

Application et méthodologie d'acquisition d'images

- Imagerie industrielle est utilisée comme outil de contrôle et de gestion
 - augmentation flexibilité et productivité des ateliers
 - intervention a différents niveaux de la chaine de production
 - meilleure compréhension/garantie qualité des produits

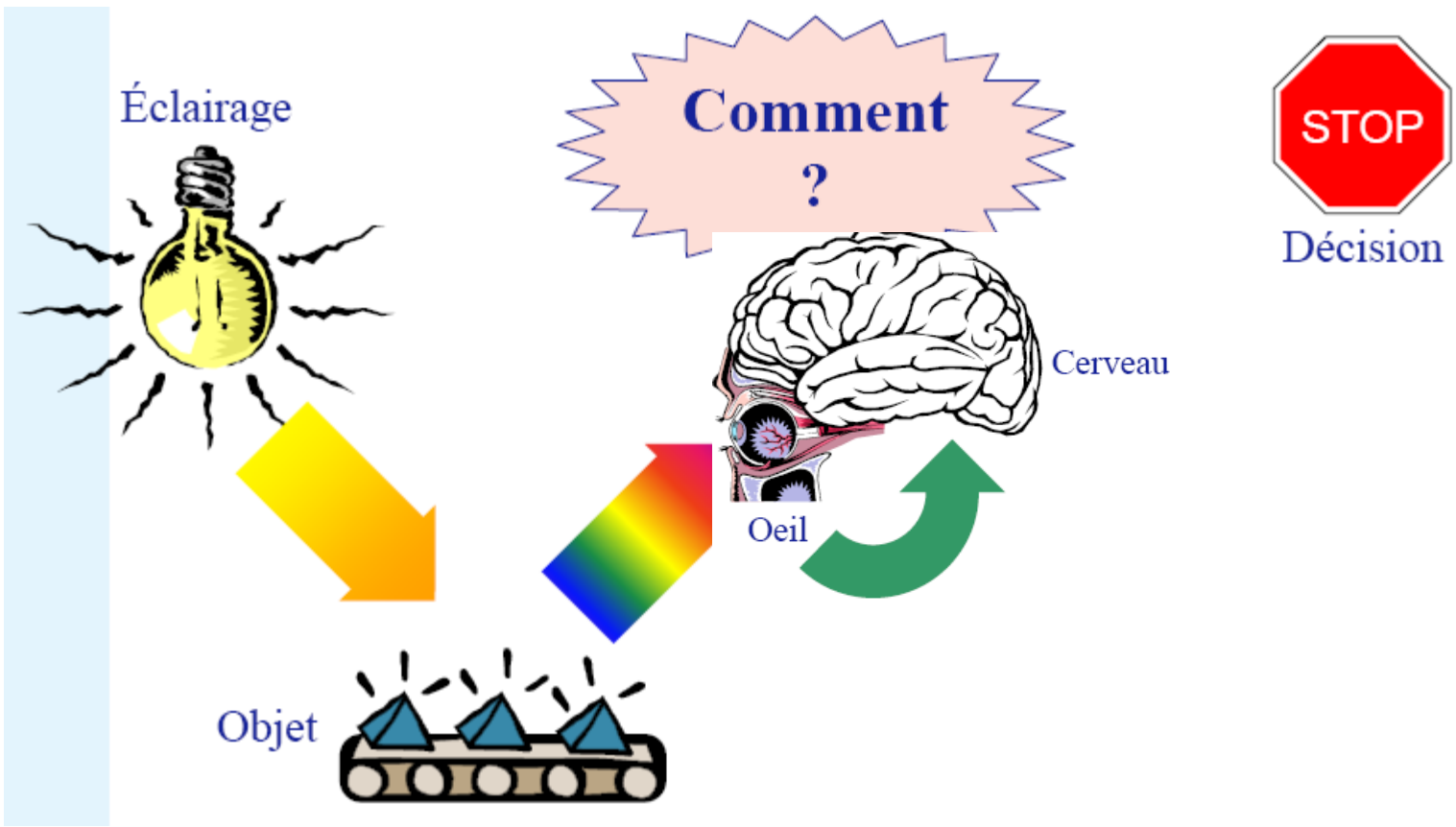
= « Vision Industrielle »

[<http://visionindustrielle.free.fr/>]

? Acquisition des images dans domaines industrielles ?

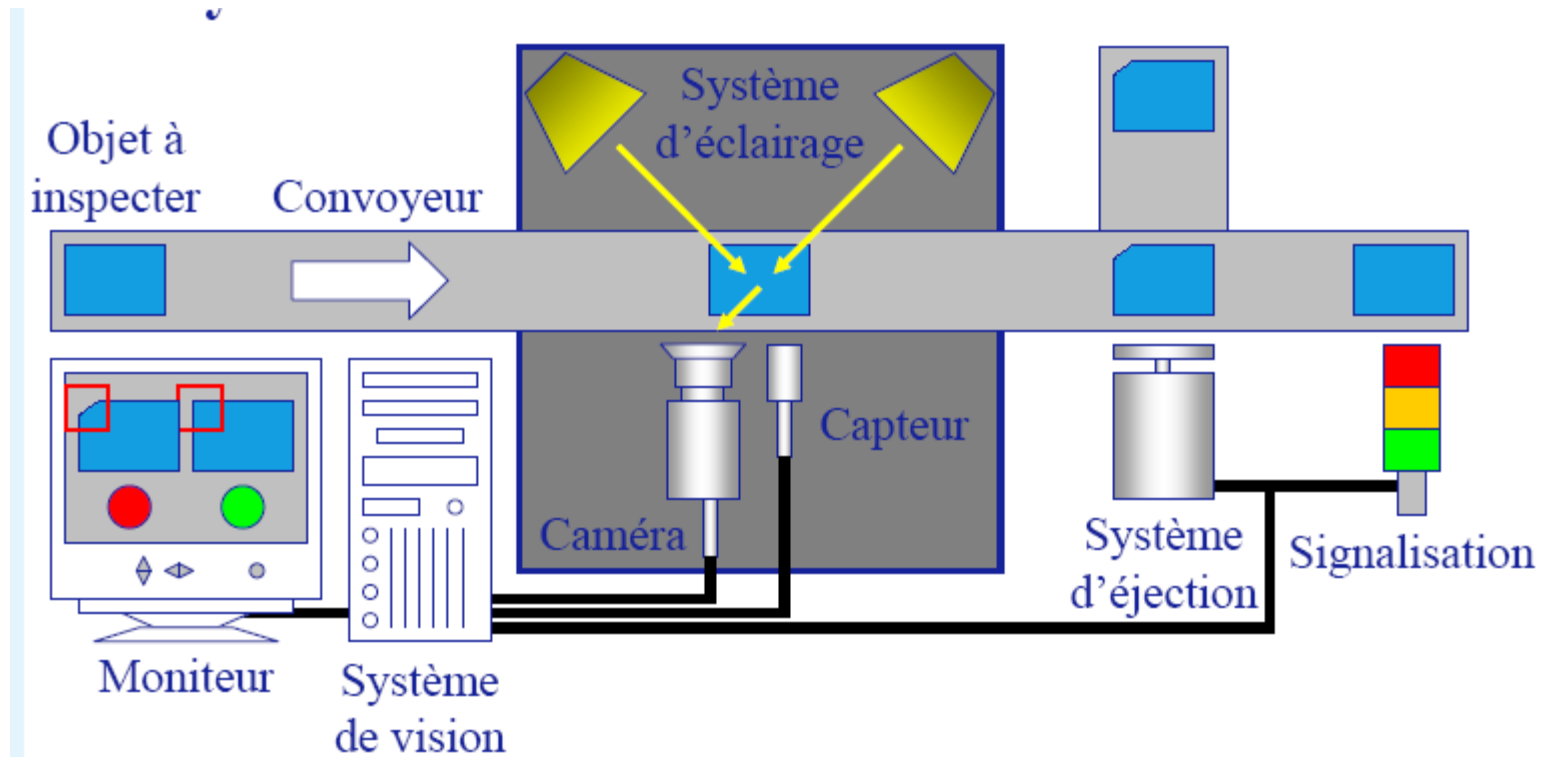
- A la réception des matières
- En cours de fabrication
- Au contrôle du produit fini
- A l'emballage

Vision industrielle : comment ?



- Plusieurs possibilités d'applications:
 - industrielle (automobile, textile, agroalimentaire..)
 - médicale, pharmaceutique, cosmétologique...
 - télédétection
 - recherche...
- Plusieurs possibilités d'acquisition
 - appareil et caméras numériques (RGB)
 - scanner médicaux (3D, 2D)
 - capteurs de télédétection
 - microscopes

Exemple de système de vision industrielle



- Code barre 1D et 2D

Codes à barres linéaires



Code 128



Code 39



Pharmacode



Code 93



I2 sur 5



UPC

Symbologies empilées



PDF417



GS1 Databar (empilé)



Micro PDF



GS1 Databar (composite)

Polices OCR

OCR-A
1234ABCD

Alphanumériques
(+4 car. de devise)

OCR-B
1 2 3 4 A B C D

Alphanumériques
(+4 car. de devise)

MICR E-13B
1 2 3 4 5 6 7 8 9 0

Numériques
(+4 car. spéciaux)

SEMI M12
1234ABCD

Alphanumériques
(+4 car. de devise)

Symbologies 2D



Data Matrix

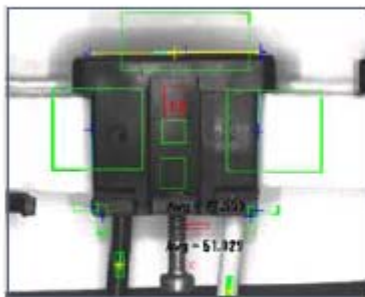


QR

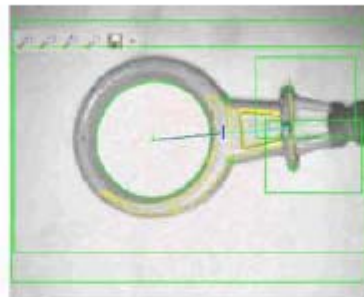


Aztec

- Capture de forme de pièce et vérification



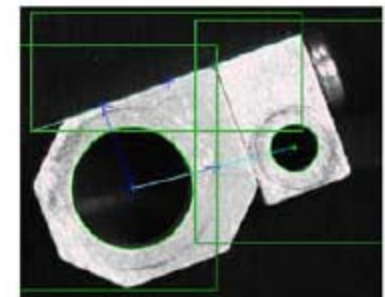
Contrôle d'intégralité



Inspection de formes



Comparaison de formes



Détection de position/
inclinaison

- Marquage direct des pièces et vérification



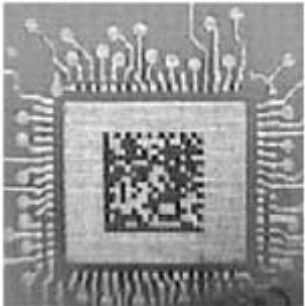
Laser sur verre



Jet d'encre sur plastique



Laser sur métal



Laser sur métal



Jet d'encre sur plastique ABS



Impression thermique sur feuille



Poinçon sur métal usiné



Poinçon sur métal texturé

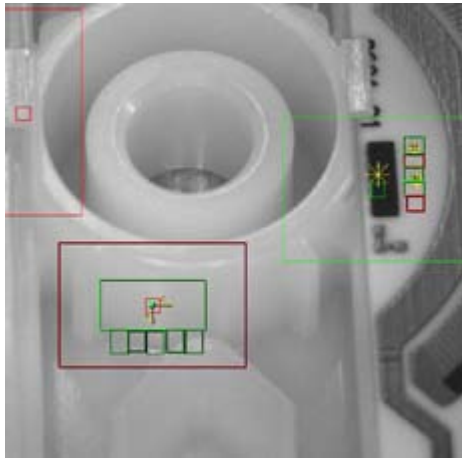


Jet d'encre sur verre

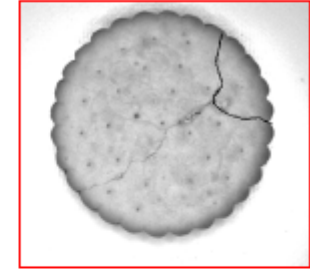
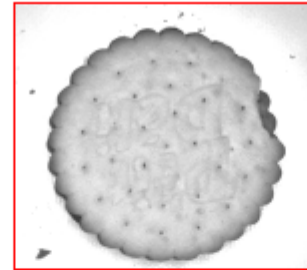


Chimique sur plastique

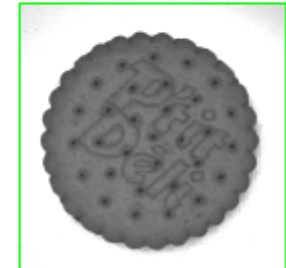
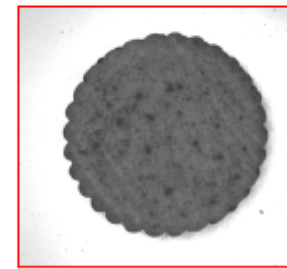
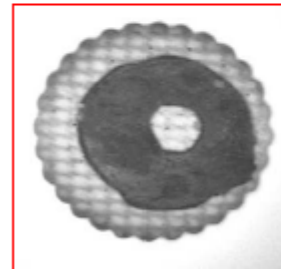
Utilisation d'une caméra numérique



détection de défaut dans pièces de moteur

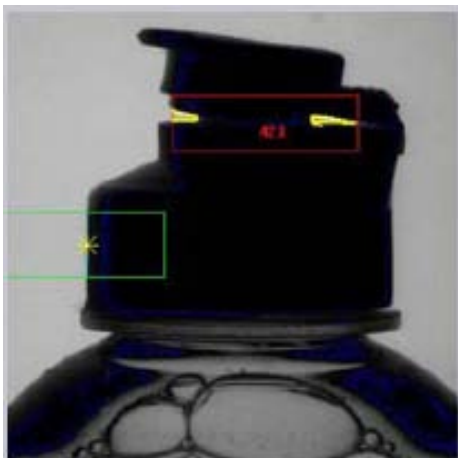


Biscuit cassé sur la périphérie Biscuit fissuré



Biscuit supérieur absent Biscuit à l'envers Biscuit : Bon

contrôle d'aspect et intégrité des biscuits



mesure et alignement des bouchons de bouteille

Principales limitations:

- éclairage → adaptation éclairage



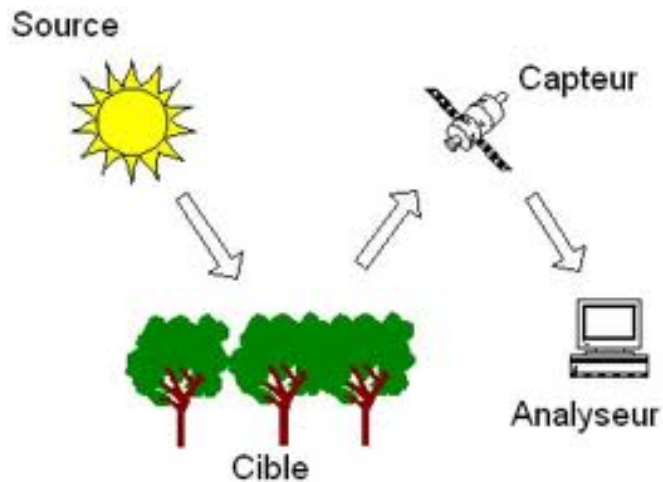
- traitement et analyses des données en « temps réel »
= système de numérisation

→ logiciels dédiés



- **Téledétection**= mesure d'un objet à distance (i.e surface terrestre) sans contact physique

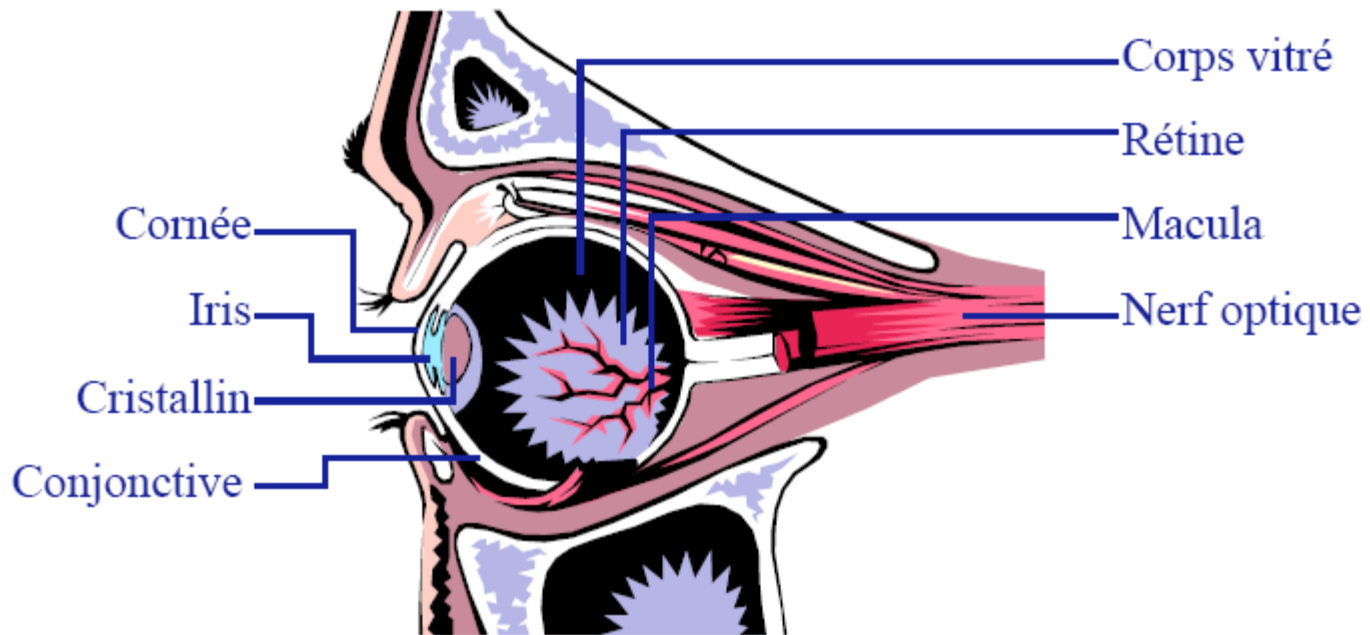
→ applications se situent surtout au niveau de l'environnement, de l'agriculture, de l'urbanisme, etc.



- Différentes échelles possibles:
 - cellule
 - organisme
 - population

- Différentes méthodes d'acquisition d'images :
 - caméra
 - microscope

L'oeil

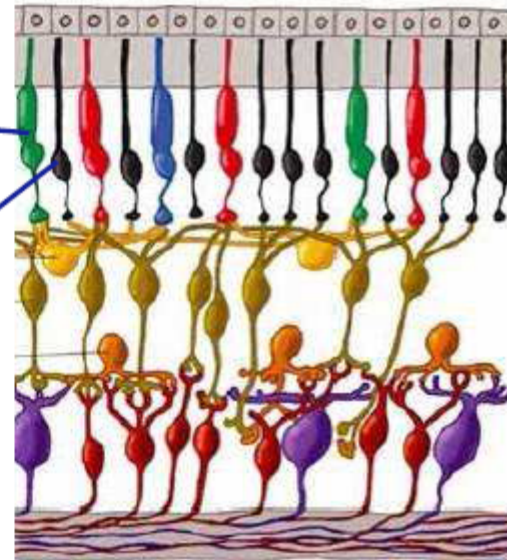


La rétine

- ♦ C'est sur elle que viennent se projeter les images de la scène que nous observons. Elle contient deux types de cellules photosensibles : les **cônes** et les **bâtonnets**.

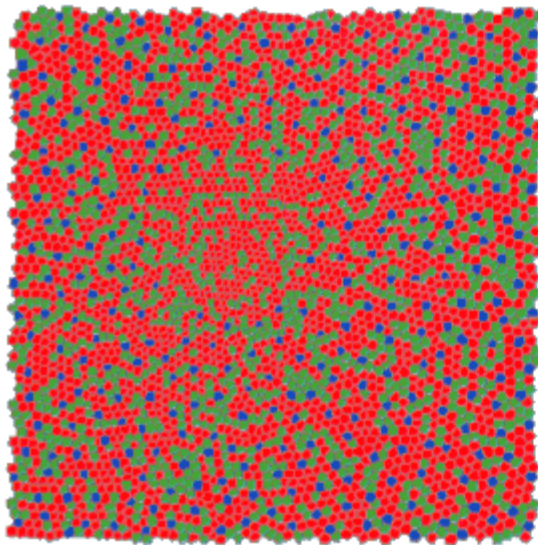
Cônes : ils permettent la vision diurne (vision photopique).

Bâtonnets : ils permettent la vision nocturne (vision scotopique)

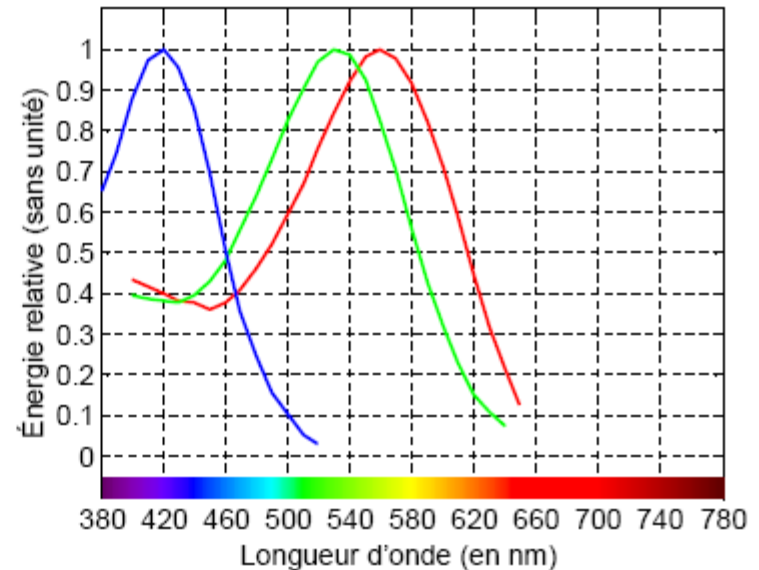


Les cônes sont de 3 types:

- cônes S (short) sensibles aux longueurs d'onde courtes (bleu),
- cônes M (medium) sensibles aux longueurs d'onde moyennes (vert),
- cônes L (long) sensibles aux longueurs d'onde longues (rouge).

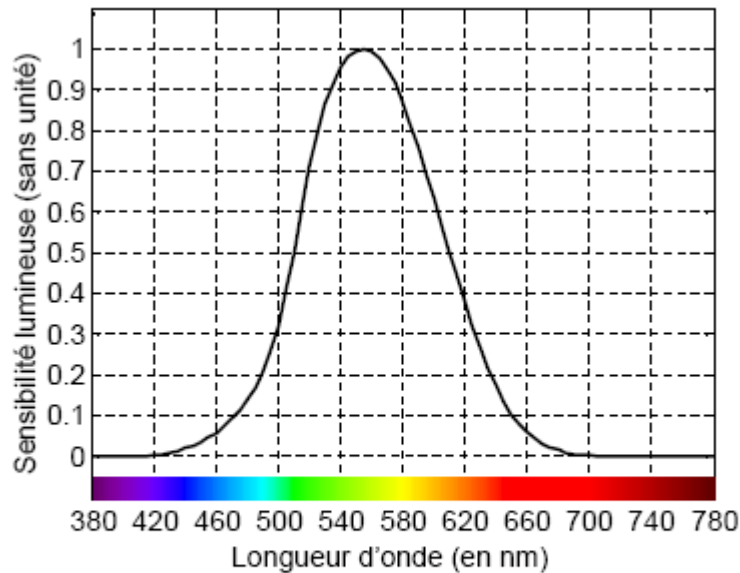


Répartition des cônes



Fonctions d'absorption relative des cônes

Sensibilité de l'œil



*Fonction d'efficacité lumineuse
relative spectrale de l'œil*

L'œil humain est plus sensible aux couleurs verte ou jaune qui nous apparaissent plus claires que les couleurs bleu ou rouge plus sombres.

→ Une caméra est l'élément qui permet de capter une scène réelle

Une caméra est composée :

- d'un capteur constitué d'éléments semi-conducteur photosensibles (silicium) qui convertissent l'énergie lumineuse (photon) en une énergie électrique (électron) et qui sont disposés sous forme matricielle ou linéaire
- de composants électroniques permettant la mise en forme du signal image.

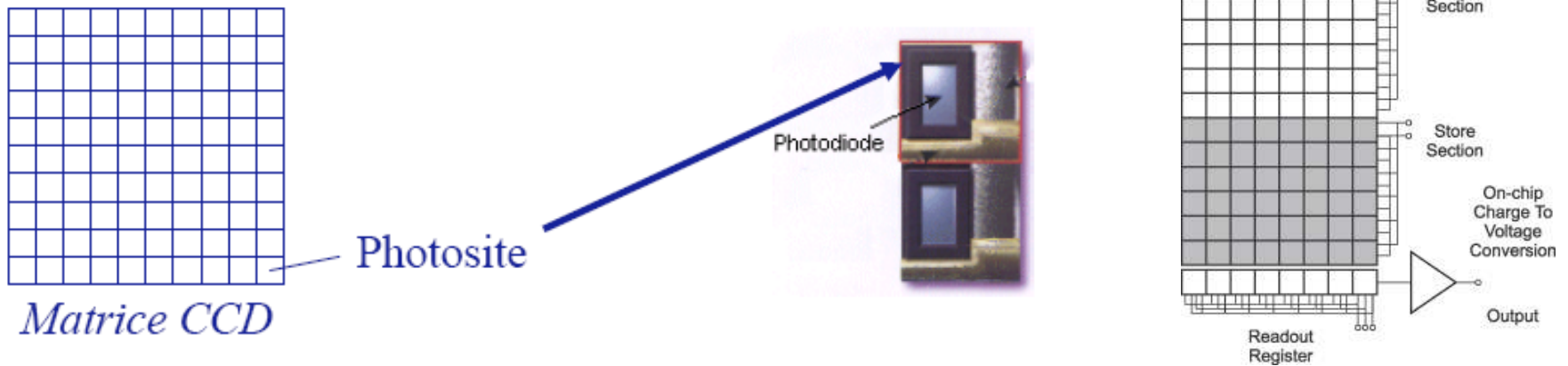
Caractéristiques :

- Temps d'intégration (temps pendant lequel le capteur doit être exposé à la lumière)
- Sensibilité (intensité lumineuse minimale que la caméra peut détecter)
- Gain: facteur multiplicatif pour amplifier signal avant numérisation
- Sensibilité spectrale
- Résolution (nbre de pixels)
- Fréquence d'acquisition (nbre d'images/sec)
- Taille du capteur

→ Différents types de caméra (CCD, monochrome, couleur, numérique..)

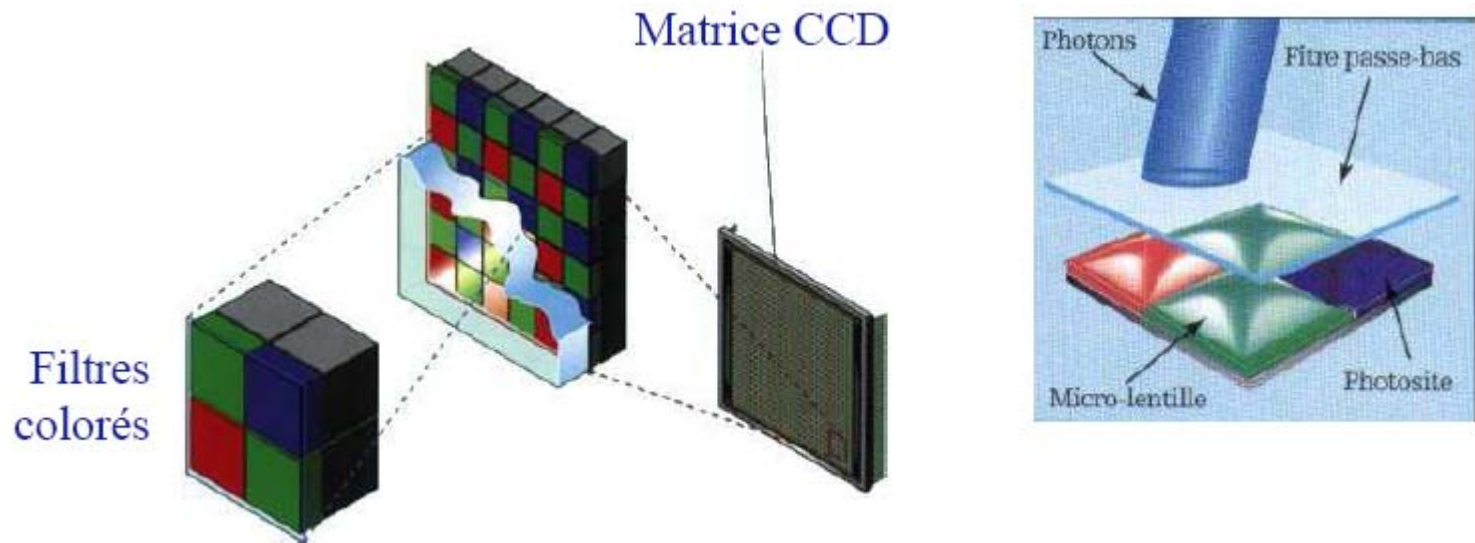
Principe de fonctionnement

- Basé sur une technologie à semi-conducteur
- Constitué d'un ensemble de photosites (cellule photosensible de 5 à 30 μm) alimenté électriquement pour accumuler des charges

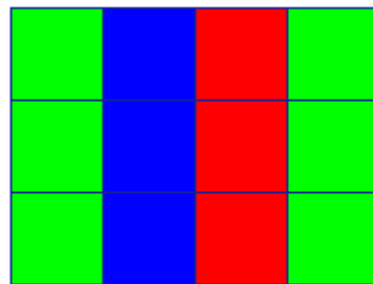


L'arrivée des photons crée des charges qui s'accumulent durant le **temps d'intégration dans des zones appelées puits (charges négatives)**.

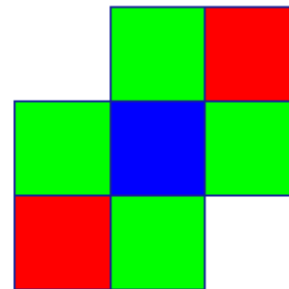
Plus le temps d'intégration est grand, plus il y a de photons, plus le nombre de charges augmente.



Réseau de filtres colorés entrelacés sur les photosite d'une matrice CCD



Filtre colonne



Filtre de Bayer

Différents réseaux de filtres

oculaires

tourelle (révolver) d'objectif

platine porte objet

condenseur

**système d'illumination
(1 ou plus)**

potence

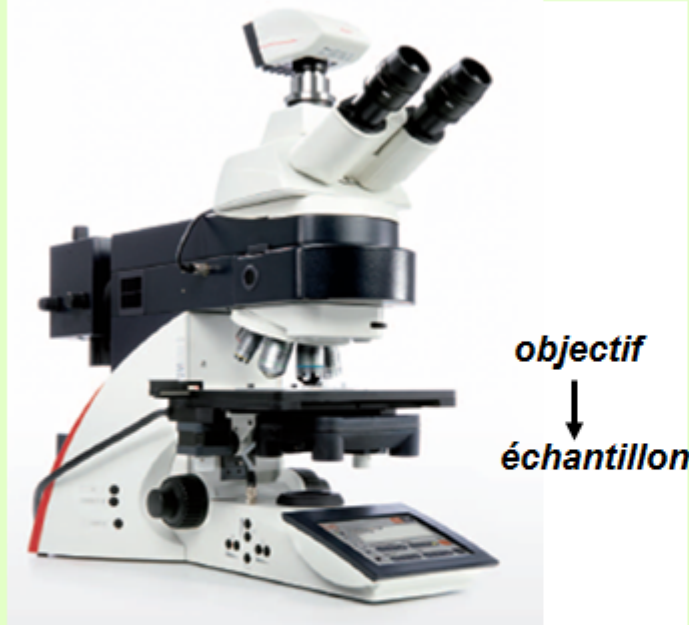
vis macrométrique

vis micrométrique



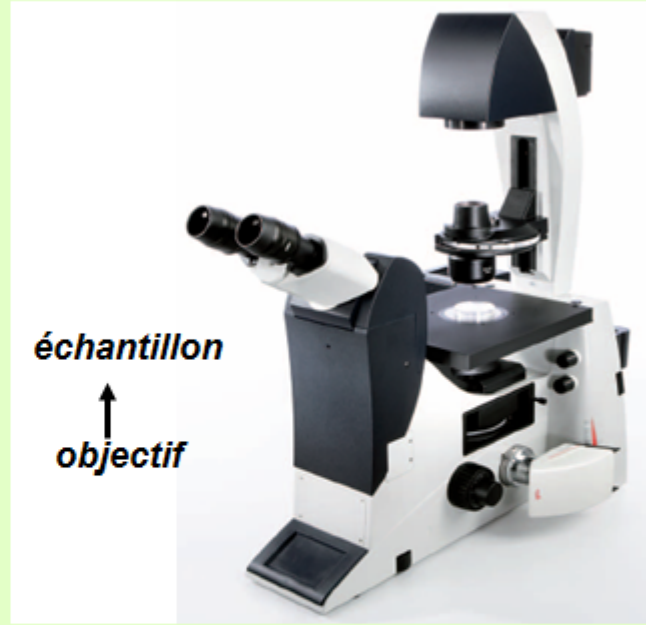
Deux types de statifs

Microscope droit



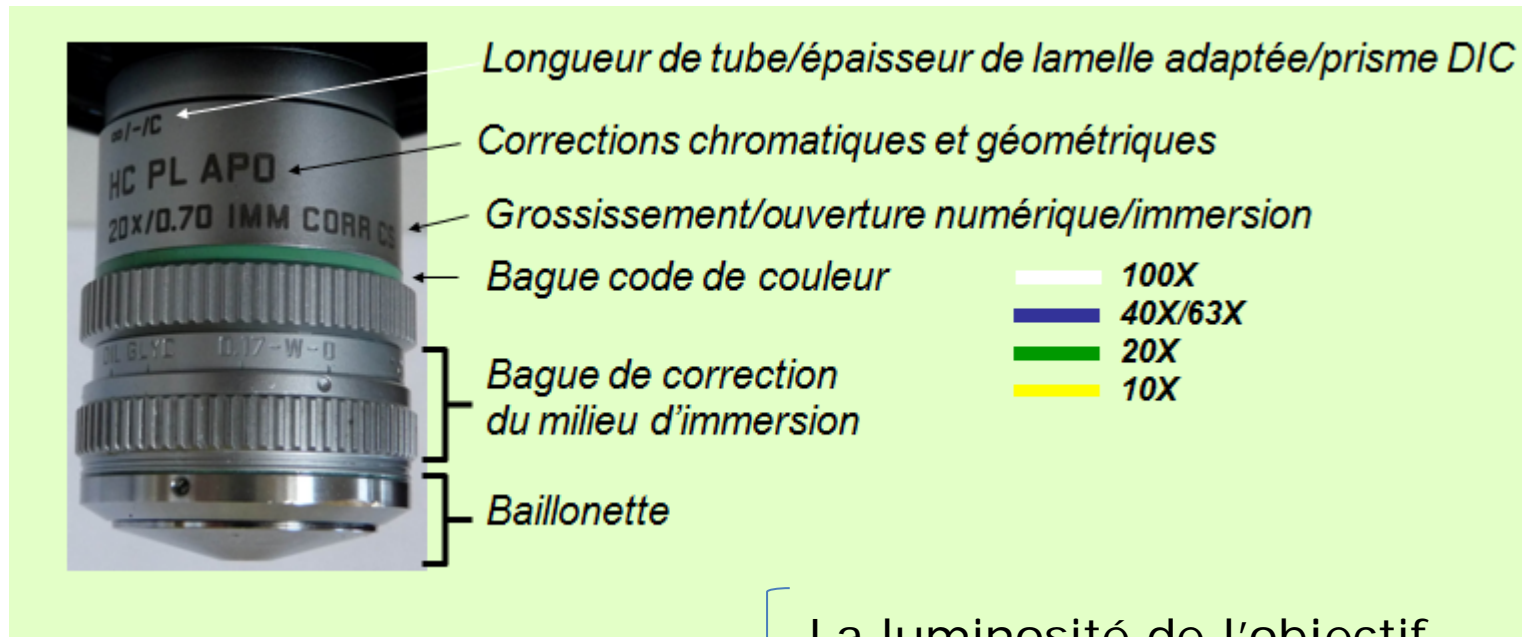
Lame et lamelle
Immersion en pétri
Pétri fond lamelle
~~**Boîte 96 puits fond lamelle**~~

Microscope inversé



Lame et lamelle
~~**Immersion en pétri**~~
Pétri fond lamelle
Boîte 96 puits fond lamelle

- Deux types d'illumination: lumière blanche (transmission) ou fluorescence
- Plusieurs types d'objectif: permet l'observation et le grossissement des objets. La qualité de l'observation dépend de la qualité de l'objectif



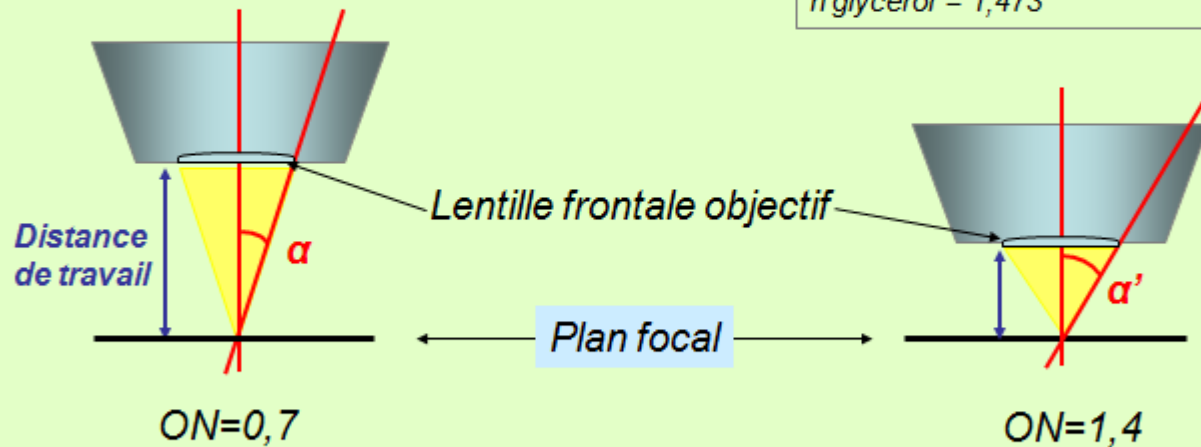
Ouverture Numérique, ON
(Numérical aperture, NA)

La luminosité de l'objectif
La résolution
La distance de travail
Profondeur de champs

L'ouverture numérique : Le plus important. Définie la qualité de l'objectif, l'angle sous lequel il collecte la fluorescence émise.

$$ON = n \cdot \sin(\alpha)$$

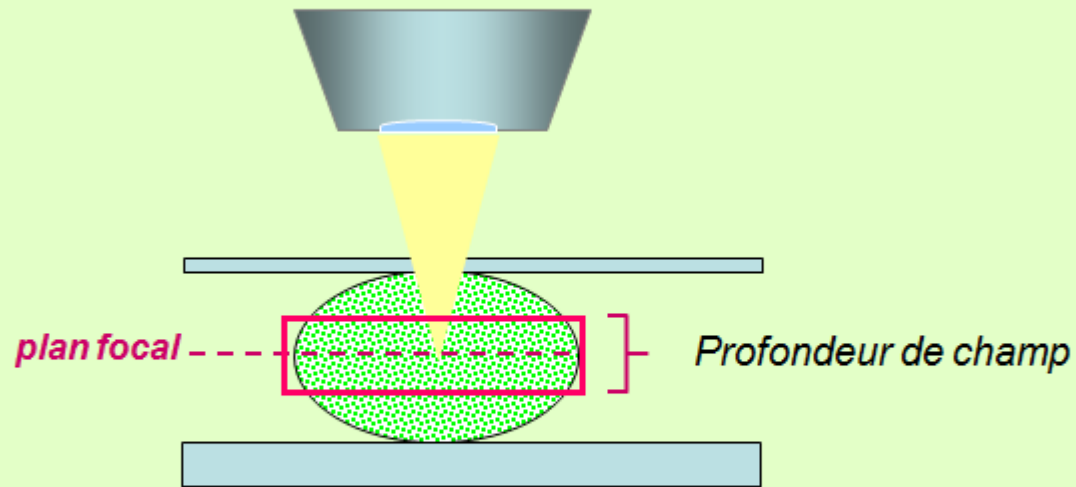
<i>n = indice de réfraction du milieu</i>	
<i>n air = 1</i>	<i>n verre = 1,517</i>
<i>n eau = 1,33</i>	<i>n huile = 1,518</i>
<i>n glycérol = 1,473</i>	



Plus **ON** est grande, plus le demi angle α est grand, plus l'objectif est lumineux MAIS plus la distance de travail diminue.

→ Va définir la résolution de l'image !

Profondeur de champ: épaisseur observable de l'échantillon



Plus l'ON est grande, plus la profondeur de champ est réduite, plus l'observation est précise

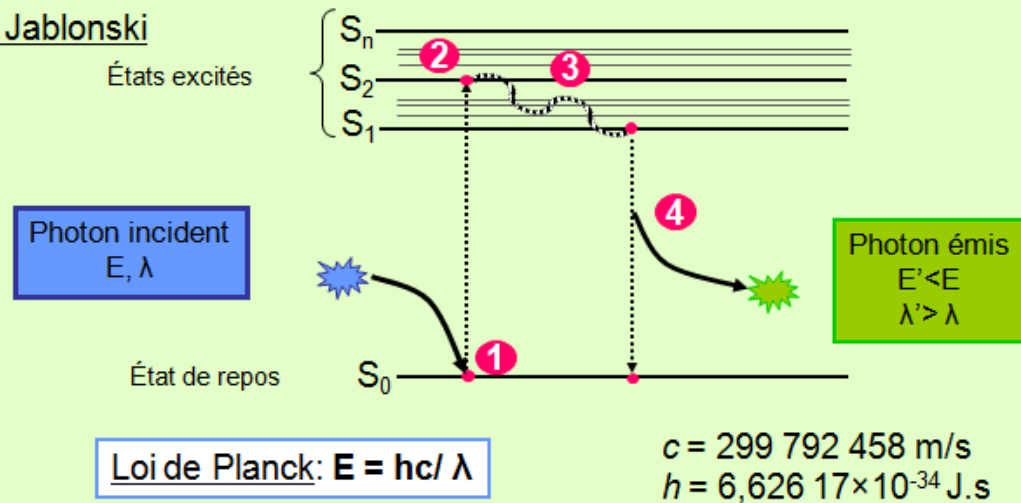
Principe :

passage d'un électron d'un état basal **1** à un état excité **2** grâce à l'énergie d'un photon incident

3 perte d'énergie par radiation, conversion interne, ...

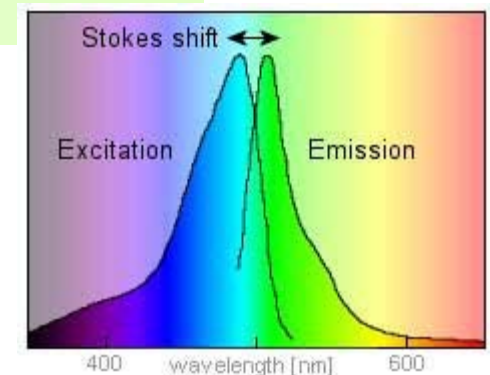
4 retour à l'état basal par libération d'un photon différent du 1°.

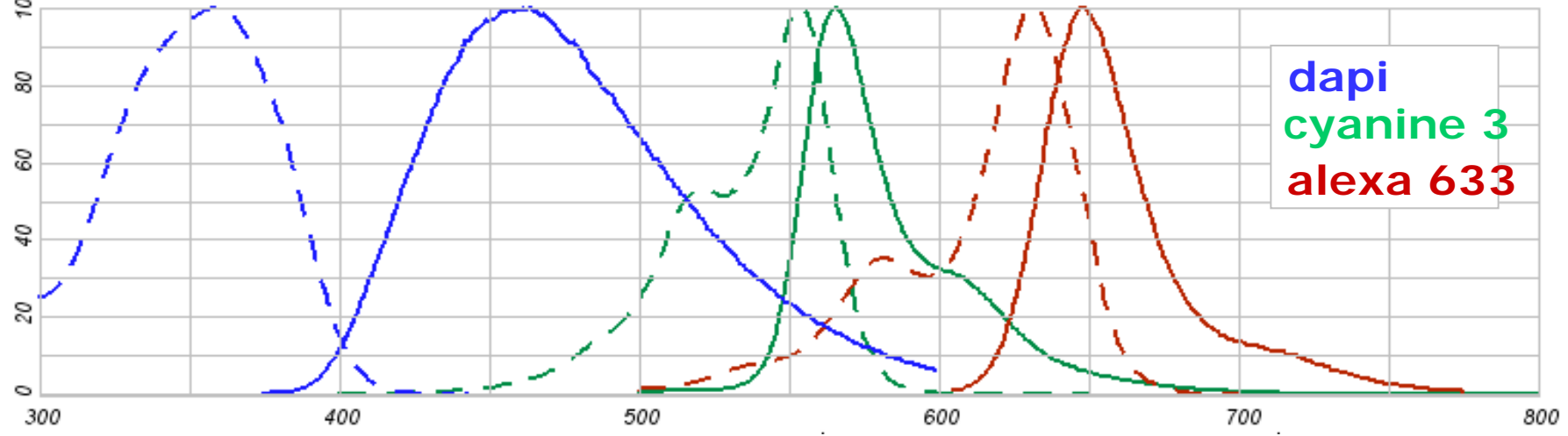
Diagramme de Jablonski

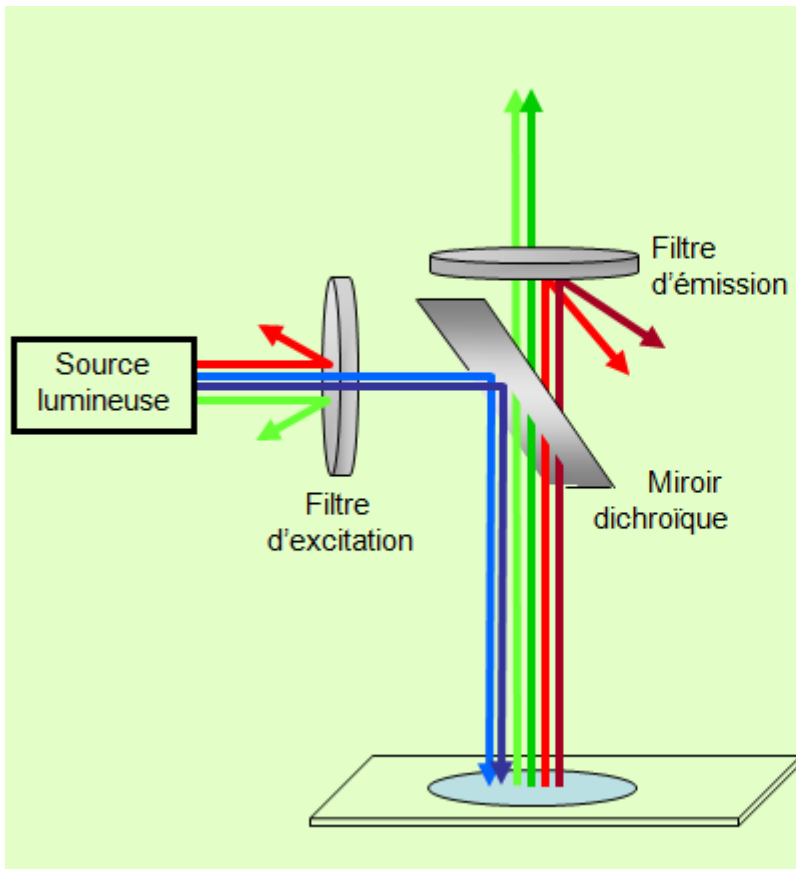


Si $E \text{ incidente} > E \text{ libérée} \rightarrow \lambda \text{ excitation} < \lambda \text{ émise}$ (fluorescence)
(fluorescence décalé vers le rouge)

→ définition d'un spectre d'excitation et d'émission pour chaque fluorochrome



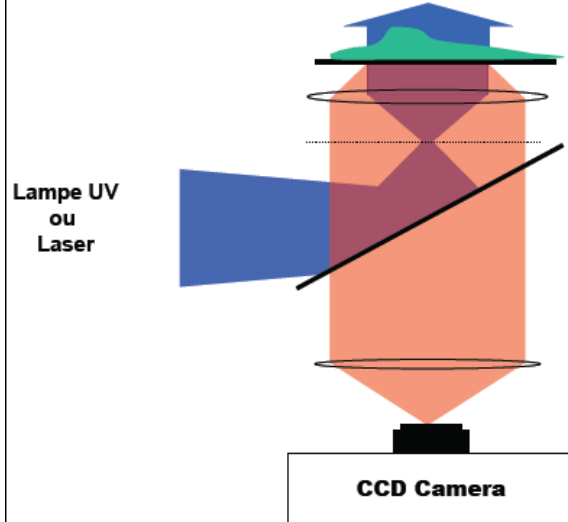




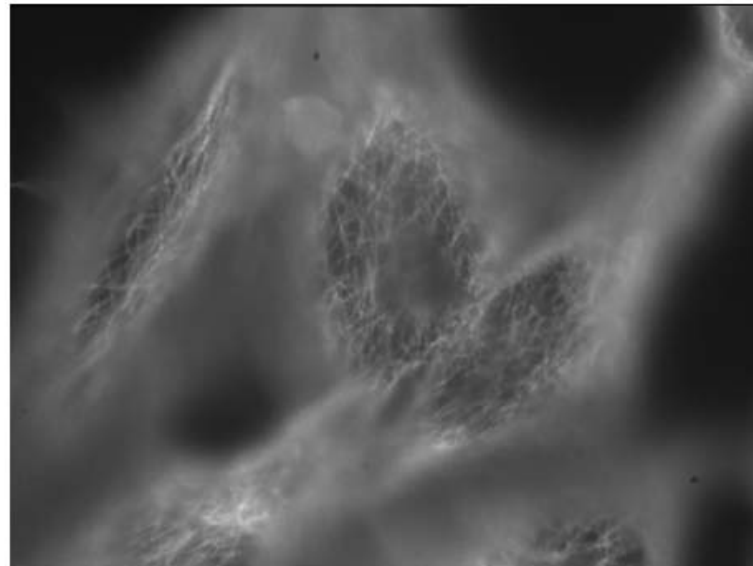
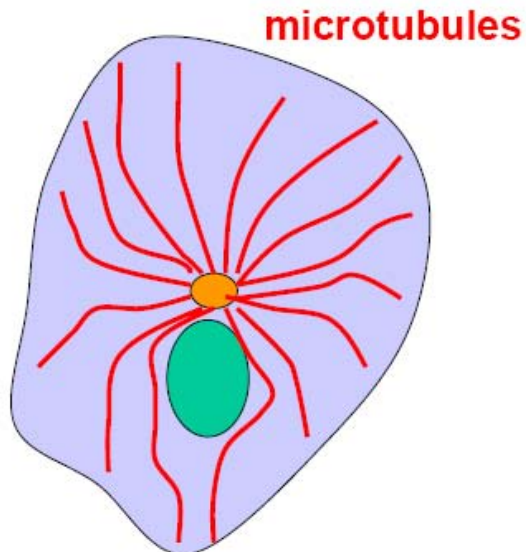
Un bloc filtre est constitué de 3 éléments

- un filtre d'excitation qui sélectionne la bande spectrale d'excitation du fluorochrome.
- un miroir dichroïque qui est miroir pour certaines longueurs d'onde et transparent pour d'autres
- un filtre d'émission qui sélectionne la bande spectrale d'émission du fluorochrome (la fluorescence).





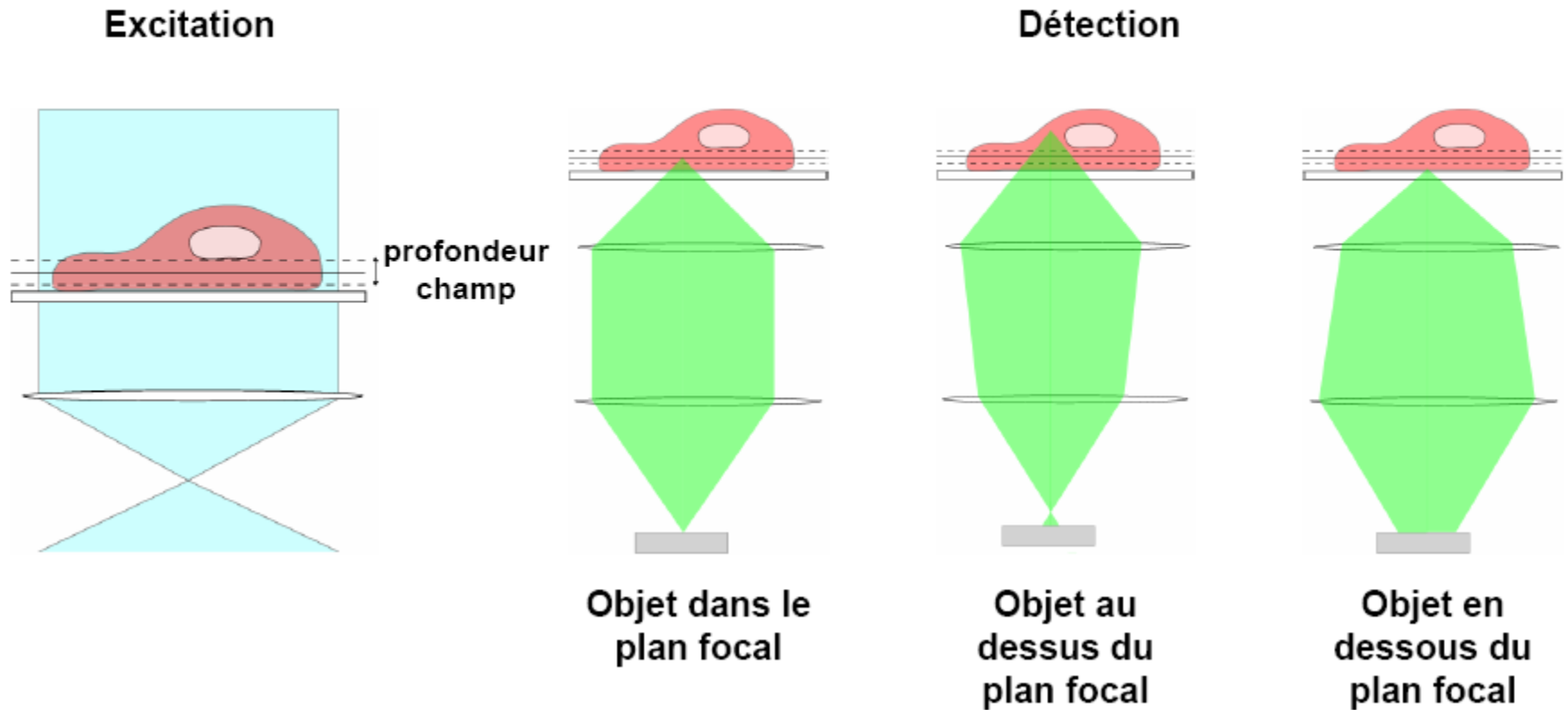
Principe: l'échantillon est éclairé de telle façon que l'on focalise la lumière dans le plan focal arrière de l'objectif



Microtubules d'une cellule --> zones nettes ET zones floues

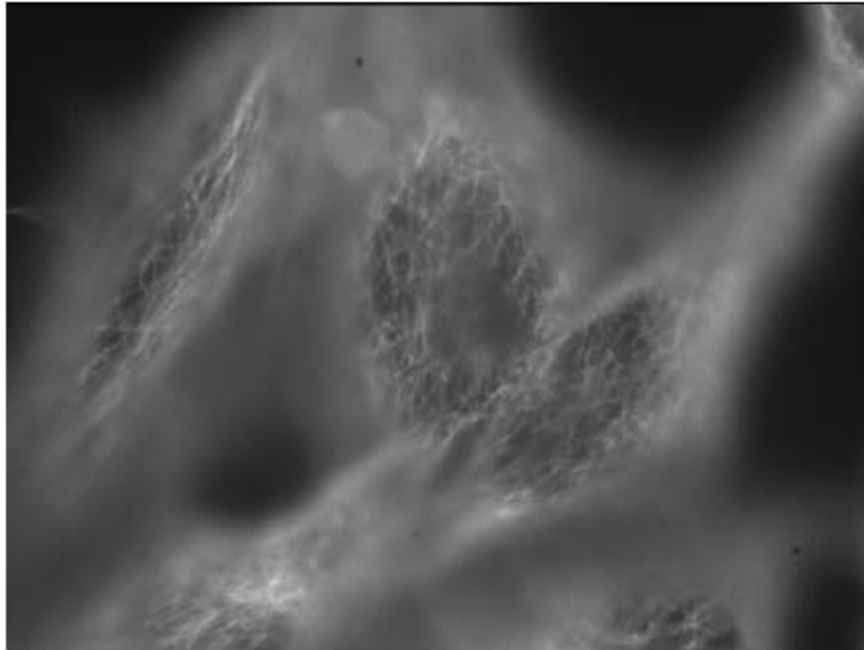
PROBLEME

Dans un échantillon épais, on collecte la lumière de tous les plans de l'échantillon

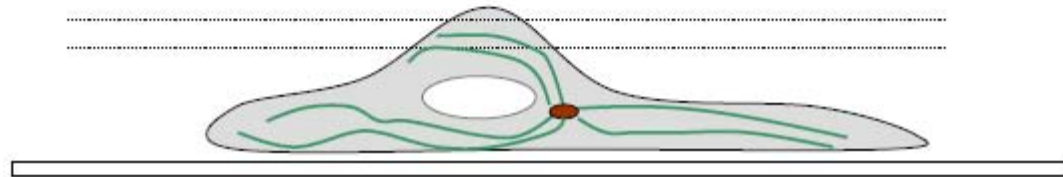
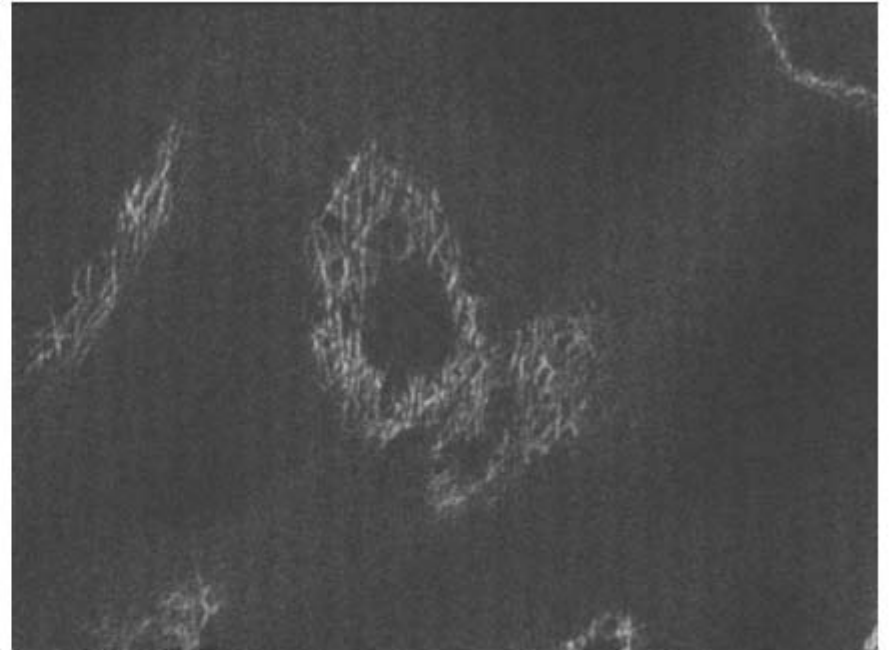


Comment se débarrasser de la lumière provenant des plans hors focus??

Epifluorescence



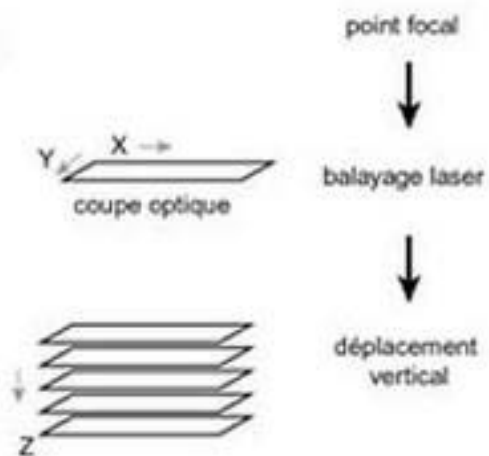
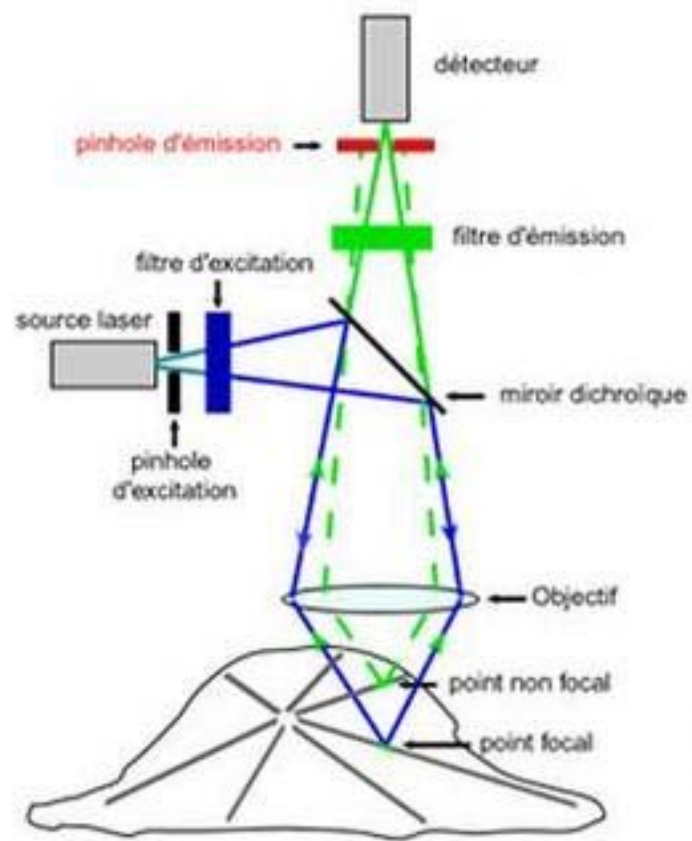
Section confocale

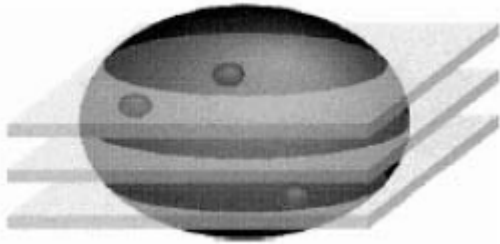


- Visualisation de la lumière qui vient DU plan focal uniquement
- L'idée est de faire des images nettes du plan que l'on regarde sans être gêné par la lumière issue d'autres plans de l'échantillon.

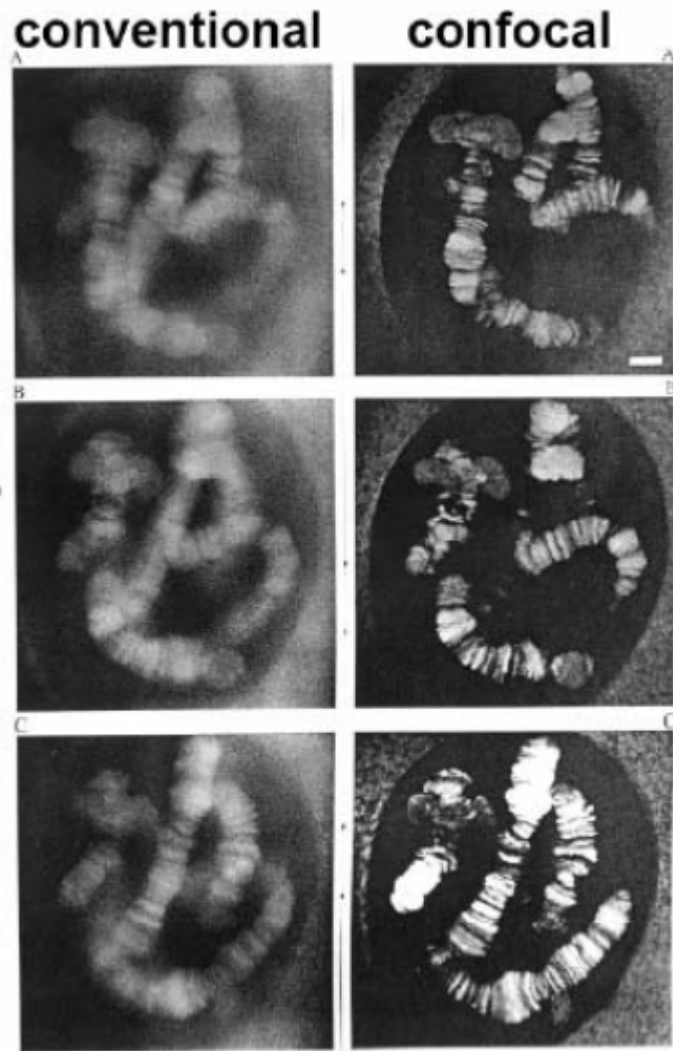
= « **coupes optiques** »

- Différentes possibilités d'obtenir une image confocale :
- Confocal à balayage laser (CLSM)
- Spinning disk
- Multiphotonique
- Illumination structurée
- SPIM,
- Déconvolution (traitement mathématique)

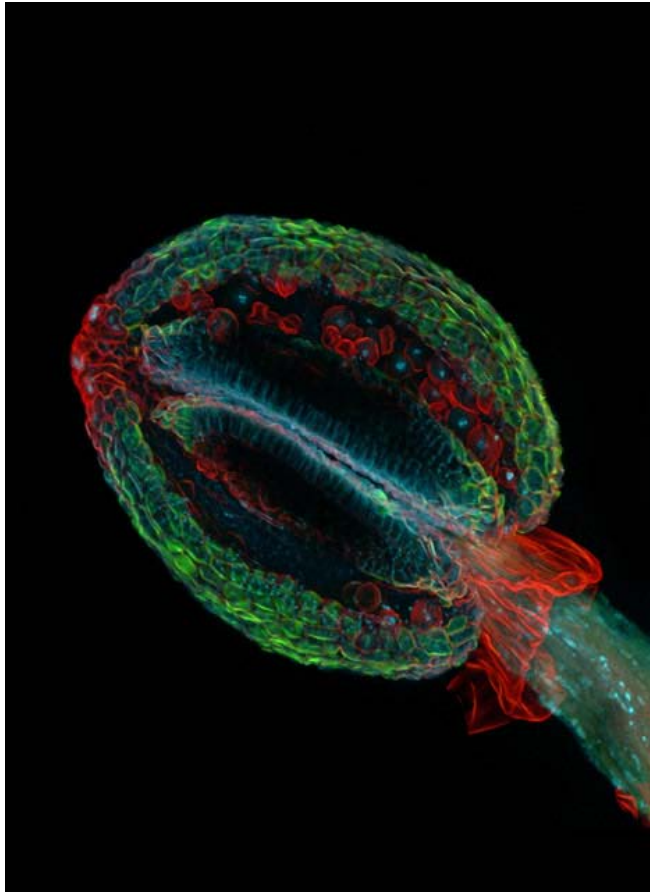




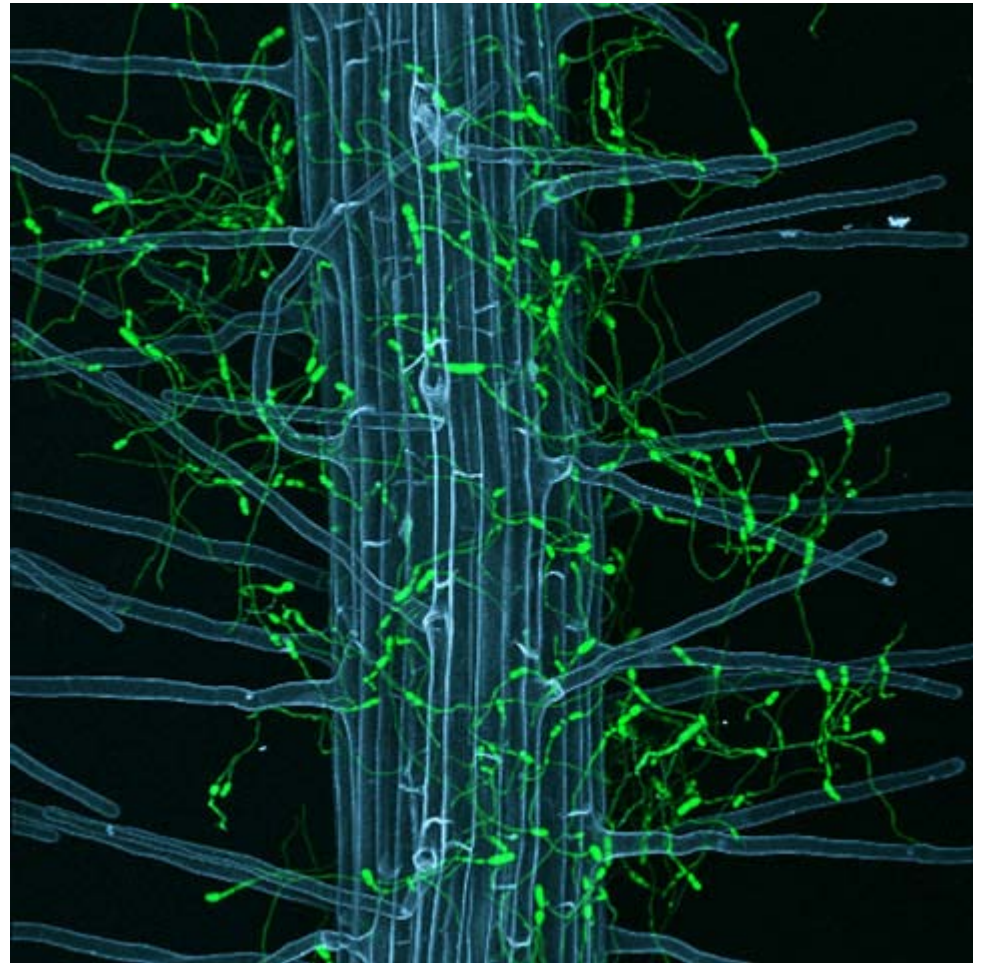
coupes
optiques
du noyau



Reconstruction 3D possible

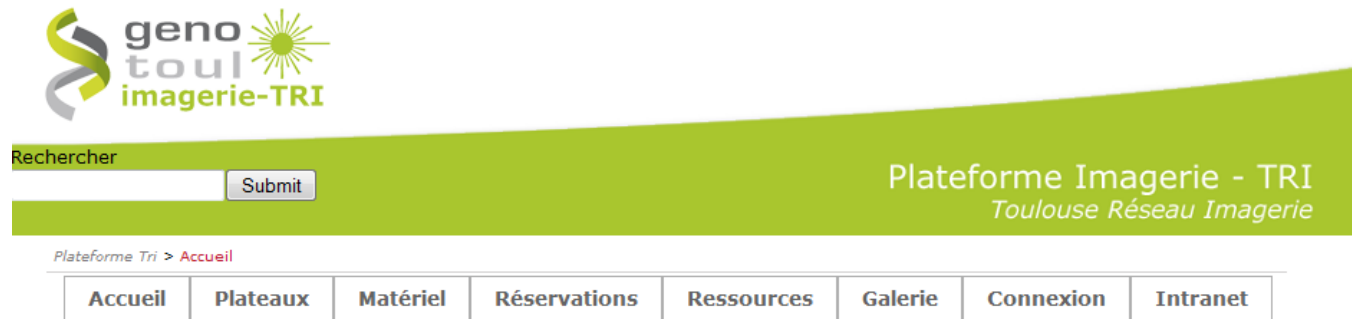


*Appareil reproducteur
d'Arabidopsis*



*Racines d'Arabidopsis infectées
par un champignon*

- Développement de « plateforme d'imagerie »
 - acquisition matériel de pointe
 - compétences scientifiques et techniques



Rechercher

Plateforme Imagerie - TRI
Toulouse Réseau Imagerie

Plateforme Tri > Accueil

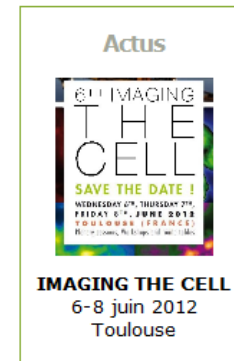
Accueil	Plateaux	Matériel	Réservations	Ressources	Galerie	Connexion	Intranet
---------	----------	----------	--------------	------------	---------	-----------	----------

La plate-forme *IBISA* d'imagerie cellulaire de Toulouse T.R.I. regroupe 8 plateaux techniques, plus de 30 postes de travail et 20 ingénieurs et techniciens à votre disposition. Elle est *certifiée ISO 9001:2008* depuis janvier 2010.

Elle réunit des compétences scientifiques et techniques et des équipements de pointe, nécessaires à tout projet scientifique en sciences du vivant utilisant les techniques d'imagerie suivantes :



Chaque plateau, outre les équipements en microscopie confocale et champ large, développe une spécificité visant à la complémentarité des techniques au sein de la plateforme toulousaine. Certains de ces équipements sont uniques en France ou en Europe

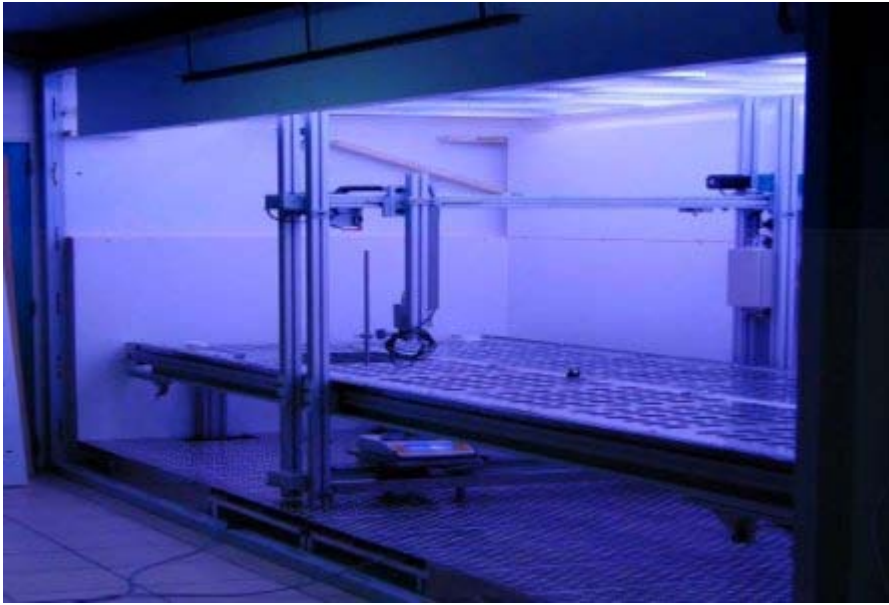


→ de la cellule à l'organisme entier

→ possibilité d'acquisition échantillon / échantillon ou plusieurs échantillons simultanément = haut-débit



Confocal haut débit
(Institut Pasteur Paris) =
acquisition simultanée de
plusieurs échantillons

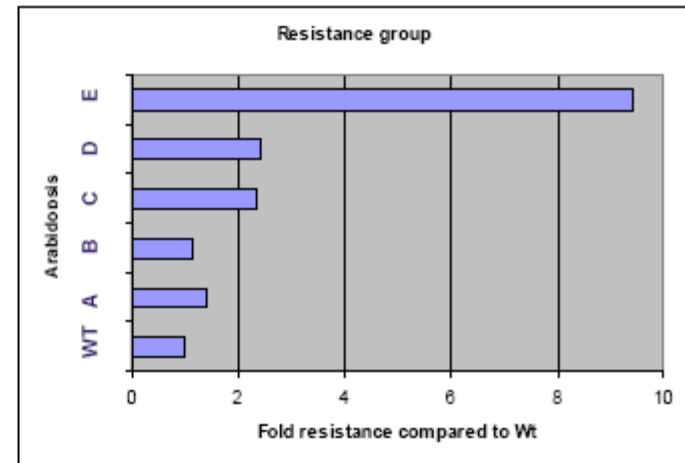


Prise d'images automatisée
avec caméras numériques



The PhenoFab® system

Quantitative scoring of mildew resistance in *Arabidopsis*



Imaging growth over time

Apex – Contr.



18 days stress period



Apex – Stress



no watering



DAS

14

23

27

38

45

48

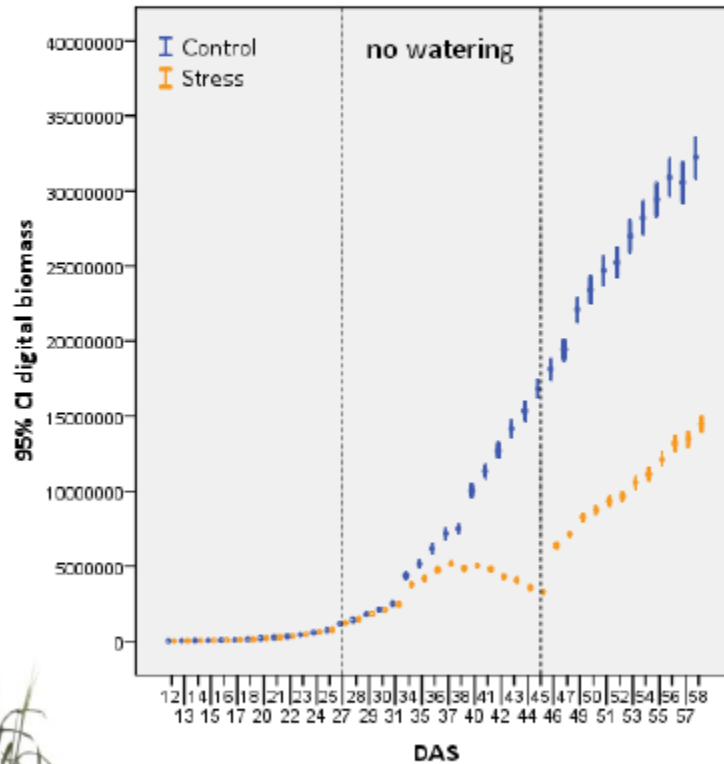
58

rewatering



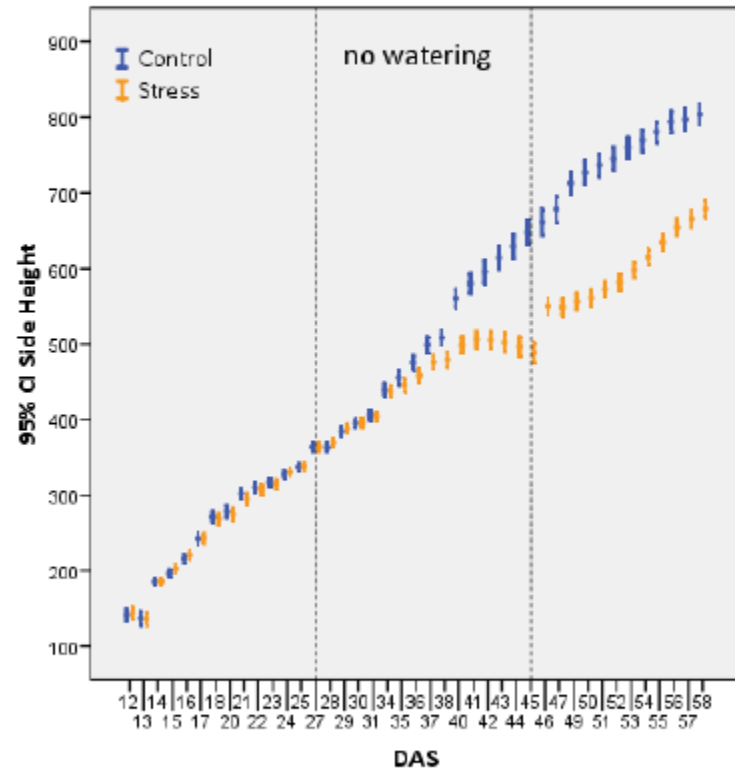
Influence of drought stress

Digital biomass



Minus 55%

Digital height



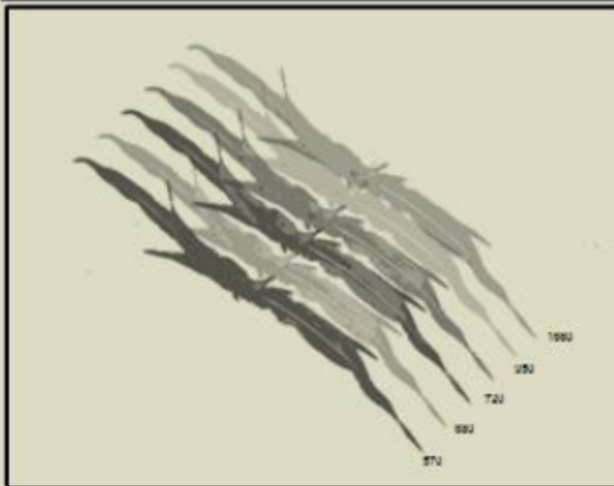
Minus 16%





Color Data

- Biomass
- Plant Height
- Growth Rates
- Canopy Area
- Morphology

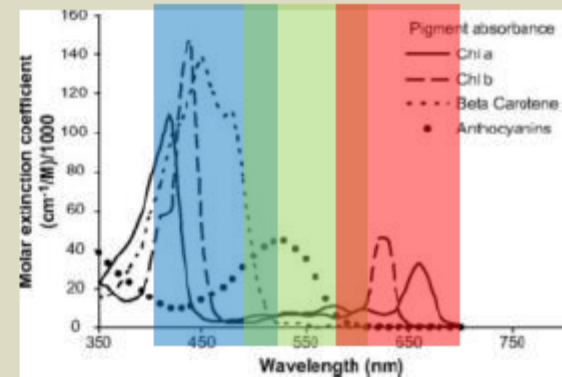


Hyperspectral Data

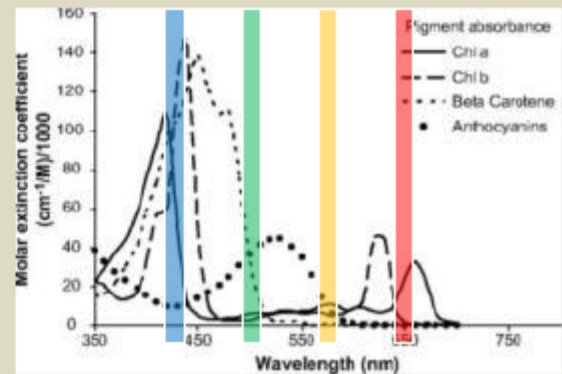
- Chlorophyll
- Anthocyanin

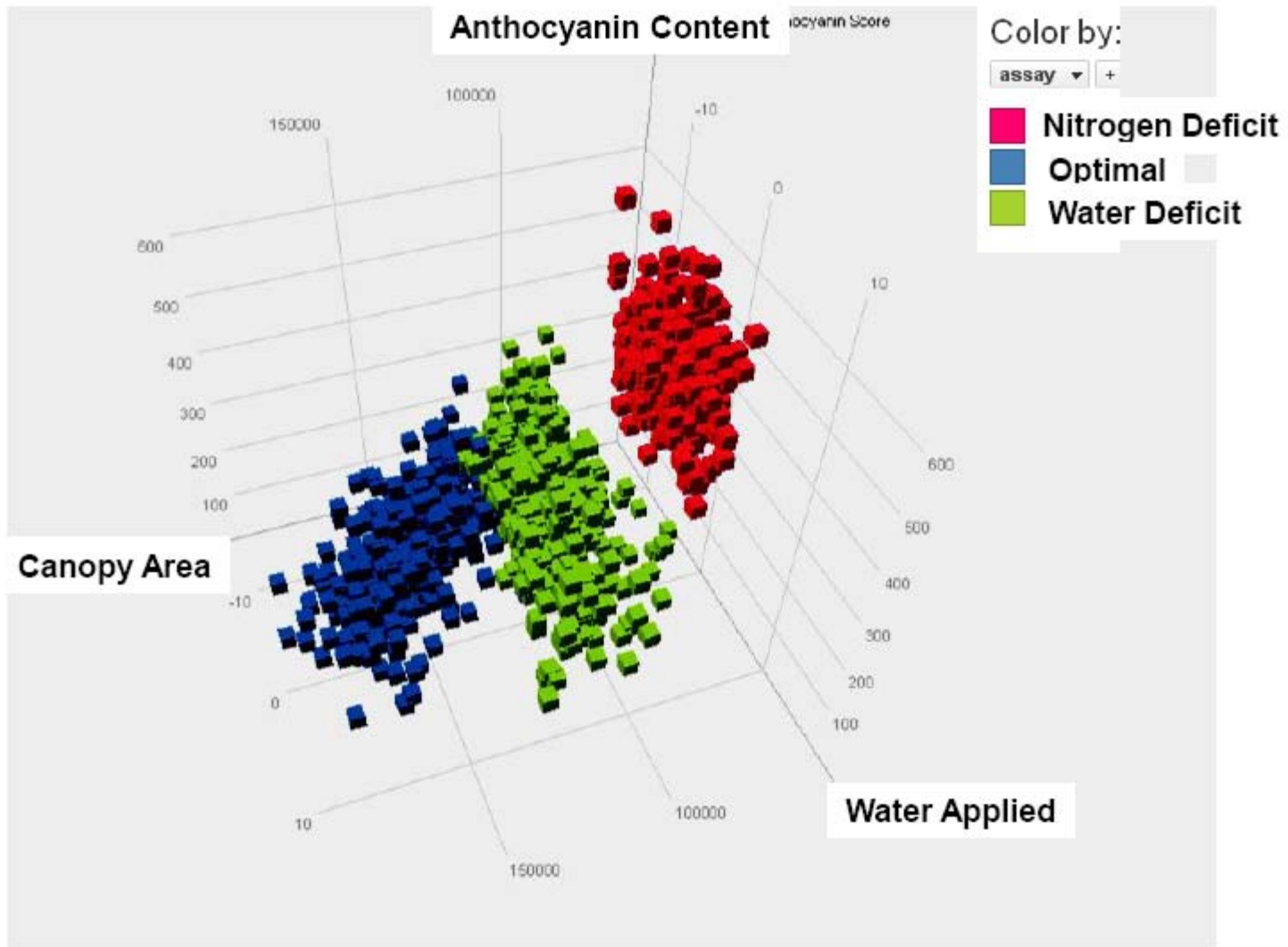
The Hyperspectral Advantage

RGB Spectral Resolution



Hyperspectral Resolution



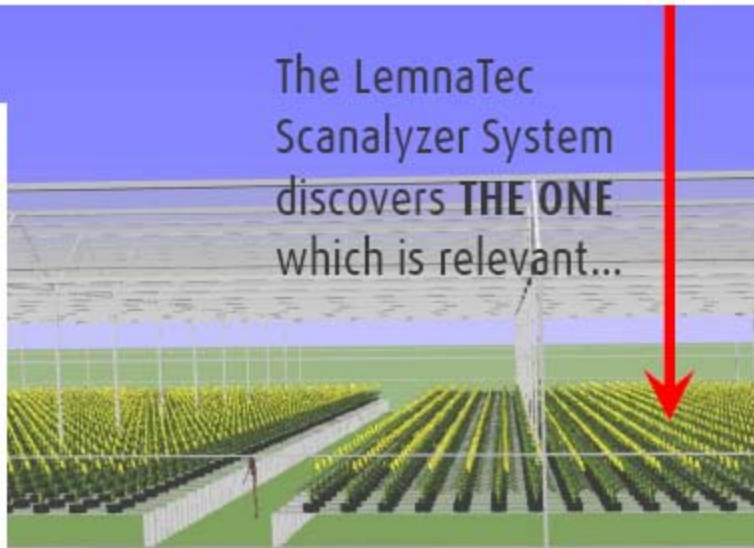


Finding the needle in the haystack



Modern breeding or GMO methods are able to produce **THOUSANDS** of new varieties per week

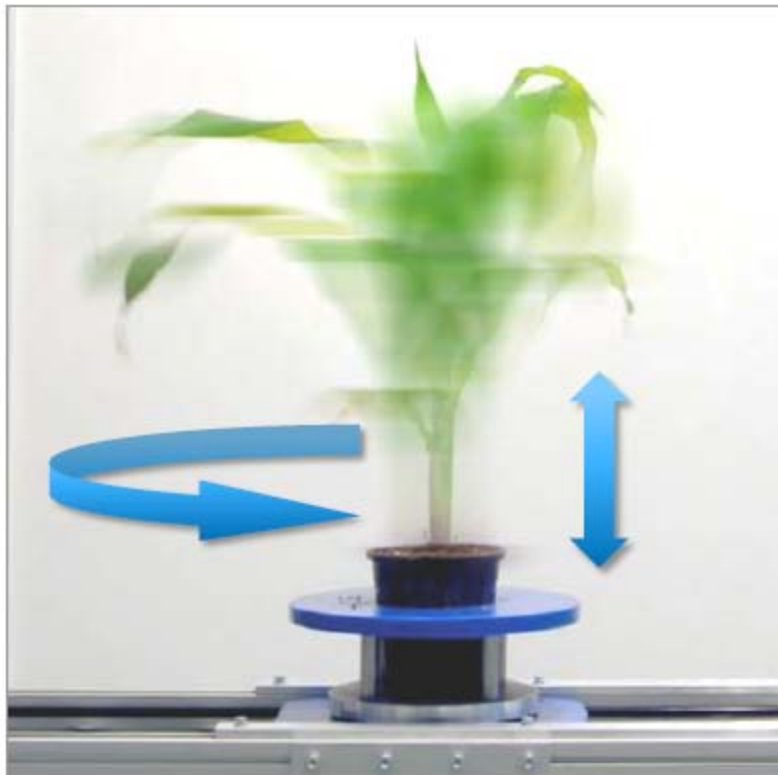
The LemnaTec
Scanalyzer System
discovers **THE ONE**
which is relevant...



For example, **THE plant** with 3% increase in value is worth \$50m if it obtains 10% market penetration and released 2 years earlier

Automatic screening 10x more efficient than human screening

3D imaging of full plants



1. top View
2. side View
3. side View 90°
4. more views optional

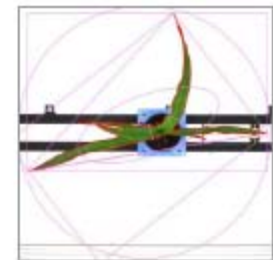


Scanning in different wavelength and modes

1. **RGB** visible light
2. **NIR** near infrared light
3. **FLUOR** fluorescent light
4. **IR** infrared light
5. **ROOT** NIR / RGB

1. Scanning - visible light

High-resolution colour images for comprehensive morphological and growth phenotyping



3. Scanning – fluorescent light

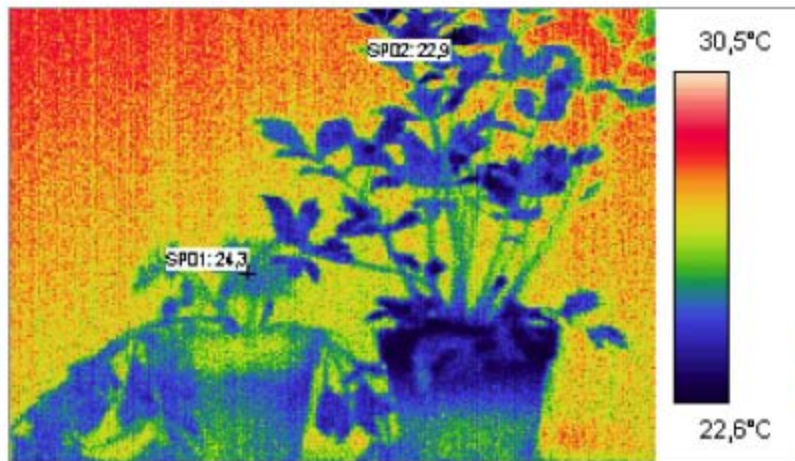
blue light (< 500 nm) visualises any related fluorescence



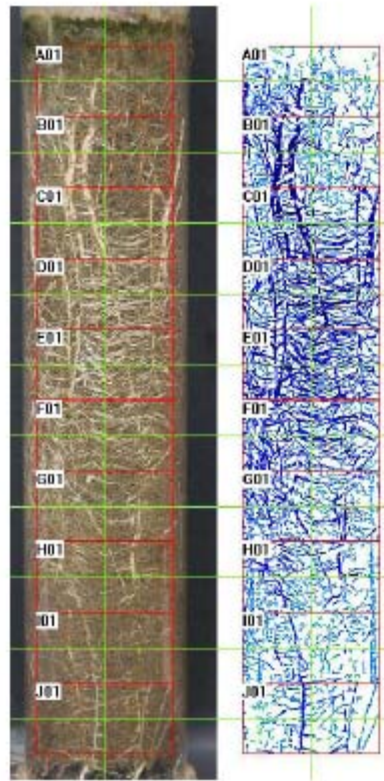
- chlorophyll (cont., flash)
- green fluo. Protein (GFP)
- phenolics
- autofluorescence
- custom solutions

4. Scanning – infrared light

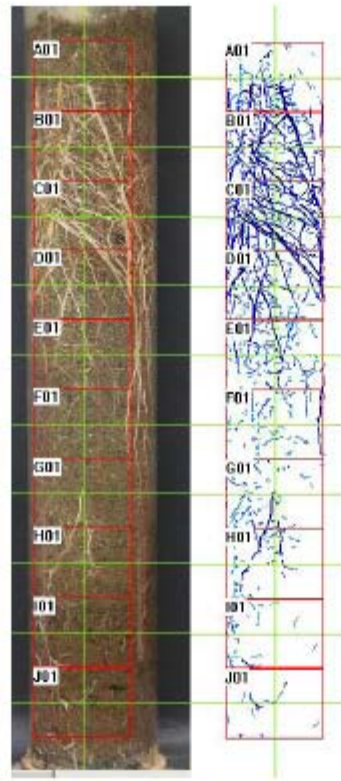
Quantify temperature differences
(e. g. within leaves and between plants)



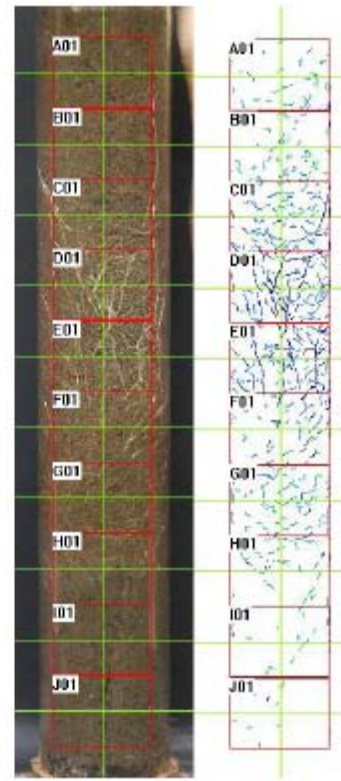
Static root density profiles - growth pattern



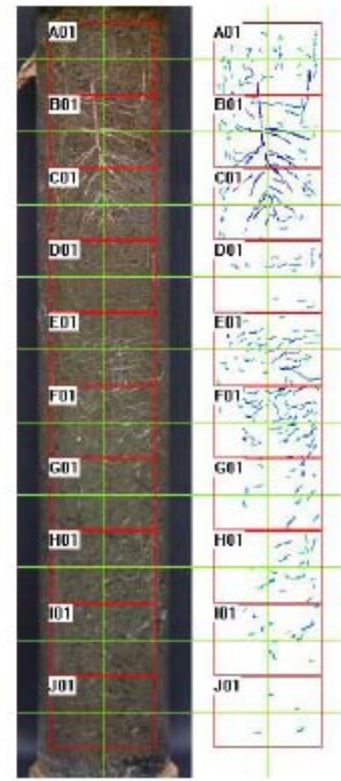
Bangui



Sweet Corn



Prelude



Bangui

Dynamic root growth - pattern



Day 0 12 25 35 60 100

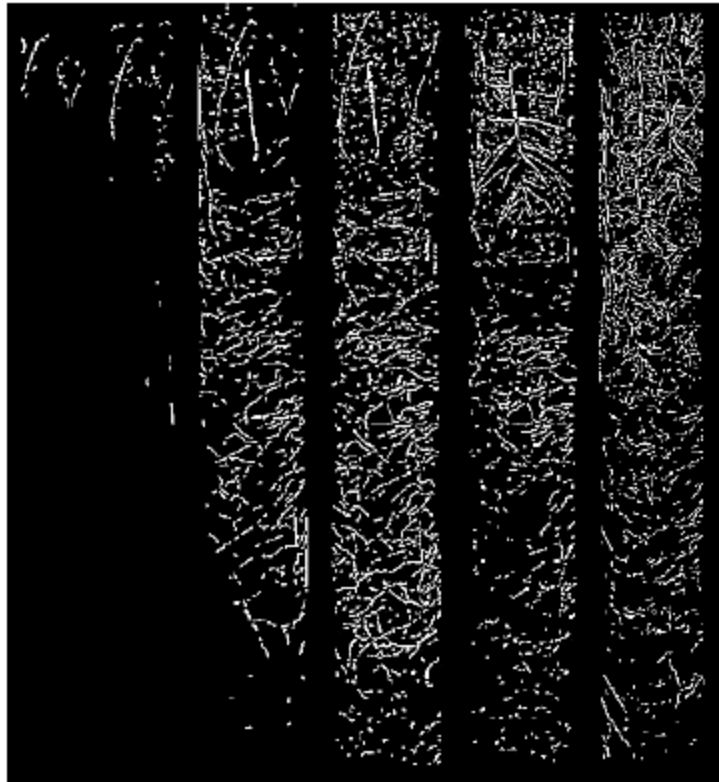
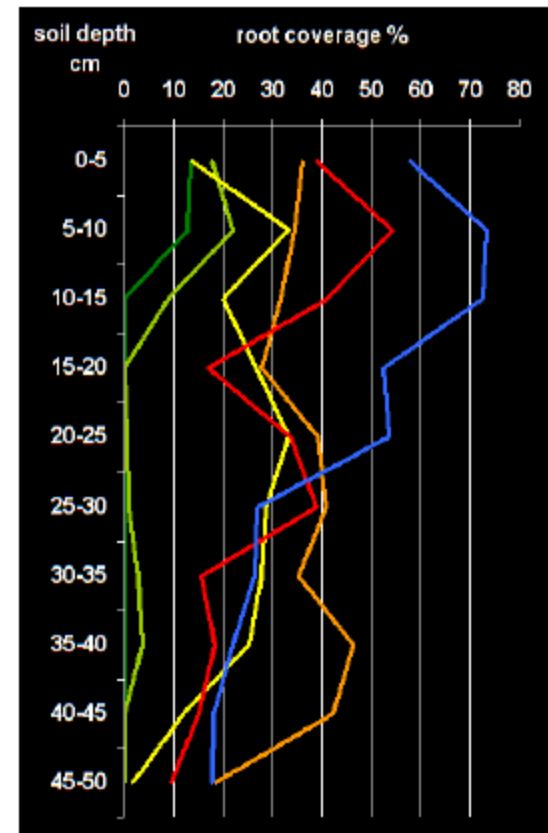


image and data show the development of roots of one plant in time.





De l'expérimentation manuelle à l'automatisation...

<http://bioweb.supagro.inra.fr/phenopsis/InfoBDD.php>

<http://www.lemnatec.com/LemnaTec%20Home>

<http://www.youtube.com/watch?v=LbjOkIkLvKM&feature=channel>

http://www.youtube.com/watch?v=ovnwzzt_Xbs