes. À la lecture des résultats visuels obtenus, l'algorithme utilisé, s'il peut être amélioré, n'est pourtant pas la principale cause de cette contre performance. Celle-ci s'explique par les deux faits suivants :

- il est difficile de sélectionner des grains de taille strictement comprise entre deux valeurs (du fait de l'hétérogénéité de forme des grains et aussi parce que des grains se désagrègent lorsqu'ils sont brassés) dans une proportion précise (car les grains classifiés sont humides lorsque les mélanges sont préparés) ;

- le mécanisme utilisé pour brasser le mélange est à améliorer (si possible) car dans aucune des images les grains ne sont uniformément répartis.

Les prises de vue sont à améliorer, elles ne reflètent peut être pas suffisamment le contenu de la cuve. On voit bien sur les **figures 3** que l'algorithme détecte correctement les objets qui se trouvent sur l'image d'origine. Il semble que ce qui est observé visuellement ne reflète pas correctement la globalité du phénomène, on sous estime vraisemblablement la quantité de grains, ceux ci restent en profondeur, ce que confirment les résultats.

Par ailleurs, de par sa conception, l'algorithme ainsi développé sera facile à mettre en œuvre en temps réel dans un logiciel d'acquisition.

## Bibliographie

- Guillemin H., Trelea I.C., Picque D., Perret B., Cattenoz T., Corrieu G. (2006) An optical method to monitor casein particle size distribution in whey, *Lait* 86, 359–372
- Hummel R.A. and Zucker S.W. (1983) "On the foundations of relaxation labeling processes," *IEEE Pattern Analysis and Machine Intelligence*, 5, (3), 267-287
- Johnston K. A. J. Luckman M. S, Lilley H. G. and Smale B. M. (1998) Effect of Various Cutting and Stirring Conditions on Curd Particle Size and Losses of Fat to the Whey during Cheddar Cheese Manufacture in Ost Vats, [International Dairy Journal](#) 8, 281-288
- Kittler J. and Illingworth J. (1986) Relaxation labelling algorithms-a review, *Image and Vision Computing*, .Nov.3, (4), 206-216
- Perret B., Picque D., Cattenoz T., Corrieu G. (2002) Procédé de contrôle de l'égouttage des grains de caillé et dispositif pour sa mise en oeuvre, French Patent n° FR2822953
- Whitehead H.R. and Harkness L. (1954) The influence of variations in cheese-making procedure on the expulsion of moisture from cheddar cheese curd, *Aust. J. Dairy Technol.* 9, 103–107

## Annexe

### Soient :

$x$  l'image en cours de traitement.

Moy l'image moyenne.

$N$  la taille des images (supposées carrées).

$i, j$  les indices des lignes, respectivement des colonnes dans les images ( $x[i][j]$  représente par exemple le niveau gris dans l'image  $x$  au pixel de coordonnées  $(i, j)$ ).

On cherche à minimiser l'erreur quadratique moyenne suivante :

$$\xi = \sum_i \sum_j (x[i][j] - (a \cdot \text{moy}[i][j] + b))^2$$

(la double somme porte sur tous les pixels de l'image)

Les paramètres  $a$  et  $b$  qui minimisent  $\xi$  sont ceux pour lequel le gradient  $\text{grad}_{a,b}(\xi) = \underline{0}$ , autrement dit ceux qui annulent les dérivées partielles de  $\xi$  :

$$\begin{aligned} 0 &= \partial \xi / \partial a \\ &= -2 \sum_i \sum_j \text{moy}[i][j] (x[i][j] - a \cdot \text{moy}[i][j] - b) \\ &= -2 (\sum_i \sum_j \text{moy}[i][j] \cdot x[i][j] - a \cdot \sum_i \sum_j \text{moy}^2[i][j] - b \sum_i \sum_j \text{moy}[i][j]) \\ 0 &= \partial \xi / \partial b \\ &= -2 \sum_i \sum_j (x[i][j] - a \cdot \text{moy}[i][j] - b) \\ &= 2 (\sum_i \sum_j x[i][j] - a \cdot \sum_i \sum_j \text{moy}[i][j] - bN^2) \end{aligned}$$

### Notons :

$$\begin{aligned} \sigma_1 &= \sum_i \sum_j x[i][j] \\ \sigma_2 &= \sum_i \sum_j \text{moy}[i][j] \\ \sigma_{22} &= \sum_i \sum_j \text{moy}^2[i][j] \\ \sigma_{12} &= \sum_i \sum_j (x[i][j] \cdot \text{moy}[i][j]) \end{aligned}$$

$\sigma_1, \sigma_2, \sigma_{22}$  et  $\sigma_{12}$  sont des constantes.

Nous obtenons un système de 2 équations à 2 inconnues :

$$\begin{aligned} 0 &= \sigma_{12} - a \cdot \sigma_{22} - b \cdot \sigma_2 \\ 0 &= \sigma_1 - a \cdot \sigma_2 - b \cdot N^2 \end{aligned}$$

### Soit :

$$\begin{aligned} a &= (\sigma_{12} - \sigma_1 \cdot \sigma_2 / N^2) / (\sigma_{22} - \sigma_2^2 / N^2) \\ b &= (\sigma_1 - a \cdot \sigma_2) / N^2 \end{aligned}$$



## Recalage d'images multimodales

### Approche méthodologique et application aux images de muscles bovins acquises par auto fluorescence et par résonance magnétique nucléaire

Frédéric Peyrin<sup>1</sup>, Jean-Marie Bonny<sup>1</sup>

**Résumé :** *Un banc d'imagerie dans l'ultraviolet et le visible a été développé pour séparer, à l'échelle macroscopique, les différentes composantes structurales du muscle. Les images obtenues avec ce banc doivent être comparées à celles acquises avec la méthode de référence, l'imagerie par résonance magnétique nucléaire. Les images issues de ces deux modalités ne sont pas superposables directement en raison de leur format d'acquisition et des déformations spatiales inhérentes aux biais instrumentaux. Nous avons donc développé une approche méthodologique pour mettre en correspondance les images obtenues par auto fluorescence par rapport à celles obtenues par résonance magnétique nucléaire.*

**Mots clés :** viande, IRM, auto fluorescence, image, recalage, multi-modalité, MATLAB.

### Introduction

La tendreté de la viande est une qualité sensorielle importante pour le consommateur. Elle est dépendante en partie de la teneur des principaux constituants que sont les fibres musculaires, les tissus lipidiques et le tissu conjonctif composé principalement de collagène. Il existe une grande variabilité du taux de collagène présent dans la viande selon différents facteurs comme le type de muscle, l'espèce, la race ou l'âge de l'animal. L'objectif de la filière de transformation de produits carnés est de trier et d'orienter automatiquement les muscles vers une destination de viande à griller pour les plus pauvres en collagène ou vers des procédés technologiques pour les plus riches en collagène.

Les études menées au laboratoire (Abouelkaram *et al.*, 2006) ont permis de caractériser les propriétés physiques et sensorielles des composants de la viande, d'évaluer leur quantité relative et leur distribution spatiale grâce à un système d'imagerie multi-spectrale. Pour cette occasion, un banc utilisant la propriété d'auto-fluorescence des différents constituants du muscle bovin *biceps femoris* a été développé : il optimise les images des échantillons selon leur signature spectrale spécifique dans l'ultraviolet et le visible. Notre projet est de comparer ce banc à la technique de référence qu'est l'imagerie par résonance magnétique nucléaire (IRM).

Cependant, pour comparer ces images entre elles, un des points essentiels concerne leur prétraitement par fusion. En effet, la fusion d'images en multi-modalité (Jégou *et al.*, 2004) est indispensable pour mettre en correspondance spatialement les images acquises par les techniques différentes que sont l'imagerie en auto-fluorescence et l'IRM.

La mise en correspondance d'image est le processus d'alignement de deux ou de plusieurs images de la même scène par transformation géométrique afin de comparer ou de combiner leurs informations respectives (Jégou et Bonmartin, 2004). Cette technique est généralement

---

<sup>1</sup> UR370 Qualité des Produits Animaux - INRA - F-63122 Saint Genès Champanelle

☎ 04 73 62 42 59

✉ [peyrin@clermont.inra.fr](mailto:peyrin@clermont.inra.fr)

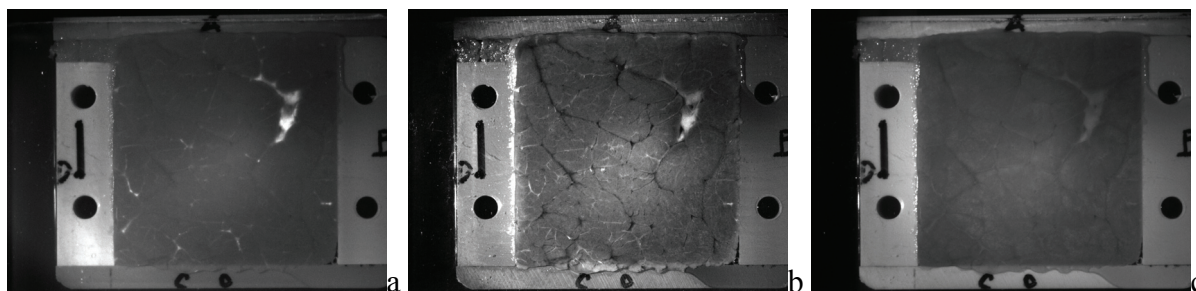
utilisée comme une étape préliminaire avant d'autres applications de traitement d'image. Suite à cette mise en correspondance, nous pourrions comparer les détails dans les images pour voir si tel composant de la viande est identifiable à la fois dans les deux modalités.

Dans la suite de l'article, nous présentons successivement la nature des images à mettre en correspondance, la méthode de recalage choisie pour ces images, la méthode de calcul des paramètres, et enfin les résultats obtenus.

## 1. Acquisition des images

Les images en fluorescence acquises avec une caméra numérique SONY XCD-SX900UV ont une résolution de 8 bits en niveaux de gris et une taille de 1280 x 960 pixels. Les images RMN acquises avec le système BRUKER<sup>2</sup> de l'équipe STIM<sup>3</sup> ont une meilleure résolution en niveaux de gris (16 bits) et une plus faible résolution spatiale (320 x 320 pixels). Pour chacune des deux modalités, trois contrastes sont enregistrés.

Les images en fluorescence de muscles bovins mettent en évidence le gras (**figure 1a**), le collagène (**figure 1b**) et l'ensemble des tissus (**figure 1c**) grâce à la sélection des couples de longueur d'onde d'excitation et d'émission correspondants à l'auto-fluorescence de ces composés (respectivement 320-405 nm, 380-440 nm et sans filtres).



**Figure 1** : image de l'échantillon 5ST1 (semitendinosus de l'animal 5) en auto-fluorescence mettant en évidence (a) le gras ;(b) le collagène ;(c) l'ensemble des tissus.

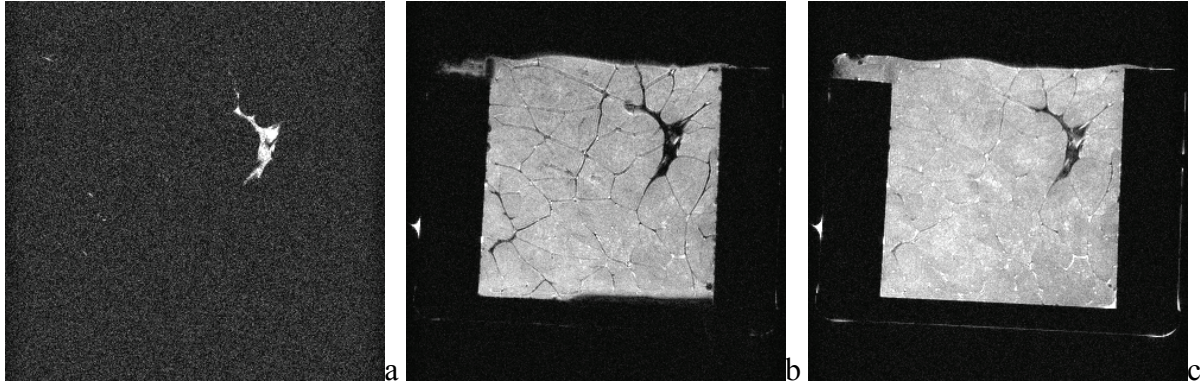
Les images RMN des mêmes muscles bovins mettent en évidence le gras uniquement (**figure 2a**), le réseau conjonctif constitué de gras et de collagène (**figure 2b**) et l'eau exsudée entre les faisceaux de fibres musculaires (**figure 2c**). Ces images ont été obtenues à l'aide de différentes méthodes d'acquisition (ou séquences) qui produisent un contraste particulier.

Pour chacun des échantillons étudiés, ces 6 possibilités correspondent à l'acquisition d'autant d'images qui seront ultérieurement traitées pour servir à la construction d'une combinaison linéaire optimale permettant de maximiser le contraste entre les différents tissus d'intérêt.

<sup>2</sup> BIOSPEC 4.7T + console AVANCE 200 + gradient d'imagerie BGA-12 + sonde volumétrique « birdcage »

<sup>3</sup> Structures Tissulaires et Interactions Moléculaires





**Figure 2 :** images RMN de l'échantillon 5ST1 mettant en évidence différentes composantes musculaires :  
 (a) le gras intramusculaire à l'aide d'une séquence annulant le signal de l'eau ;  
 (b) le réseau conjonctif à l'aide d'une séquence sensible aux variations locales de champ magnétique ;  
 (c) l'eau exsudée entre les faisceaux de fibres (pixels clairs) à l'aide d'une séquence sensible aux différences de mobilité des protons.

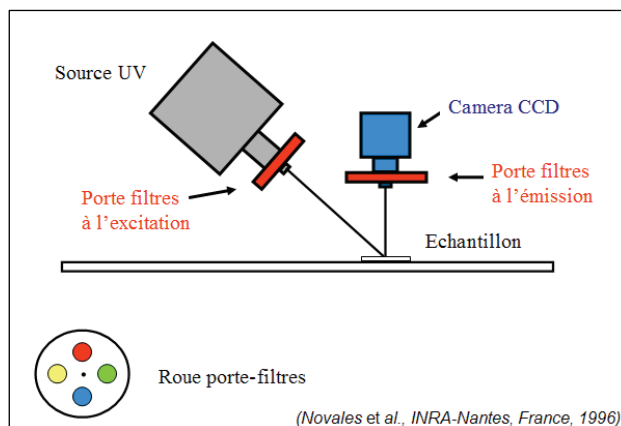
## 2. Méthode de recalage d'images utilisée

Une image appelée l'image de base ou de référence est considérée comme la référence à laquelle seront comparées toutes les autres images appelées images d'entrée. L'objectif de la mise en correspondance d'image est d'aligner l'image d'entrée avec l'image de base en appliquant une transformation spatiale à l'image d'entrée. Deux étapes critiques interviennent dans la qualité du résultat :

- le choix de la transformation géométrique,
- la mesure de l'alignement des images.

### 2.1 Choix des modèles de transformation

Pour notre application, les images acquises selon les deux modalités sont enregistrées grâce à des systèmes instrumentaux de principes très différents dont les biais, les formats de sauvegarde et les résolutions spatiales et spectrales sont très différents. Les différences entre l'image d'entrée et l'image de sortie peuvent être dues à un effet du relief ou à d'autres changements de perspective quand l'image de la même scène est prise depuis différents points de vue. Les distorsions des lentilles des objectifs et des autres capteurs ou les différences entre plusieurs types de capteurs peuvent aussi causer une distorsion (**figure 3**).



**Figure 3 :** principe de l'imagerie multi spectrale par fluorescence (Novaes et al., 1996).

Le type de recalage est dit monomodal si deux images de la même modalité, mais de contraste différent, sont recalées ensemble. Lorsque deux images de modalités différentes sont recalées, il s'agit alors de recalage de type multimodal. Nous avons appliqué différents modèles de déformation suivant les types rencontrés.

### **2.1.a Pas de transformation inter-contraste pour les images en auto-fluorescence**

Pour les images en auto-fluorescence, le changement de couples de longueurs d'ondes entre l'acquisition de deux contrastes est réalisé par rotation des filtres dans un barillet. Du fait même du principe d'acquisition, il n'y a pas de déformations. Le recalage d'images entre les différents contrastes en auto-fluorescence n'est donc pas nécessaire.

### **2.1.b Transformation inter-contraste rigide pour les images RMN**

Pour les images RMN, l'échantillon restant immobile entre l'acquisition de deux contrastes différents, il n'y a pas de déformations locales. Par contre, nous avons observé entre les différents contrastes RMN des déformations globales qui sont certainement liées aux réglages instrumentaux. Pour les recalés entre eux, nous avons donc appliqué à ces contrastes une transformation rigide de type « affine ». Nous avons ainsi corrigé les déformations induites par les différents modes d'acquisition par IRM.

### **2.1.c Transformation intermodale élastique pour les images RMN par rapport aux images en auto-fluorescence**

Nous avons constaté que l'échantillon, même s'il est maintenu dans un portoir n'est plus exactement dans la même configuration après manipulation pour transfert entre le banc RMN et le banc d'imagerie par auto-fluorescence. Nous avons donc appliqué une transformation élastique basée sur l'algorithme dit de « moyenne pondérée localement » (LWM) pour passer d'une modalité à l'autre grâce à des déformations locales. Le sujet d'étude étant l'imagerie en auto fluorescence et les images RMN ayant une résolution spatiale inférieure, nous avons choisi de déformer la modalité RMN.

## **2.2 Mesure de similarité entre les images**

Parmi les techniques de mesure de similarité entre deux images, on en distingue deux grandes catégories : celles qui utilisent des points de repère et celles qui exploitent l'image dans sa totalité (méthodes dites iconiques). Nous utilisons pour notre application la technique de recalage des images basée sur des points de contrôle choisis par l'utilisateur. Cette technique possède de nombreuses applications et permet de tirer partie de l'information complémentaire apportée par plusieurs images obtenues dans une même ou plusieurs modalités d'imagerie.

Une cartographie des emplacements caractéristiques visibles dans les deux images est obtenue par pointage de points de contrôle avec la souris. Dans notre application, nous utilisons des repères intrinsèques caractéristiques liés à la morphologie anatomique de la coupe de viande observée. La clé du procédé de mise en correspondance de l'image réside ensuite dans la détermination des paramètres de la transformation spatiale nécessaire pour aligner les images. La réalisation d'un recalage d'images utilisant une cartographie par points de contrôle nécessite de développer une méthode commune aux différents types de modèles présentés et dont nous décrivons les étapes. Cette méthode est commune aux différents modèles présentés.

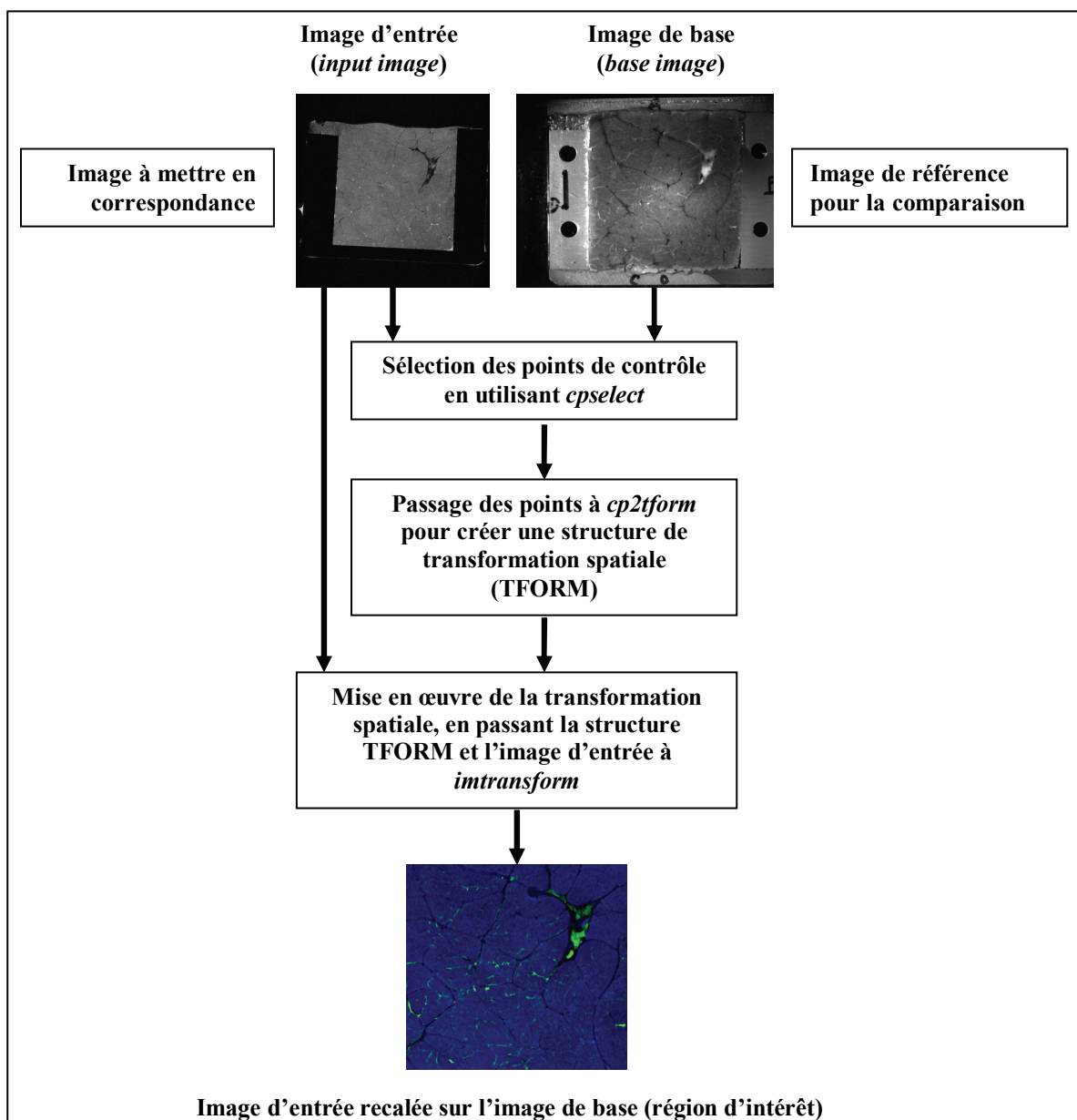
## **3. Implémentation MATLAB**

Dans le but d'une plus grande clarté, nous avons choisi de présenter la méthode de calcul pour une seule paire d'images. Nous avons choisi un contraste dans chacune des deux modalités

pour la coupe de muscle bovin de l'échantillon SST1 : pour l'image en auto fluorescence, le contraste correspond au collagène (**figure 1b**) et pour l'image image par IRM à mettre en correspondance, le contraste correspond au tissu conjonctif (**figure 2b**).

La boîte à outils « traitement d'images » (Image Processing Toolbox™) de MATLAB met à disposition un outil de pointage afin de déterminer les paramètres de la transformation requis et d'aligner une image par rapport à une autre. Cette boîte à outils propose un outil interactif, le « Control Point Selection Tool », utile pour sélectionner des paires de points de contrôle en correspondance dans deux images. Ces points de contrôle sont des repères, des détails particuliers, communs aux deux images. Une cartographie spatiale peut alors être déduite du maillage donné par la position de ces points de contrôle et le recalage devient possible par calcul de déformations globales ou locales.

La **figure 4** montre le principe de cette méthode de recalage d'images.



**Figure 4** : méthode de recalage d'images dans l'environnement MATLAB

### 3.1 Lecture et mise à l'échelle des images

Cette image n'est pas corrigée *a priori* et elle inclut des distorsions liées au principe d'acquisition. La première partie du script importe les deux images dans l'espace de travail de MATLAB et les met à la même taille en utilisant :

```
Image_base=imread('base_multimod.tif');
Image_input=imread('input_multimod.tif');
taille= size(Image_base);
Image_input= imresize(Image_input,taille)
```

Pour redimensionner une image, nous utilisons la fonction *imresize* en lui spécifiant le facteur de grossissement *taille*. Ce facteur est un vecteur contenant le nombre de lignes et de colonnes de l'image de sortie. Nous avons fait coïncider ces valeurs avec celles de l'image de référence. Ainsi, les images ont toutes la même taille.

L'interpolation utilisée estime la valeur d'une image à une position située entre les pixels de l'image. Quand *imresize* agrandit l'image, ce qui est notre cas, l'image de sortie de cette fonction contient plus de pixels que l'image originale. La fonction *imresize* utilise l'interpolation pour déterminer les valeurs des pixels additionnels.

Les méthodes d'interpolation déterminent la valeur du pixel interpolé en trouvant le point dans l'image d'entrée qui correspond à un pixel dans l'image de sortie et en calculant alors la valeur du pixel de sortie en procédant à une moyenne pondérée des pixels voisins de ce point. La pondération est basée sur la distance séparant chaque pixel du point.

Par défaut, *imresize* utilise l'interpolation bi-cubique pour déterminer les valeurs des pixels dans l'image de sortie, mais d'autres méthodes d'interpolation peuvent être spécifiées.

### 3.2 Choix et sauvegarde des points de contrôle

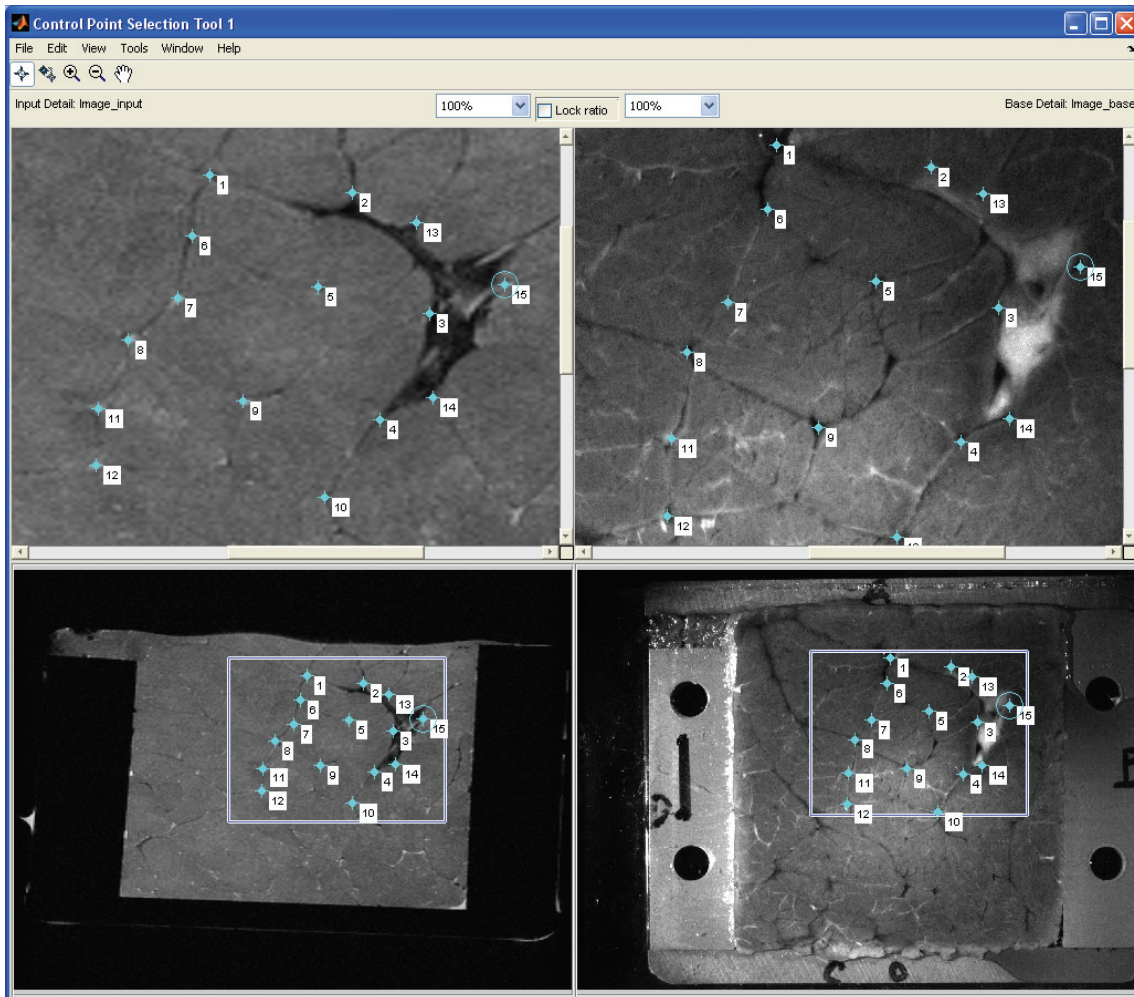
La fonction *cpselect* propose de voir les deux images, respectivement d'entrée et de base dans lesquelles l'opérateur doit pointer les points de contrôle avec la souris.

```
[image_points,ortho_points] = cpselect(Image_input,Image_base,'Wait',true)
```

Il faut spécifier l'option « wait » : *cpselect* bloque la ligne de commande MATLAB jusqu'à ce que les points de contrôle soient sélectionnés et que ce jeu de points de contrôle retourne les positions dans l'image d'entrée et dans l'image de base.

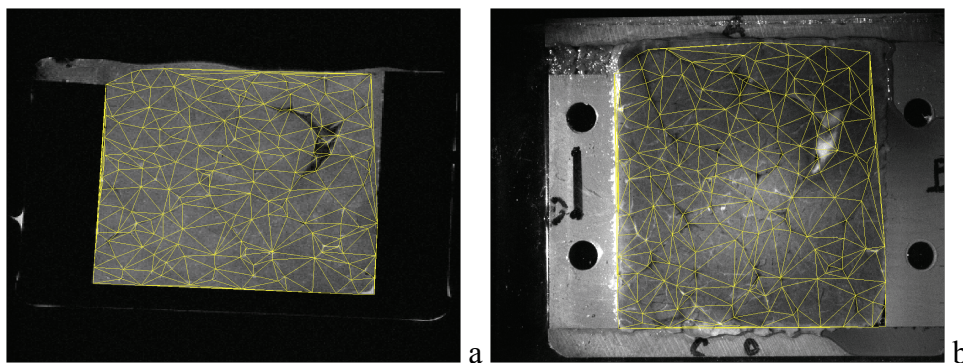
La **figure 5** montre cet outil qu'est le « Control Point Selection Tool » en cours d'utilisation.





**Figure 5 :** copie d'écran lors de l'utilisation de l'outil de sélection des points de contrôle. Les images d'entrée et de base sont respectivement à gauche et à droite, les images « zoomées » (en haut) représentent les vues agrandies à partir des cadres bleus des images d'origine (en bas).

Le tableau des « input points » et des « base points » est ensuite sauvegardé dans un fichier TXT afin d'être exploité ultérieurement. La **figure 6** représente les maillages obtenus à partir des coordonnées spatiales de 200 points de contrôle pour les images d'entrée et de base.



**Figure 6 :** maillage de la zone d'intérêt grâce à 200 paires de points de contrôle (a) dans l'image d'entrée et (b) dans l'image de base.

### 3.3 Choix du type de transformation

Dans cette étape, les points de contrôle sont passés à la fonction *cp2tform* qui détermine alors les paramètres de la transformation nécessaire pour aligner l'image. La fonction *cp2tform* est une fonction d'ajustement de données qui détermine la transformation basée sur une relation géométrique entre les points de contrôle. Cette fonction renvoie les paramètres dans une structure de transformation géométrique *t\_concord* appelée structure TFORM.

$$t\_concord = cp2tform(image\_points, ortho\_points, Deformation)$$

Il faut spécifier le type de transformation souhaité. La fonction *cp2tform* peut déduire les paramètres pour 6 types de transformation (**figure 7**). Il faut choisir quelle transformation corrigera le type de distorsion dominante dans l'image d'entrée. En effet, certaines images peuvent contenir plusieurs types de distorsion.

Type de transformation	Nombre minimum de paires de points requis
'linear conformal'	2
'affine'	3
'projective'	4
'polynomial' (d'ordre 2, 3, ou 4)	Resp. 6, 10, 15
'piecewise linear'	4
'lwm'	6

**Figure 7** : nombre minimum de paires de points requis en fonction du type de transformation.

Les quatre premières transformations, « linear conformal », « affine », « projective », et « polynomial » sont des transformations globales. Pour ces transformations, une seule expression mathématique est appliquée à une image entière. Les deux dernières transformations, « piecewise linear » et « lwm » (local weighted mean), sont des transformations locales. Pour ces transformations, différentes expressions mathématiques s'appliquent à différentes régions d'une image. Le choix du type de transformation affecte le nombre de paires de points de contrôle à sélectionner.

Comme indiqué dans le chapitre 2, nous avons utilisé la transformation « affine » pour les corrections inter-contrastes des images RMN et la transformation « lwm » pour le recalage intermodal entre les images en autofluorescence et les images RMN.

### 3.4 Transformation de l'image d'entrée

L'étape finale de la mise en correspondance d'image consiste à transformer l'image d'entrée pour l'aligner avec l'image de base en utilisant la fonction *imtransform* pour effectuer la transformation, en lui passant l'image d'entrée *Image\_input* et la structure *t\_concord* qui définit la transformation. La fonction *imtransform* retourne l'image transformée *Ir* :

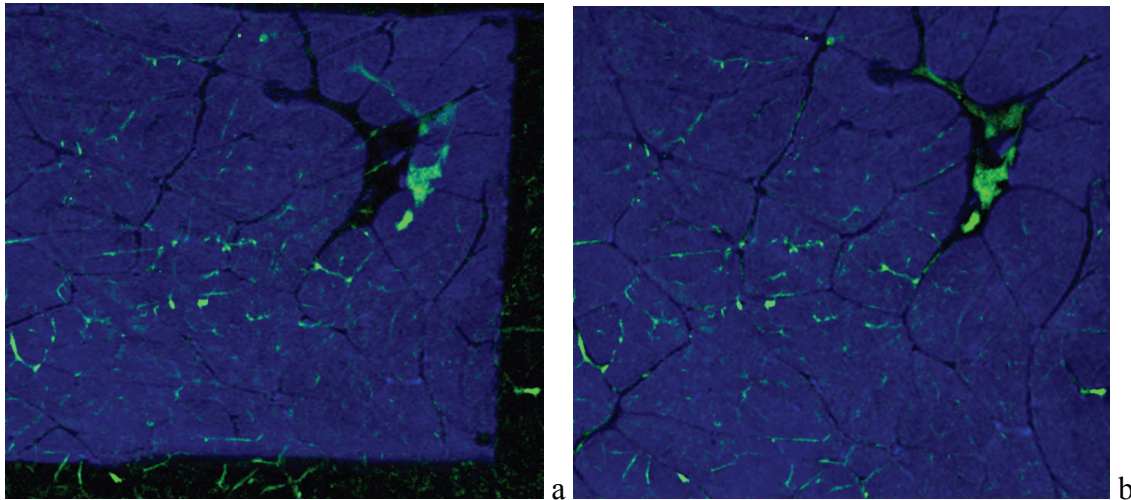
$$Ir = imtransform (Image\_input, t\_concord, 'XData', [1 info.Width], 'YData', [1 info.Height])$$

Cette nouvelle image est sauvegardée au format TIF sans compression.



## 4. Résultat

En ce qui concerne la visualisation, nous avons utilisé l'une des approches principales qui consiste à calculer une nouvelle image contenant à la fois l'image de référence et l'image recalée et à représenter leur superposition selon un codage couleur. Dans notre cas, l'image RMN est représentée en bleu et l'image par auto-fluorescence en vert. La **figure 8** représente la région d'intérêt choisie (701 x 651 pixels). Cette image fusionnée en multi-modalité permet une première validation visuelle. Elle montre qu'après transformation, les images obtenues en IRM et en auto fluorescence sont parfaitement superposées.



**Figure 8** : représentation en fausses couleurs de la région d'intérêt, ajustement et recalage de l'image RMN en bleu par rapport à l'image par auto-fluorescence en vert. (a) avant recalage ; (b) après recalage.

## Conclusion

Avec la méthode que nous avons développée, nous pouvons mettre en correspondance des images issues de différentes techniques d'acquisition. Nous avons superposé 6 contrastes issus de 2 modalités différentes. Nous avons automatisé le procédé en décrivant toutes les étapes dans un script MATLAB (**annexe**). Celui-ci à l'avantage de rendre possible le traitement d'un grand nombre d'images. Il est facilement utilisable par un utilisateur novice qui voudrait mettre en œuvre rapidement cette technique pour son application. L'utilisation de transformations rigides ou élastiques prend en compte de façon réaliste les phénomènes rencontrés comme certains bords instrumentaux ou comme la déformation des échantillons lors de leur manipulation. Les images mises en correspondance grâce à ces transformations peuvent être maintenant utilisées dans la construction et l'ajustement d'un modèle mathématique paramétrique explicatif des propriétés de la viande.

Une validation plus rigoureuse pourrait être effectuée selon d'autres techniques comme l'information mutuelle résultante des images traitées, ou bien encore par mesure de distances à partir des tableaux des coordonnées des points de contrôle.

Cette méthode de recalage peut également trouver d'autres applications : dans le domaine de l'histologie, par exemple, il s'agit de réunir des données issues de plusieurs de coupes sériées proches mais différentes. Grâce cette méthode de recalage, nous pouvons mettre en correspondance les coupes histologiques servant au marquage immunologique avec les coupes utilisées en micro-spectroscopie infrarouge (IR). Nous pouvons ainsi cartographier précisément les cellules d'intérêt, leurs types métabolique et contractile et recueillir ensuite spécifiquement leurs spectres IR afin d'étudier leurs caractéristiques chimiques.

## **Bibliographie**

- Abouelkaram S., Chauvet S., El Jabri M., Strydom P., Bertrand D., Damez J.L. (2006) Muscle study with multispectral image analysis *in* 52nd International Congress of Meat Science and technology (ICoMST), 669-670
- Jégou C., Bonmartin A. (2004) Fusion d'images en multimodalité *in* Médecine nucléaire - Imagerie fonctionnelle et métabolique, **28** (11): 553-560
- Novalés B., Bertrand D., Devaux M.F., Robert P., Sire A. (1996) Multispectral fluorescence imaging for the identification of food products *in* Journal of the Science of Food and Agriculture, **71** (3): 376-382

## Annexe : script MATLAB (*multimod\_CDT.m*)

Pour procéder au même type de recalage sur un nombre important d'images, nous avons automatisé le procédé en décrivant les différentes étapes dans un script MATLAB. Celui-ci ouvre l'outil de sélection des points de contrôle avec une image d'entrée à modifier et une image de base servant de référence. Le script utilise les points de contrôle sélectionnés par l'opérateur pour créer une structure TFORM et passer à la fois cette structure et l'image d'entrée à la fonction *imtransform* dont la sortie donne l'image déformée et mise en correspondance.

Le script MATLAB suivant, accompagné de deux images de test, permet de mettre en œuvre immédiatement la méthode décrite dans cet article :

```
%% DEFORMATION D'IMAGES MULTIMODALES
% PROJET IMAGES MULTIMODALES
% FRÉDÉRIC PEYRIN
% 2009-01-16 : VERSION 1
```

```
%% INITIALISATION
```

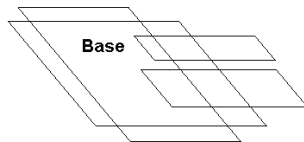
```
clear all;
close all;

% date et heure
RefTemp=datestr(now,30);
```

```
%% CHARGEMENT DES IMAGES
```

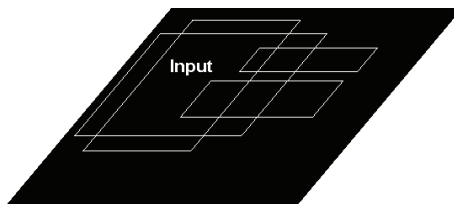
```
% chargement de l'image de base
```

```
Image_base=imread('base_multimod.tif');
```



```
% chargement de l'image à modifier
```

```
Image_input=imread('input_multimod.tif');
```



```
%mise à la même taille des 2 images
```

```
taille= size(Image_base);
Image_input= imresize(Image_input,taille);
```

```
%% CHOIX DES PARAMETRES DE TRAITEMENT D'IMAGES
```

```
R = input(strcat('Quel type de déformation voulez-vous ? \n',...
'déformations globales (toute l''image est déformée de la même façon) \n \n',...
' 1 - linear conformal \n',...
' 2 - affine (DEFAULT) \n',...
' 3 - projective \n',...
' 4 - polynomial (ORDER=3) \n\n',...
'déformations locales (l''image est déformée de façon hétérogène) \n \n',...
'
```

```

        ' 5 - piecewise linear \n',...
        ' 6 - local weighted mean (lwm) \n',...
        '\n',...
        ' fermer la fenetre "Controle point selection" après avoir sélectionné la dernière
paire de points \n'),'s');

switch R
case '1'
    Deformation='linear conformal';
case '2'
    Deformation='affine';
case '3'
    Deformation='projective';
case '4'
    Deformation='polynomial';
case '5'
    Deformation='piecewise linear';
case '6'
    Deformation='lwm';
otherwise
    Deformation='affine';
end

%% MISE EN CORRESPONDANCE DES IMAGES

% sélection des paires de points dans chacune des 2 images (voir help cpselect)
[image_points,ortho_points] = cpselect(Image_input,Image_base,'Wait',true);

% calcul de la déformation (voir help cp2tform)
t_concord = cp2tform(image_points,ortho_points,Deformation);

% transformation (voir help imtransform)
info = imfinfo('base multimod.tif');
Ir = imtransform(Image_input,t_concord,'XData',[1 info.Width],'YData',[1 info.Height]);

%% SAUVEGARDE DES RESULTATS

% Sauvegarde de l'image déformée
imwrite(Ir, [RefTemp,'_test_image_déformée.tif'],'tif','compression','none');

figure (1)
imagesc(Ir);
colormap (gray)

% Sauvegarde du tableau des « input points »
fichier_result=[RefTemp,'_test_input_points.txt'];
fid1 = fopen(fichier_result,'wt');
fprintf(fid1,'Nom_fichier\t x_image\t y_image\n');

for nn=1:size(image_points)
    fprintf(fid1,'%s\t %f\t %f\n','test', image_points(nn,1),image_points(nn,2));
end

fclose(fid1);

% Sauvegarde du tableau des « base points »
fichier_result=[RefTemp,'_test_base_points.txt'];
fid1 = fopen(fichier_result,'wt');
fprintf(fid1,'Nom_fichier\t x_ortho\t y_ortho\n');

for nn=1:size(ortho_points)
    fprintf(fid1,'%s\t %f\t %f\n','test',ortho_points(nn,1),ortho_points(nn,2));
end

fclose(fid1);

```