



# Aspects physiques du contraste en Imagerie



**Pierre Malick Koulibaly**

Physicien Médical

Centre Antoine Lacassagne – Nice



## Le contraste dans une image...

---

Définition : (ital. *contrasto* = lutte) opposition entre 2 choses qui sont mises en valeur par leur juxtaposition.

Le contraste entre un objet et son environnement dépend de la différence de luminances entre ceux-ci.

Cette différence peut provenir d'une différence de couleur ou d'éclairement entre l'objet et son environnement.

**Le contraste**

**Le contraste**

**Le contraste**

**Le contraste**

**Le contraste**

**Le contraste**

## Rappels sur quelques contrastes...

Faits en PCEM 2

En radiologie/TDM X (photons X)

→ Le contraste est dû à la différence des **coefficients d'atténuation** des organes.

En IRM (onde radiofréquence)

→ Le contraste est dû à la différence des **temps de retour à l'équilibre** (T1, T2) des atomes après excitation par une onde radiofréquence.

En médecine nucléaire (photons  $\gamma$ )

→ Le contraste est dû à la différence de **captation du traceur radioactif** par les organes

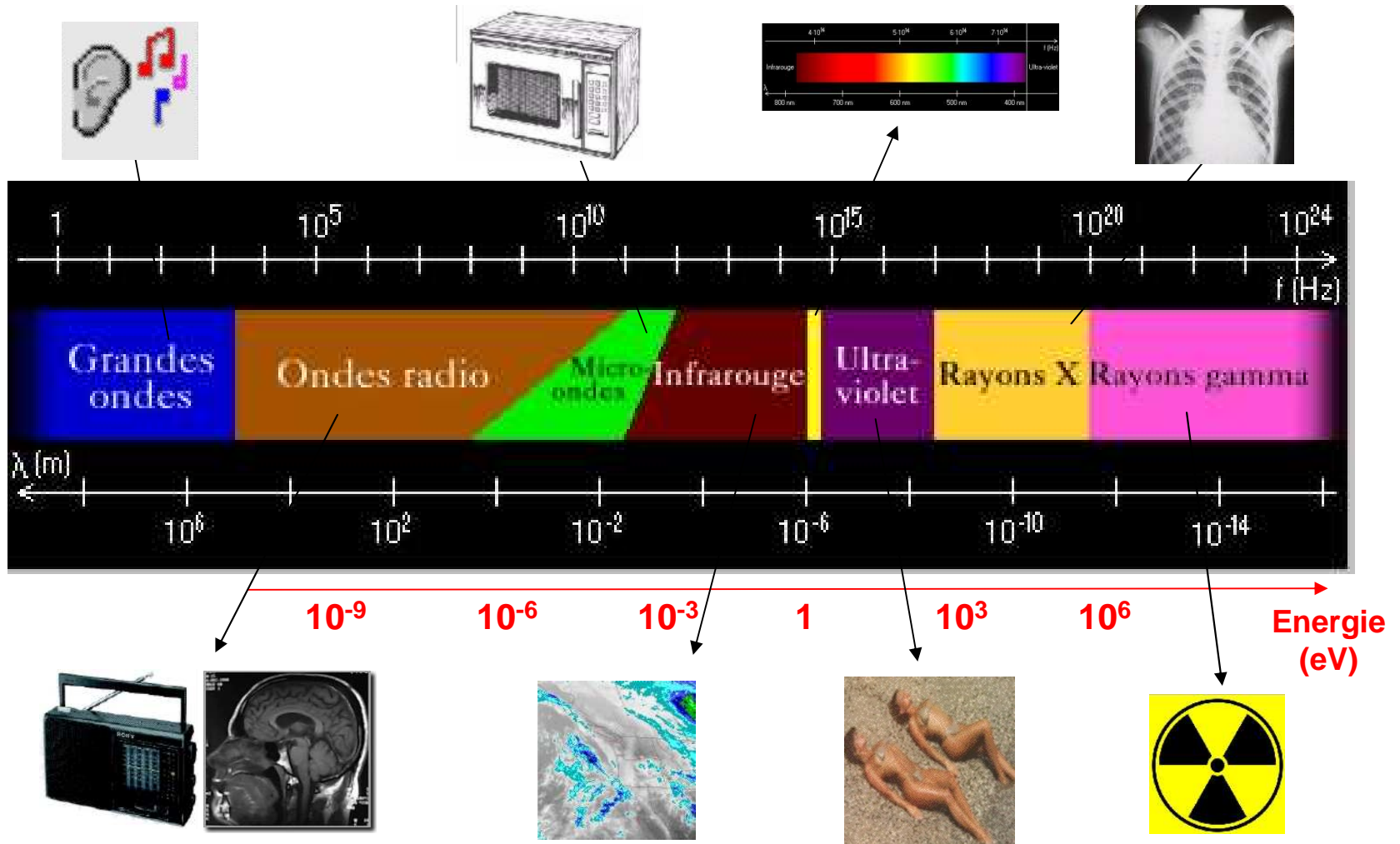
En échographie (ultrasons)

→ Le contraste est dû à la différence **d'impédance** des organes (résistance fonction de l'élasticité et de la densité du milieu)

En optique (lumière)

→ Le contraste est dû à ... beaucoup de chose

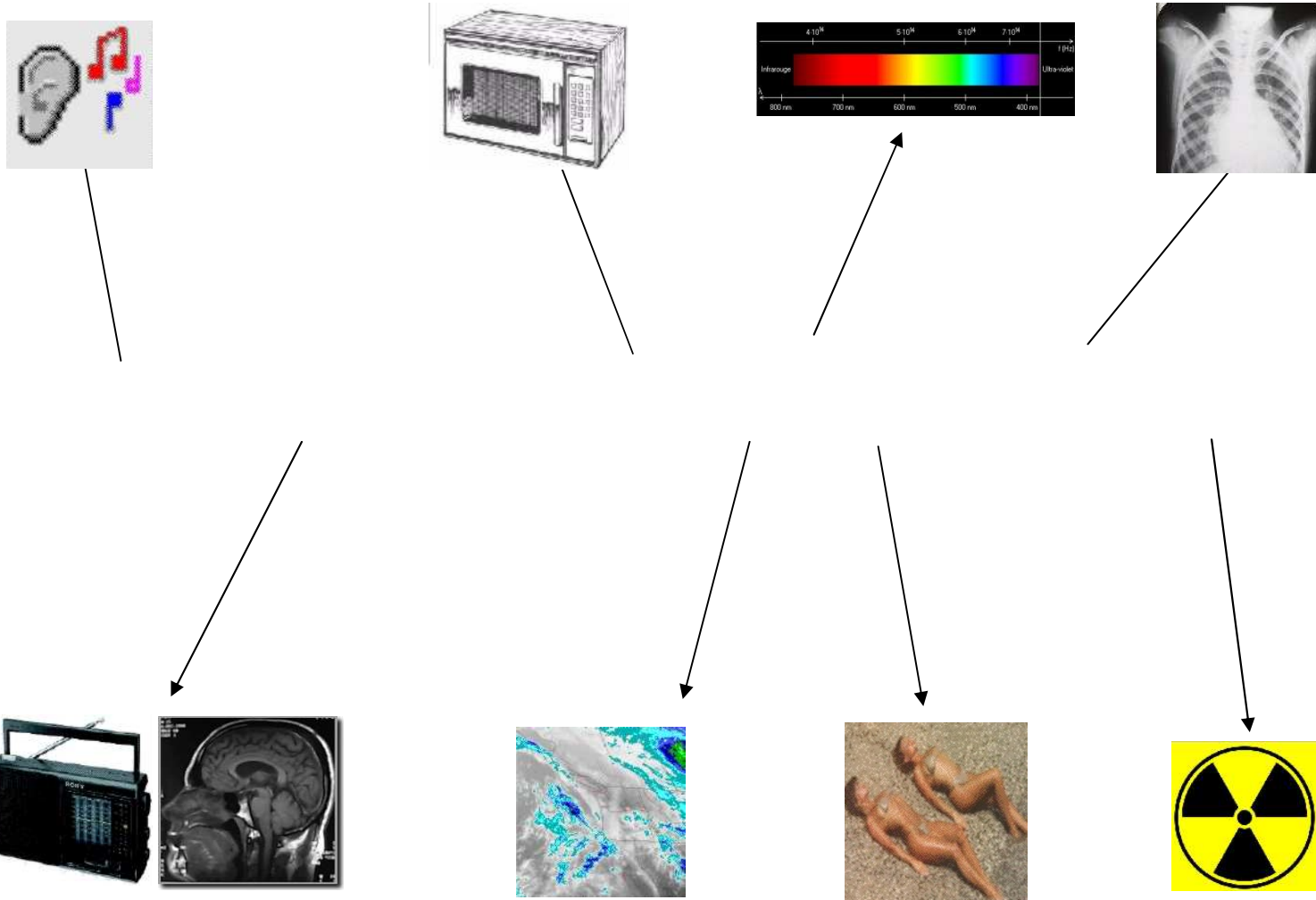
# Rappel : spectre des rayonnements électromagnétiques



4

**Remarque :** loi de Duane & Hunt :  $E = hv = h(c/\lambda) \Rightarrow E(\text{eV}) = \frac{1240}{\lambda(\text{nm})}$

## Rappel : spectre des rayonnements électromagnétiques



5

Remarque :  $E = h\nu = h(c/\lambda)$

$$\rightarrow E(\text{eV}) = \frac{1240}{\lambda(\text{nm})}$$



# **Rappels sur les différentes modalités d'imagerie**

# Les appareils (1)

## Appareils de radiologie



Les Rayons "X" ont été mis en évidence par **Röntgen** en 1895.



Tout comme la lumière visible, les rayons X sont des photons mais d'énergie plus élevée.

Leur énergie étant élevée (keV), leur pouvoir de pénétration dans la matière est d'autant plus grand.

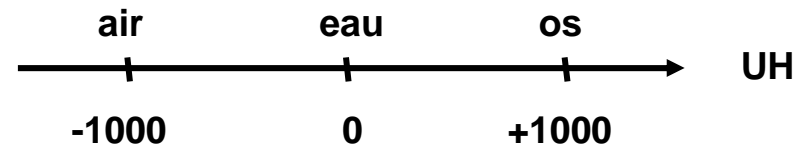


## Les appareils (2)

### Tomodensitomètre X (scanner X)



En 1975 la firme anglaise **EMI** construit le premier scanner à rayon X et le Dr. **HOUNSFIELD** définit une échelle d'absorption des rayons :



Deux facteurs caractérisent la tomodensitométrie :

- **La résolution spatiale** : définie par la capacité à visualiser des structures de petites dimensions.
- **La résolution en densité** : le pouvoir discriminatoire de la machine pour différencier deux structures de densités voisines.

# Les appareils (3)

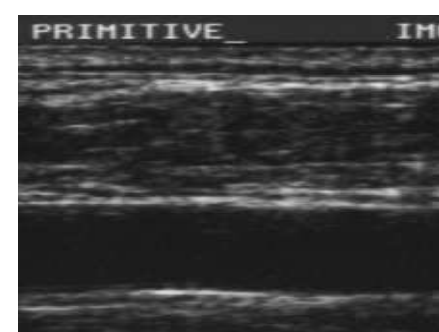
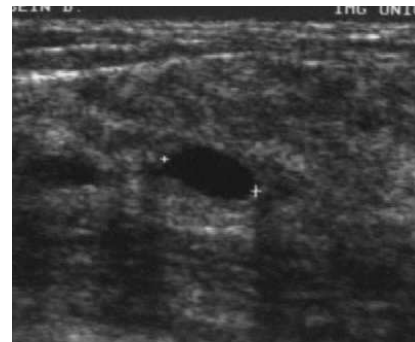
## Echographie



Technique récente d'exploration du corps humain récente. **Début des années 1970.**

Les ultrasons (US) sont émis à une fréquence élevée par des cristaux piézo-électriques contenus dans une sonde. Lorsqu'ils rencontrent une zone de transition entre deux éléments d'impédance acoustique différente, une partie de ces ondes est réfléchiée. Cela constitue un écho qui est capté par la sonde, interprété par l'échographe qui affiche un point à l'écran. Sur un temps court l'ensemble de ces signaux réalise une image. Cette manipulation répétée de 15 à 30 fois par seconde permet d'obtenir une image dynamique.

Les US sont inaudibles et **inoffensifs** pour l'organisme, même le plus fragile.



# Les appareils (4) Doppler



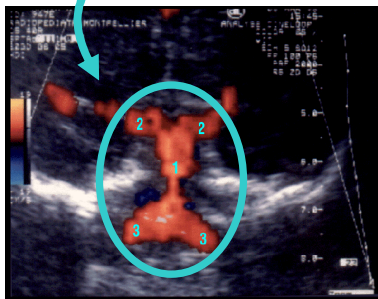
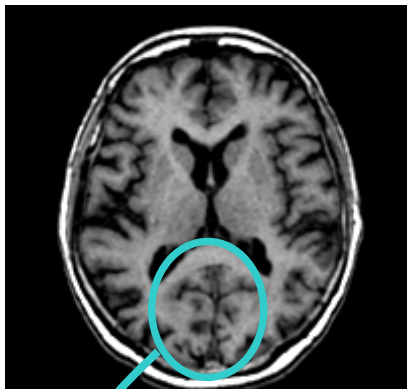
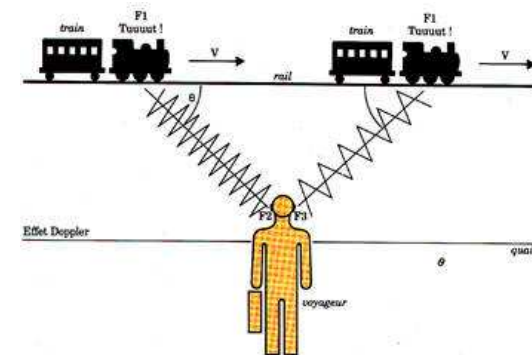
Le physicien autrichien **Johann Christian Doppler** remarque que lorsqu'une source sonore se déplace vers un observateur, la fréquence de l'onde augmente. Le son monte alors dans les aigus. De même une source qui s'éloigne produit un son plus grave.

En **1842**, il décrit mathématiquement ce phénomène. C'est "l'effet Doppler".

vitesse du son dans l'air

$$f_R = f_e \left( 1 + \frac{v}{v_s} \right)$$

vitesse de l'objet étudié



Doppler suggère également que sa découverte peut être appliquée à toutes les autres ondes et notamment la lumière (en astronomie : décalage vers le rouge de la lumière émise par une étoile lorsqu'elle s'éloigne de nous).

Le doppler **étudie le débit du sang** dans les artères et les veines donnant ainsi des renseignements sur ses conditions d'écoulement et la bonne irrigation des organes. Couplé à l'échographie, il renseigne sur la forme des vaisseaux.

# Les appareils (5)

## IRM (Imagerie par Résonance Magnétique)



Phénomène décrit pour la première fois en **1946**. Utilisable dès 1973, mais apparition en milieu hospitalier qu' au début des années 1980.

L'IRM est une imagerie **basée sur l'étude des réponses d'un organisme soumis à un champ magnétique intense allant de 0,5 à 4 Tesla**.

*Remarque* : champ magnétique terrestre :  $5 \cdot 10^{-5}$  T).

La résonance magnétique n'utilise aucune radiation ionisante, mais il faut se limiter à des champs  $\leq 4$  T.

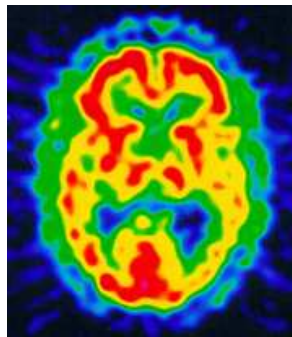
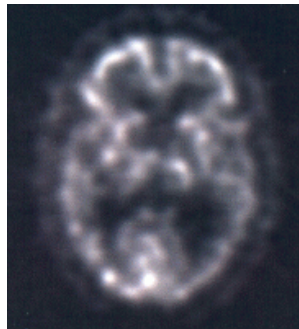


# Les appareils (6)

## Médecine nucléaire

### TEMP

(Tomographe d'Emission Mono Photonique)



### TEP

(Tomographe d'Emission à Positons)



Injection d'un **traceur** radioactif au patient

**Traceur = vecteur + marqueur**

Molécule froide  
(distribution)

isotope radioactif  
émettant un signal  
détectable  
à l'extérieur du corps  
par la caméra

**Bases de l'interprétation**

Recherche d'**hyperfixation**  
ou d'**hypofixation** du traceur

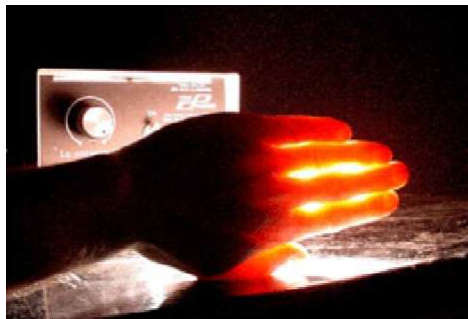
# Les appareils (7-a)

## Imagerie photonique

But du jeu : voir à travers les tissus biologiques

**1<sup>er</sup> problème** : forte absorption de la lumière par les tissus

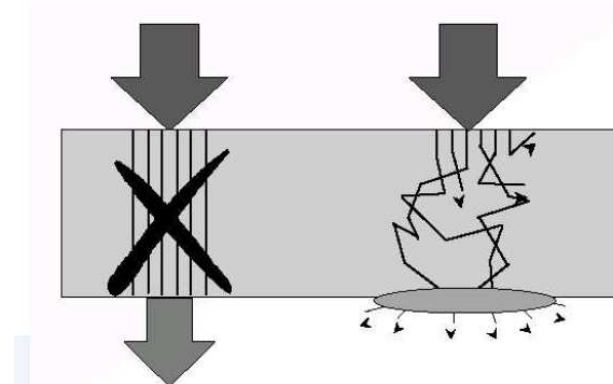
Pour faire de l'imagerie d'organes, il faut pénétrer en profondeur les tissus, donc choisir une longueur d'onde peu absorbée. C'est le cas des longueurs d'onde situées dans le rouge et le proche



→ Seule la lumière proche du rouge (600 nm) « passe », le reste est absorbé

**2<sup>nd</sup> problème** : diffusion de la lumière

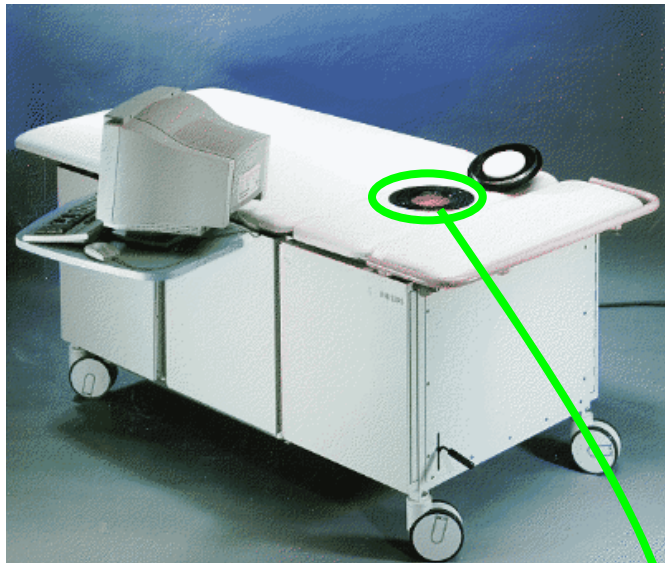
Discrimination des photons (bons/mauvais) selon leur temps de vol



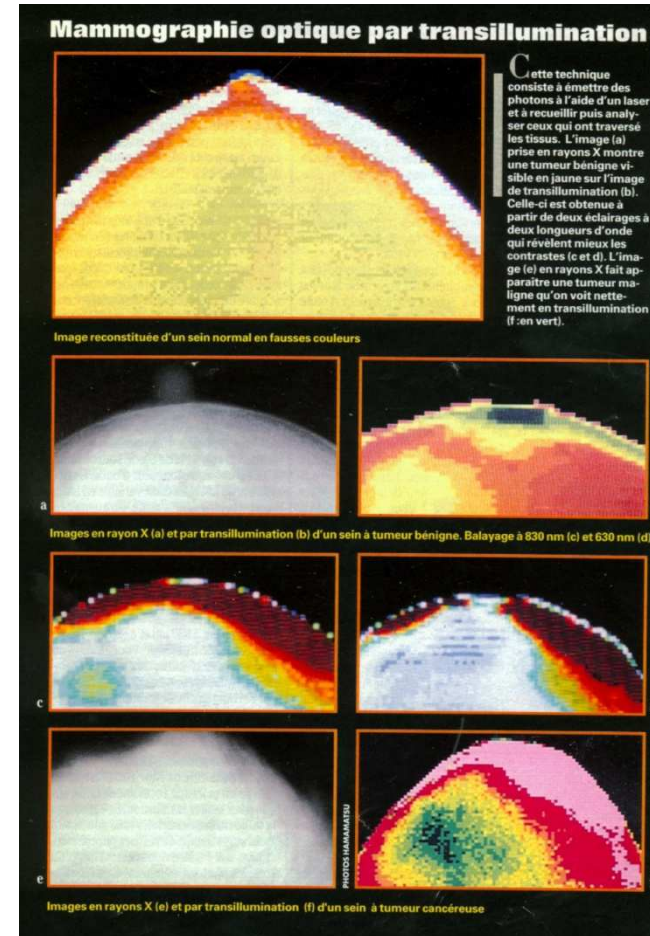
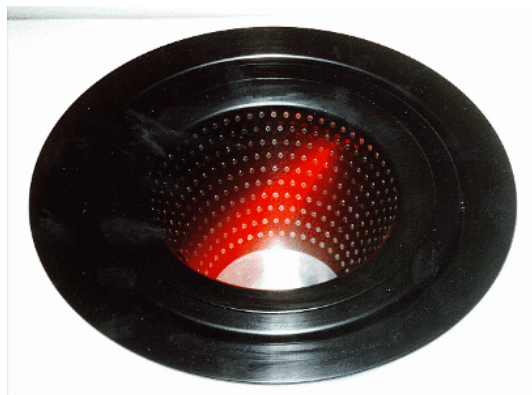
# Les appareils (7-b)

## Imagerie photonique

### Imagerie photonique par transillumination



Système de mammographie développé par la Société Philips



Cette technique consiste à émettre des photons à l'aide d'un laser et à recueillir puis analyser ceux qui ont traversé les tissus. L'image (a) prise en rayons X montre une tumeur bénigne visible sur l'image de transillumination (b). Celle-ci est obtenue à partir de deux éclairages à deux longueurs d'onde qui révèlent mieux les contrastes (c et d). L'image (e) en rayons X fait apparaître une tumeur maligne qu'on voit nettement en transillumination (f). (document Société Hamamatsu Photonics).

# Les appareils (7-c)

## Imagerie photonique

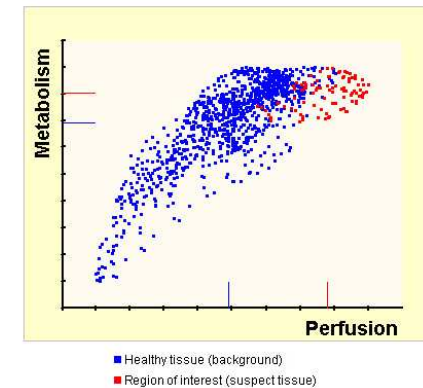
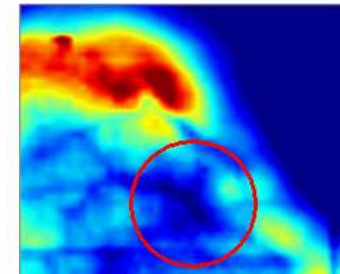
### Imagerie photonique par transillumination



Système SoftScan™ de mammographie développé par la Société ART



L'image représente l'atténuation des photons à travers le sein.  
Les **tumeurs** sont plus vascularisées et plus denses que les tissus sains.  
⇒ elles atténuent donc plus les photons.



Pour savoir, dans un second temps, si la tumeur est bénigne ou maligne (caractérisation tissulaire), on établit le graphe représentant la perfusion (concentration en hémoglobine) en fonction du métabolisme (rapport déoxyhémoglobine/ hémoglobine totale).

Une augmentation de la perfusion montre une différence par rapport à des tissus sains.



# Le contraste lors de l'utilisation de rayons X

Radiologie

Tomodensitométrie X (TDM X)

# 1- Processus physique : les rayons X (I)

Source de rayonnement

→ tube à rayons X de Coolidge (1913)

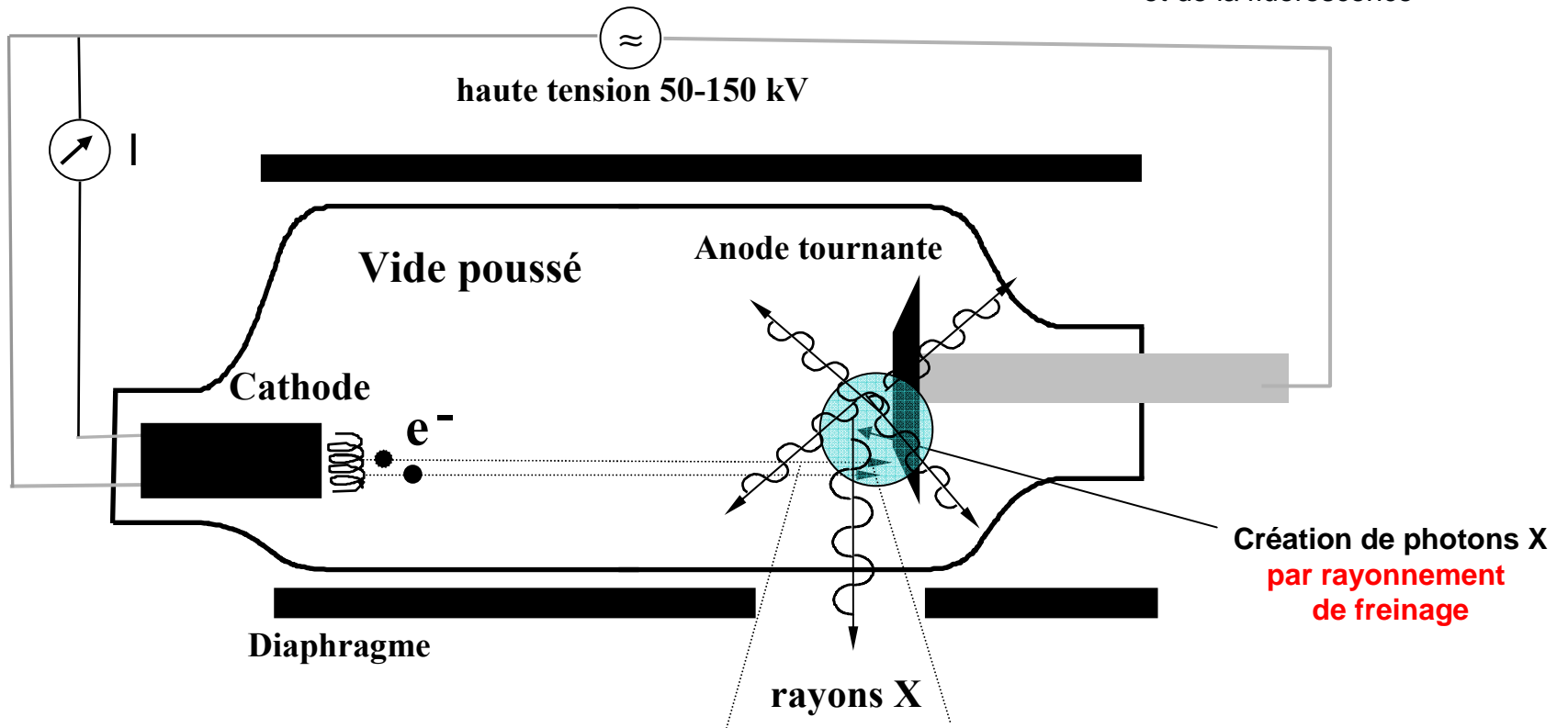
Tube de Hittorf



Tube de Crookes

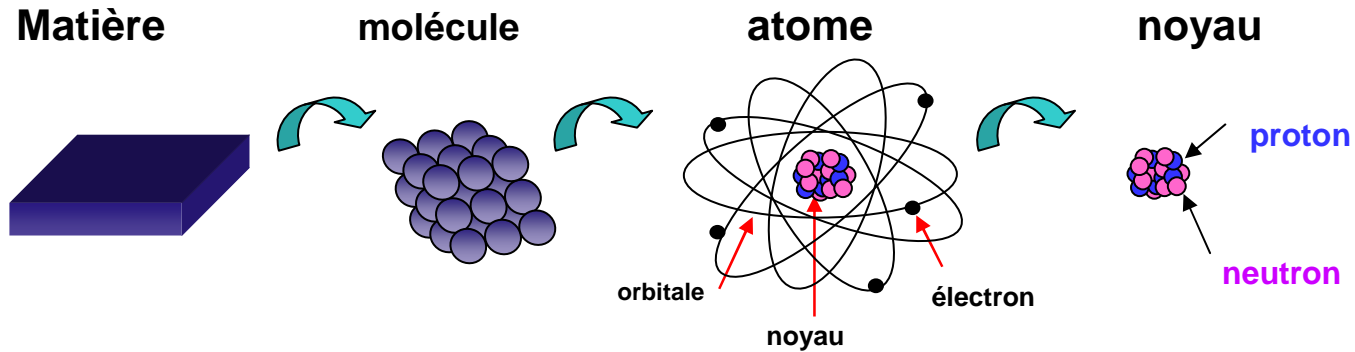


→ Étude de la décharge des gaz et de la fluorescence



# 1- Processus physique : les rayons X (I)

## Le rayonnement de freinage



Or, la masse d'un neutron ou d'un proton est **1840 plus importante** que celle d'un électron.

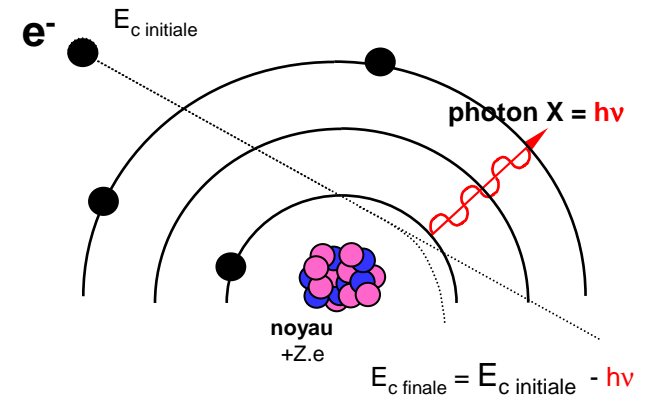
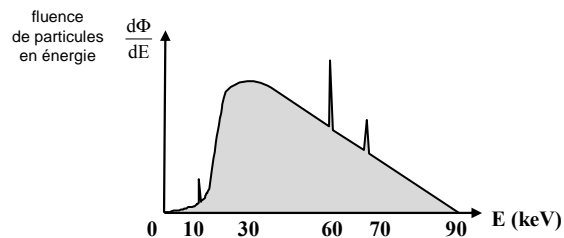
un électron passant à proximité du noyau va être « attiré » par celui-ci.

Sa trajectoire va s'incurver vers le noyau et sa vitesse décroître.

Loi de conservation de l'énergie :

si  $E_{\text{cinétique}}$  diminue il faut que le reste de l'énergie se retrouve quelque part.

⇒ émission d'un photon X (énergie =  $h\nu$ )  
par rayonnement de freinage



## 2- Contraste de l'image ( $C_R$ )

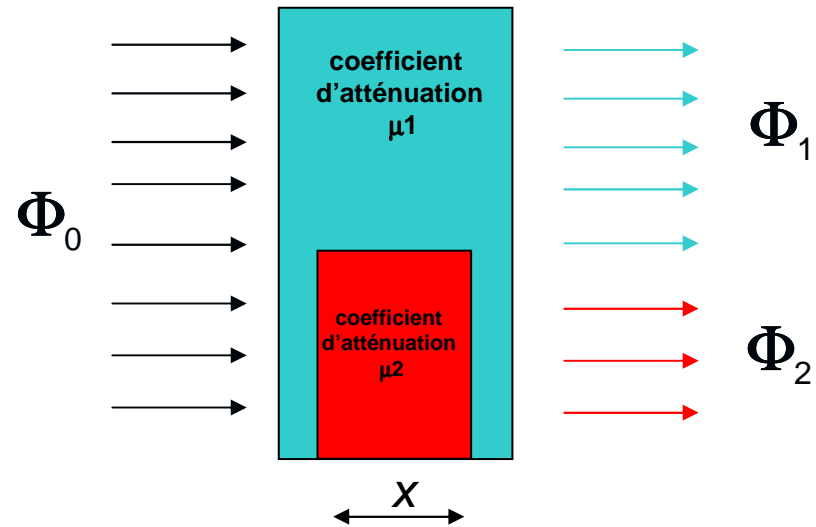


$$C_R = \frac{|\phi_1 - \phi_2|}{\phi_1 + \phi_2}$$

$$C_R \approx \frac{1}{2} |\mu_2 - \mu_1| x$$

$$C_R \propto \Delta\mu \cdot x$$

$$\mu \propto Z^3 \quad (Z = \text{numéro atomique})$$



Remarque : utilisation des **produits de contraste** en TDM X

	H	C	N	O	Ca	I	Ba
Z	1	6	7	8	20	53	56

### 3 - Valeur des pixels

Radiologie classique

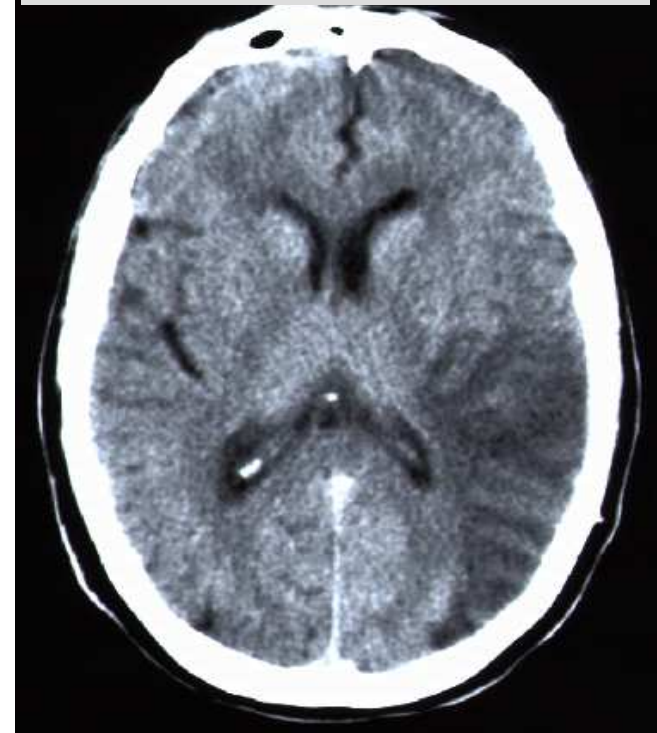


$$\Phi(x,y)$$

$$C_R \propto \Delta\mu \cdot x$$

← épaisseur

Tomodensitométrie X



$$\mu(x,y)$$

Unités Hounsfield

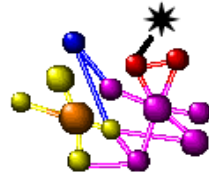
$$C_R \propto \Delta\mu$$



Le contraste  
en  
**Médecine Nucléaire (MN)**

# Principe de la médecine nucléaire

Préparation du radio-traceur



Administration du traceur au patient



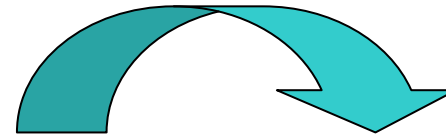
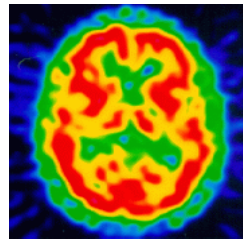
Acquisition des données



Traitement informatique des données



Analyse de l'image de l'organe à explorer



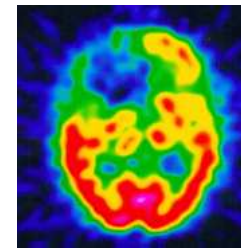
Traceur = vecteur + marqueur

Molécule froide (distribution)

isotope radioactif émettant un signal détectable à l'extérieur du corps par la caméra

**Bases de l'interprétation**

Recherche d'**hyperfixation** ou d'**hypofixation** du traceur



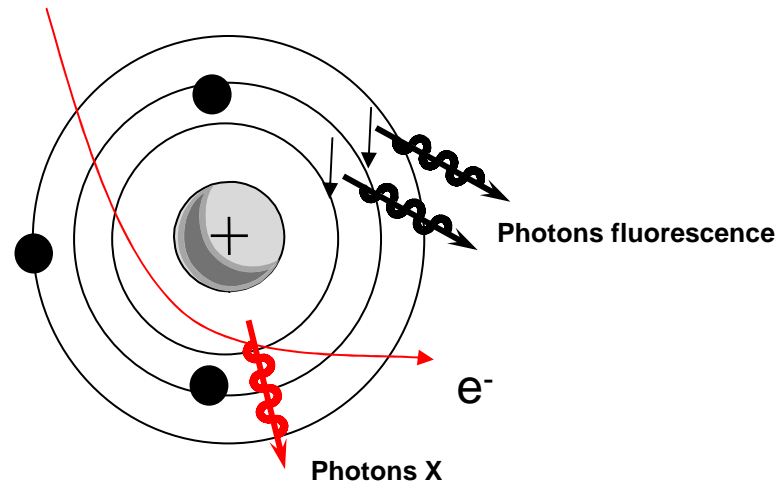
# 1- Processus physique : photon $\gamma$

## Différence entre photons X et photons $\gamma$ ?

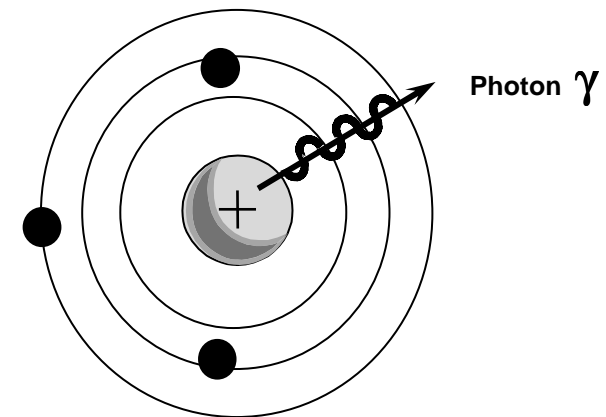
### Photon X

origine = cortège électronique

- rayonnement de freinage
- photons de fluorescence



Photon  $\gamma$   
origine = noyau \*

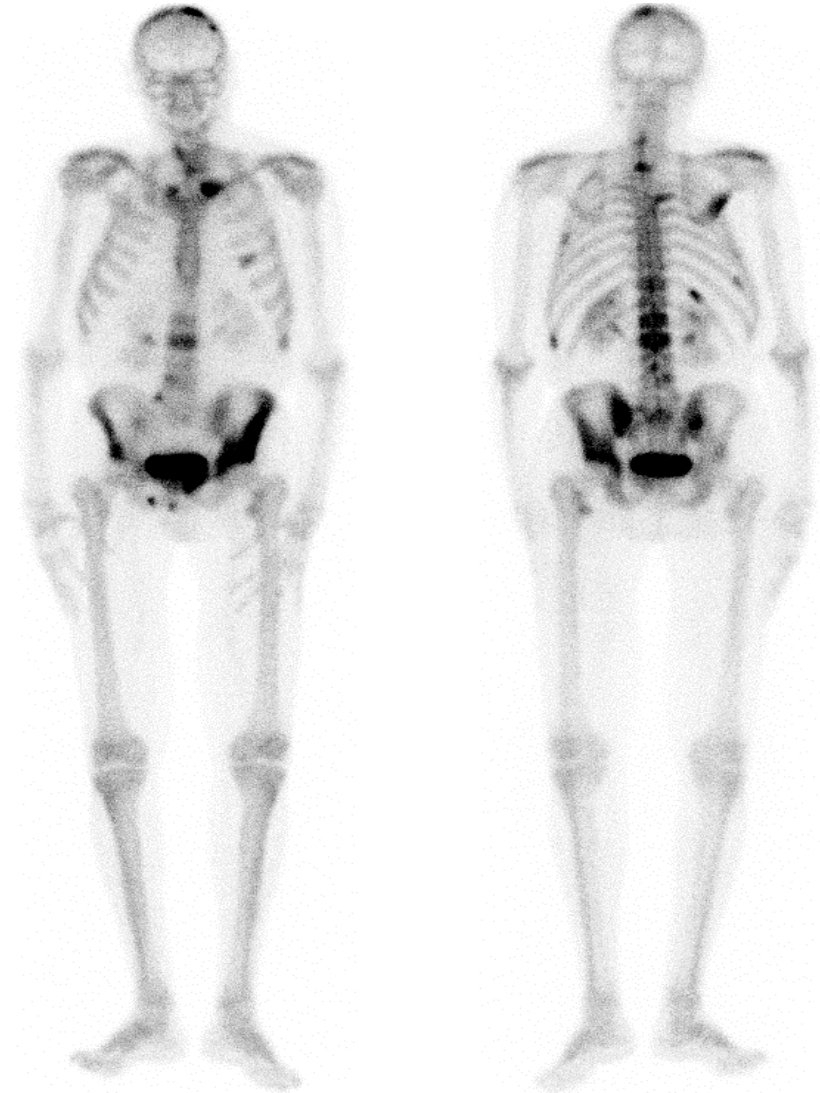


**À part leur origine,** ils ont exactement les mêmes caractéristiques et propriétés

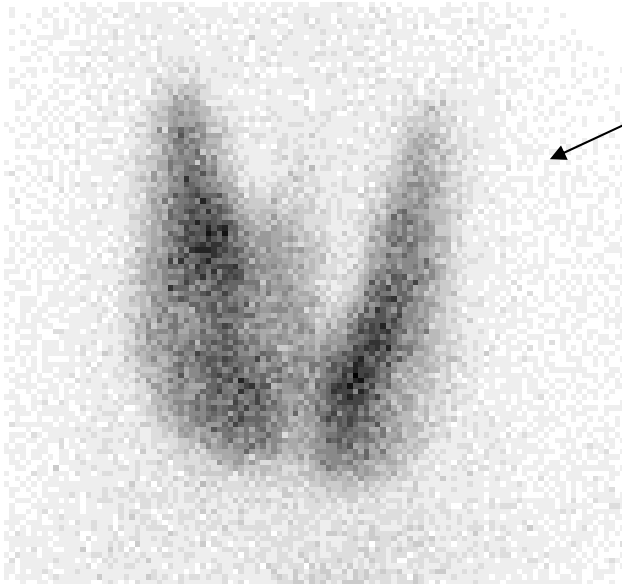
## 2- Contraste de l'image

$C_R =$  **variation** de la  
concentration en traceur

Exemple du traceur osseux :  
HMDP marqué au  $^{99m}\text{Tc}$



### 3- Valeur des pixels



Intensité :  $I(x,y)$

$I(x,y)$  = Nombre de photon détecté  
 $\propto$  concentration en traceur

Thyroïde





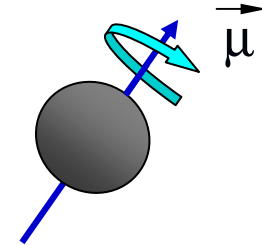
# Le contraste en **IRM**

(Imagerie par Résonance Magnétique)

# 1- Processus physique (I)

Source de rayonnement

Noyau de certains atomes : moment magnétique nucléaire



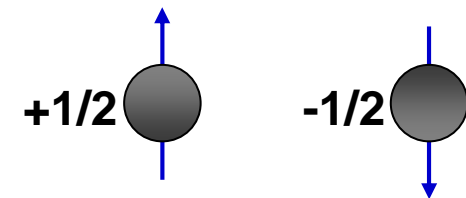
$$\mu = \gamma \cdot \frac{h}{2\pi} \cdot I \quad \text{avec}$$

$\gamma$  = rapport gyromagnétique caractéristique du noyau  
 $h$  = cste de Planck  
 $I$  = nombre quantique de spin

$\mu \Rightarrow$  signal RMN

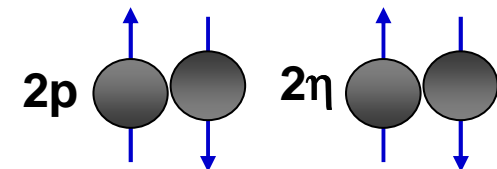
Les nucléons ont un « Spin » de  $\pm 1/2$  :

(protons et neutrons)



$I$  : le nombre quantique de spin du noyau =  $\Sigma(\text{spins nucléons})$

Pb : les nucléons ont tendance à se regrouper par paire :



# 1- Processus physique

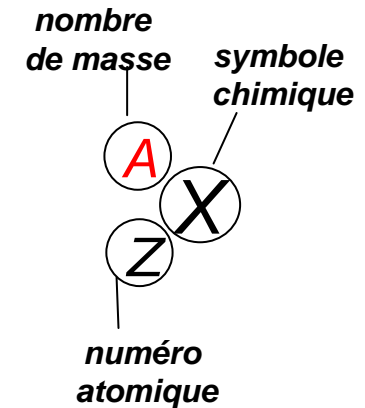
(II)

## Source de rayonnement

Appariement → plusieurs configurations possibles.  
 → valeurs de I bien définies

**Z** : numéro atomique  
**A** : nombre total de nucléons

<b>Z</b> \ <b>A</b>	(2n)	(2n+1)
(2n)	<b>I = 0</b>	I = (n+1).1/2
(2n+1)	<b>I = entier</b>	



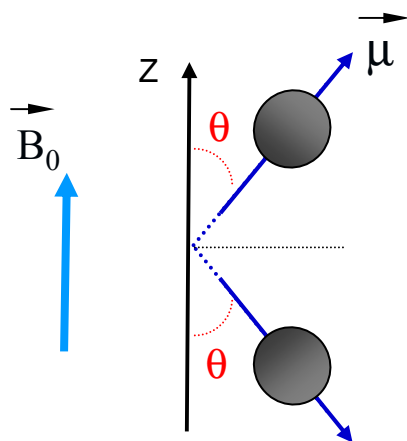
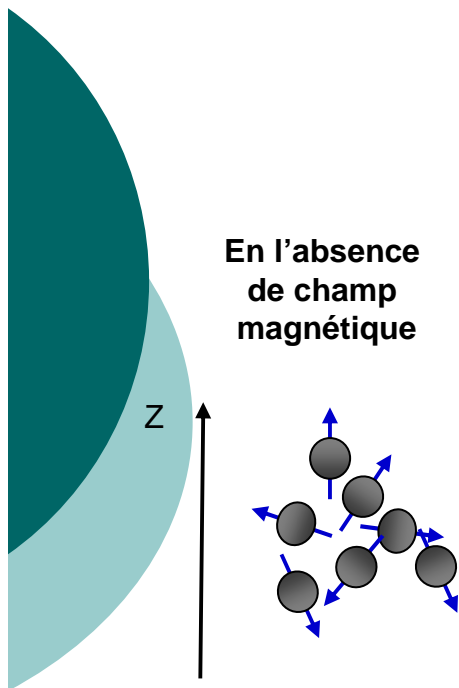
Noyau	I = Nombre de Spin	RMN ?
Carbone 12	0	non
Oxygène 16	0	non
<b>Hydrogène</b>	<b>1/2</b>	Spectro + <b>IRM</b>
Phosphore 31	1/2	Spectro
Carbone 13	1/2	Spectro
Fluor 19	1/2	Spectro

# 1- Processus physique (III)

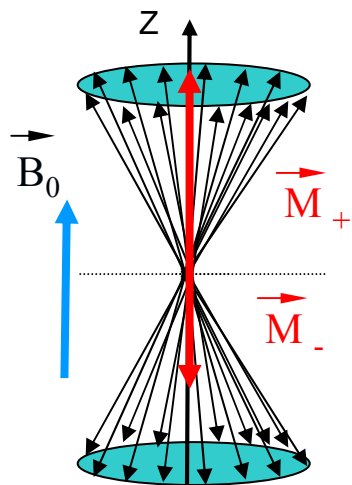
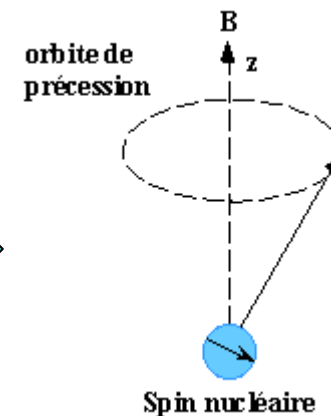
## Signal RMN

$$\omega_0 \leftrightarrow \nu_0 = \gamma/2\pi \cdot B_0$$

fréq. de LARMOR



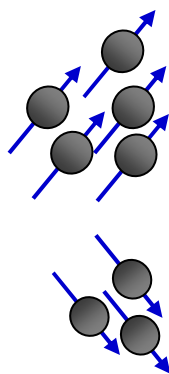
$$\vec{\mu} \otimes \vec{B}_0 = \vec{F}$$



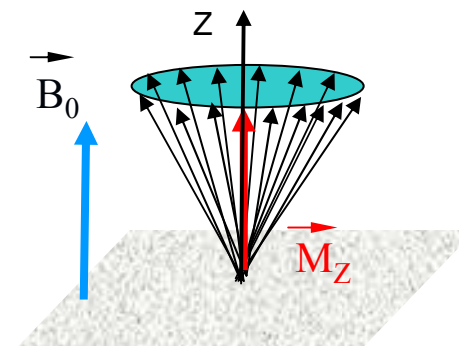
Pour le noyau

$$\vec{M} = \sum \vec{\mu}$$

1 000 004



1 000 000



aimantation longitudinale

# 1- Processus physique

# (IV)

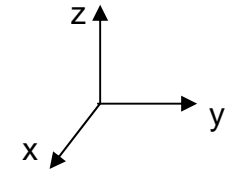
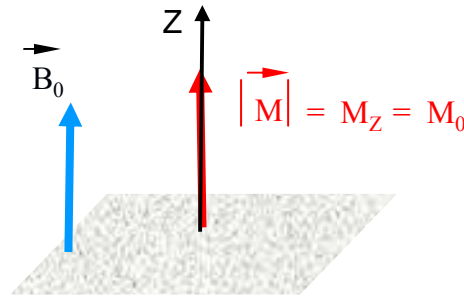
## Signal RMN

On produit le phénomène de RMN en appliquant une onde radiofréquence correspondant à la fréquence de Larmor



(1)

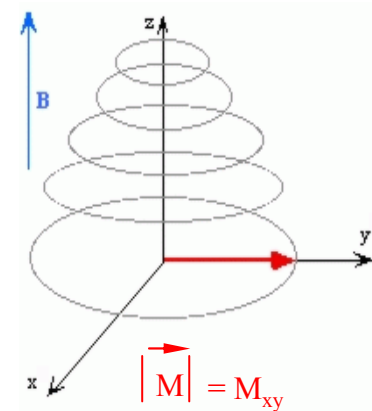
Champ magnétique  $B_0$



(2)

Envoi de l'onde RF ayant fréq. LARMOR

→ Résonance

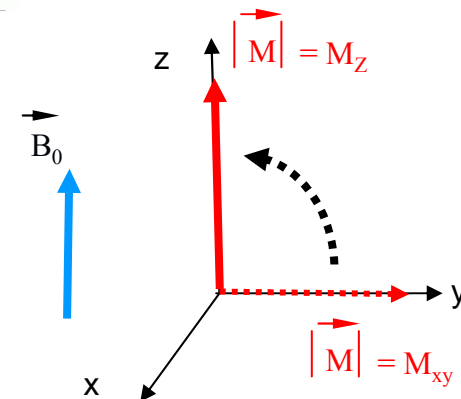


Basculement de  $\vec{M}$  dans le plan transverse xoy

(3)

Arrêt de l'onde RF

→ Relaxation du système et retour à sa position originelle



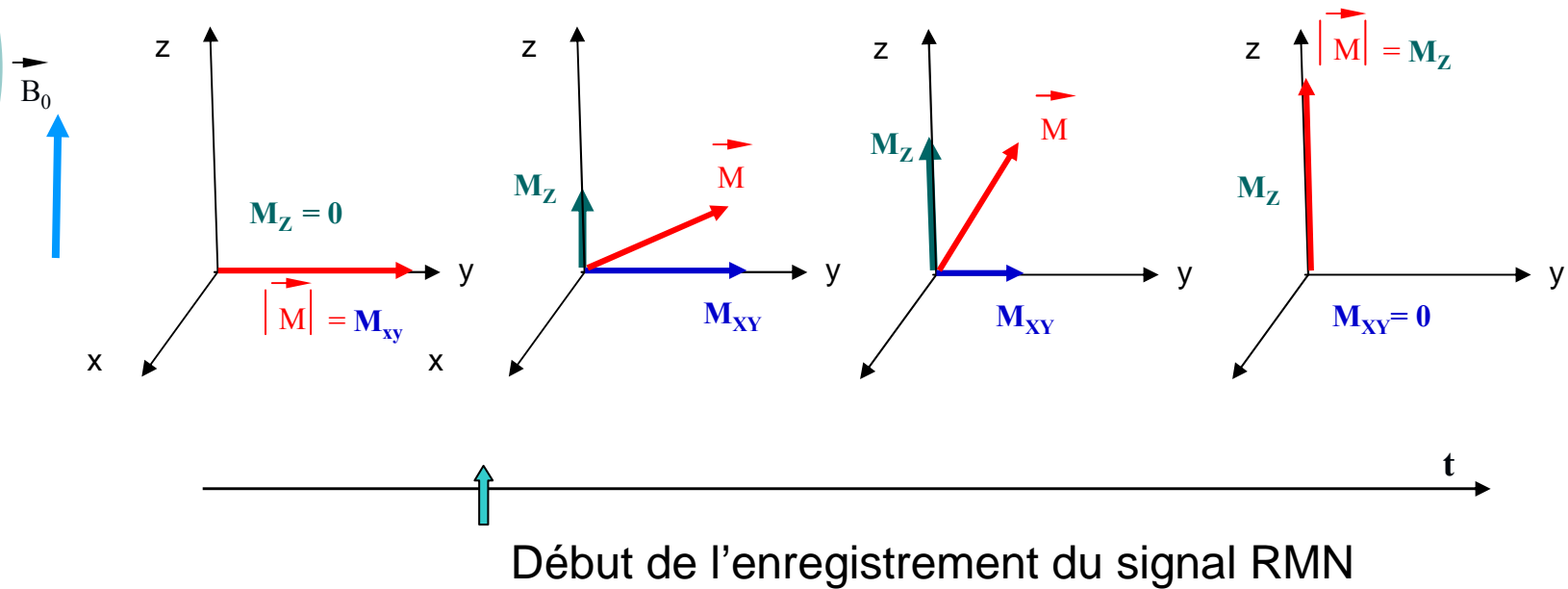
30

# 1- Processus physique

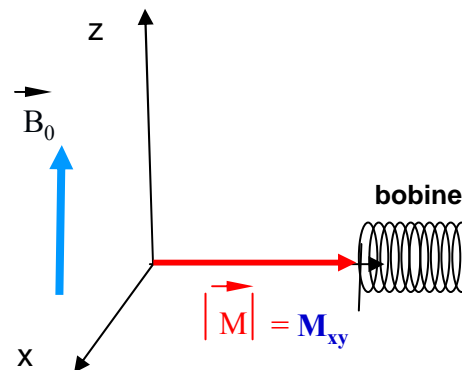
(V)

## Signal RMN

Comment s'effectue le retour du moment magnétique à sa position de départ ?



Recueil de  $M_{xy}$  :



courant induit de fréq.  $\nu_0$   
et proportionnel à  $M_{xy}$

# 1- Processus physique

(VI)

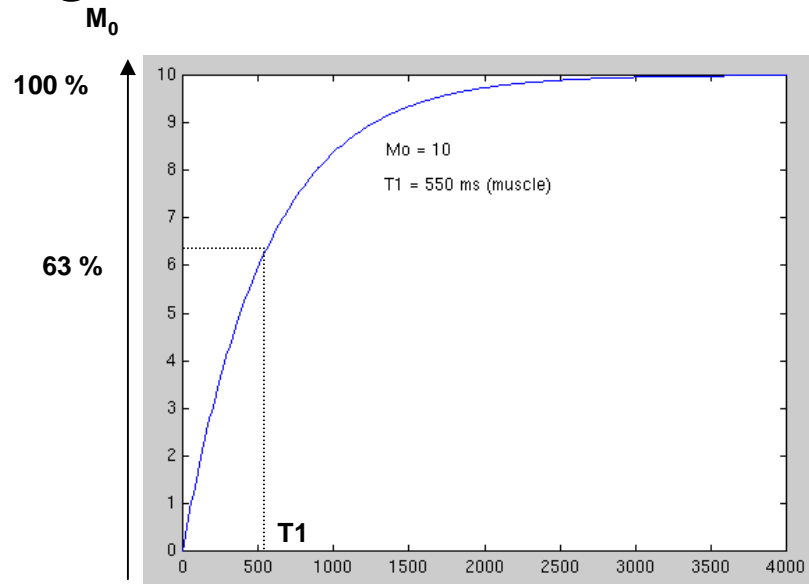
Croissance de  $M_z$

$$M_z(t) = M_0 (1 - e^{-t/T_1})$$

→ cste de temps  $T_1$

$T_1$  = Temps de relaxation longitudinal  
(spin/réseau)

Signal RMN

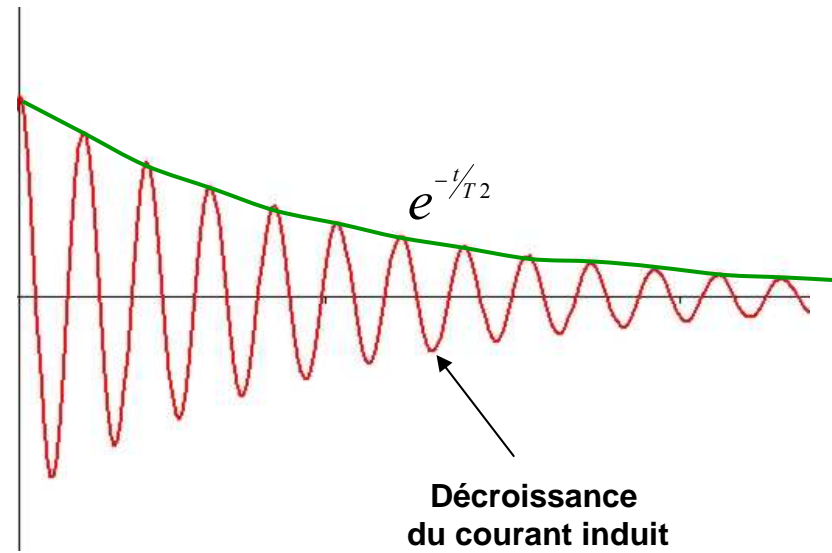


Décroissance de  $M_{XY}$

$$M_{XY}(t) = M_{XY \max} \cdot e^{-t/T_2}$$

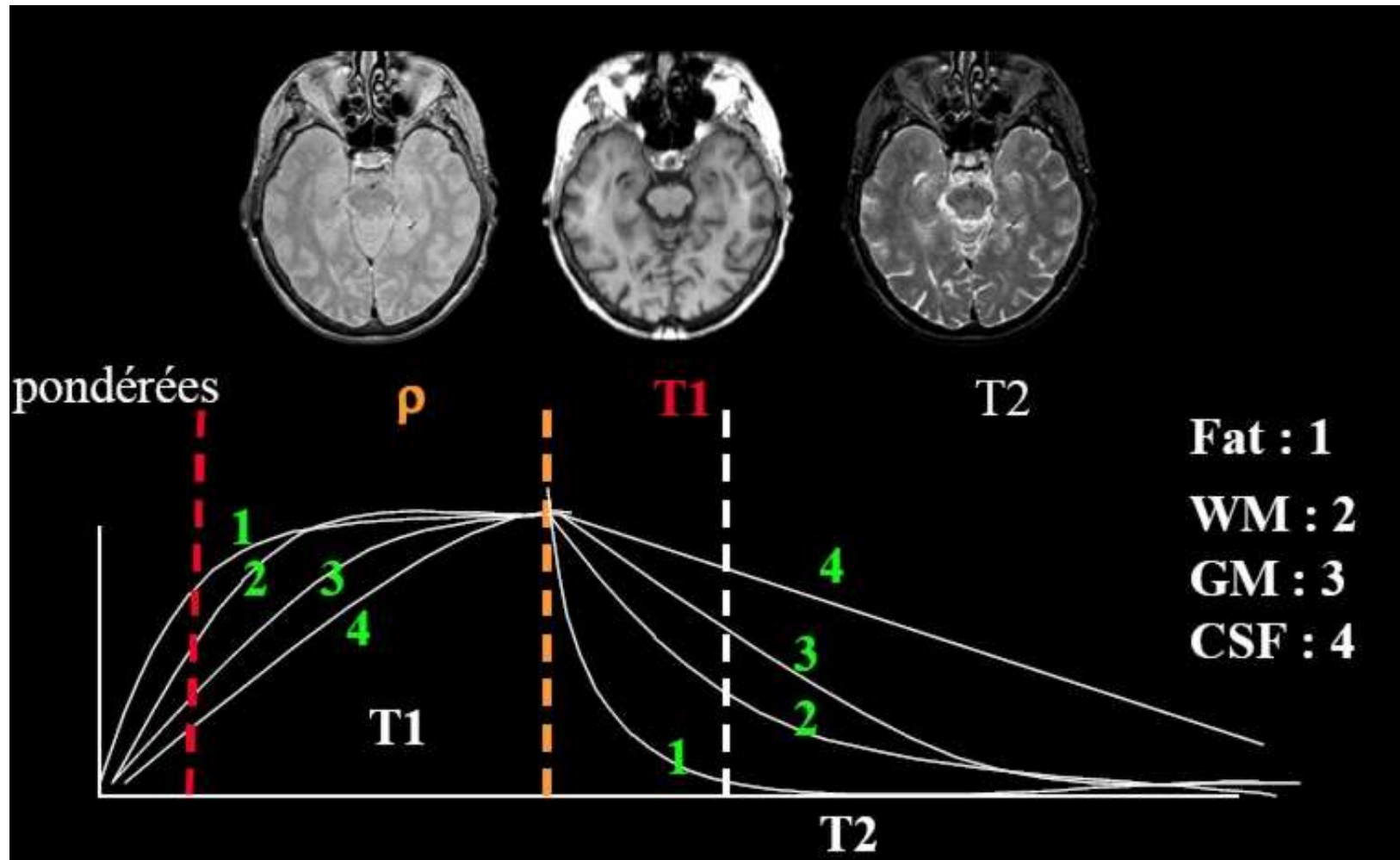
→ cste de temps  $T_2$

$T_2$  = Temps de relaxation transversal  
(spin/spin)



## 2- Contraste de l'image (I)

$C_R$  est donné par les temps (**T1** et **T2**) de retour à l'équilibre qui sont différents en fonctions des tissus



## 2- Contraste de l'image (II)

**Eau** (LCR, œdème)

**Hypo**signal T1

**Hyper**signal T2

Signal intermédiaire si modification de sa structure

**Graisse**

**Hyper**signal T1

**Hypo**signal T2

**Air**

**Hypo** sur toutes les séquences

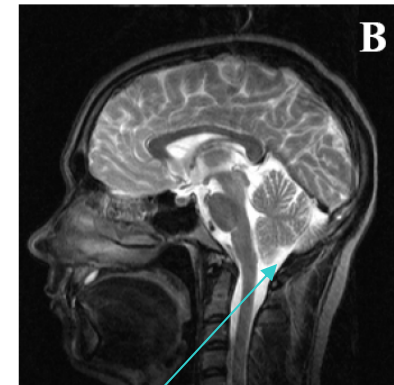
**Calcium**

En général, **Hypo**signal sur toutes les séquences

Image pondérée en **T1**



Image pondérée en **T2**



Le liquide  
céphalo-rachidien (LCR)

On fonction de ce que l'on cherche à voir, on choisira une image pondérée soit en **T1**, soit en **T2**, soit en densité de proton ( $\rho$ ).

### 3- Valeur des pixels

Image pondérée en **T1**



Image pondérée en **T2**

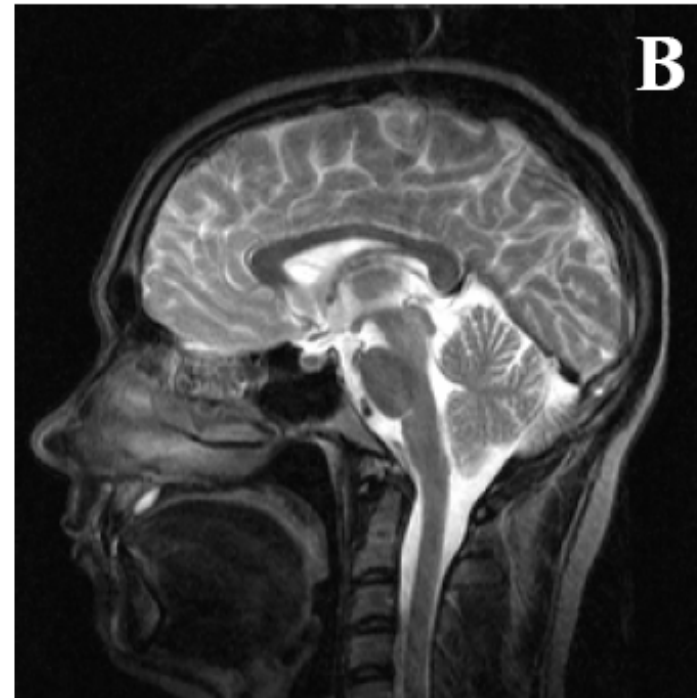


Image paramétrique en **T1**  
(qui dépend du paramètre T1)  
Valeur des pixels = « valeurs de **T1** »

Image paramétrique en **T2**  
(qui dépend du paramètre T2)  
Valeur des pixels = « valeurs de **T1** »



# Le contraste en **Ultrasons (US)**

mais...commençons d'abord par le son !

A la différence des photons  $X$  ou  $\gamma$  qui sont des ondes électromagnétiques (OEM), le son est une **onde mécanique**.

Les ondes mécaniques se propagent de proche en proche dans un milieu matériel élastique par le mouvement des molécules de ce milieu.

Autrement dit, elles ont besoin d'un support physique pour se déplacer



pas de propagation du son dans le vide

(bruit)

(l'espace)



Le son est produit par les vibrations d'un émetteur .

exemple : cordes vocales, membrane d'un haut-parleur, instrument de musique...

mais...commençons d'abord par le son !

Domaine des **fréquences audibles** :

**16 Hz < fréquences audibles < 20 MHz**

La limite supérieure s'abaisse avec l'âge.

Autres domaines :

- $f < 16 \text{ Hz}$  = infra-sons
- $f > 20 \text{ MHz}$  = **ultrasons (US)**

Echographie  
3 à 15 MHz !

- l'homme ne perçoit pas les US.
- la réflexion des US sur des obstacles est meilleure que celle des sons et elle est plus directive.
- certains animaux peuvent émettre et capter ces US, ce qui leur permet de se diriger.

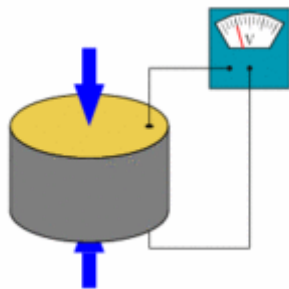
# Comment produire des ultrasons ?

## → La piézoélectricité

*Piézo* : grec (« comprimer »)

Un élément piézo-électrique a la propriété de se polariser électriquement sous l'action d'une contrainte mécanique, c'est **l'effet direct**. Réciproquement, il a la possibilité de se déformer si on lui impose un champ électrique, c'est **l'effet inverse**.

Exemple : le cristal de quartz d'une montre dite "à quartz" est un élément piézo-électrique qui fonctionne selon le principe décrit suivant : la pile impose une ddp au cristal qui va se déformer et initier le mouvement dans le système d'horlogerie de la montre.



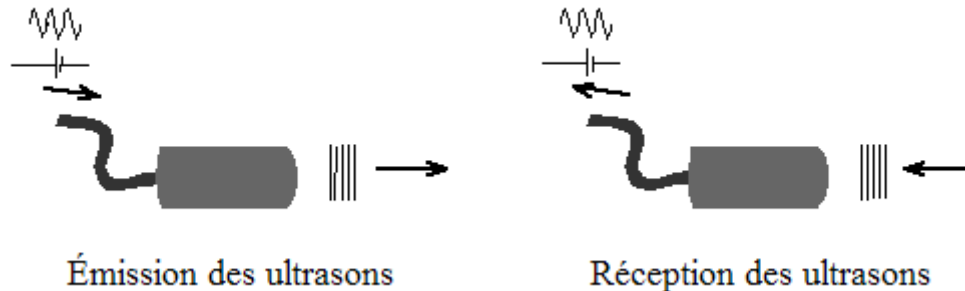
effet direct

Cause	Effet	Cause	Effet
			Déplacement ↑ 
			Déplacement ↓ 
Effet direct		Effet inverse	

**Principes de la piézo-électricité**



Les transducteurs (sonde) fonctionnent alternativement en émission puis réception des ultrasons



L'effet piézoélectrique est obtenu en utilisant des céramiques ferro-électriques de type PZT (zirconate-titanate de plomb).

Les appareils d'échographie-Doppler récents possèdent de 20 à 30 sondes différentes en taille, fréquence ultrasonore et mode de balayage (mécanique, électronique...).



## Propagation des ultrasons

Les ultrasons se propagent à une vitesse appelée **la célérité (C)** de l'onde sonore. Cette vitesse est indépendante de la fréquence de l'onde et ne dépend que de la nature du milieu.

Les tissus présentent en effet une certaine résistance au passage des ultrasons. Cette résistance, appelée **impédance acoustique (Z)** est **une propriété fondamentale du milieu de propagation.**

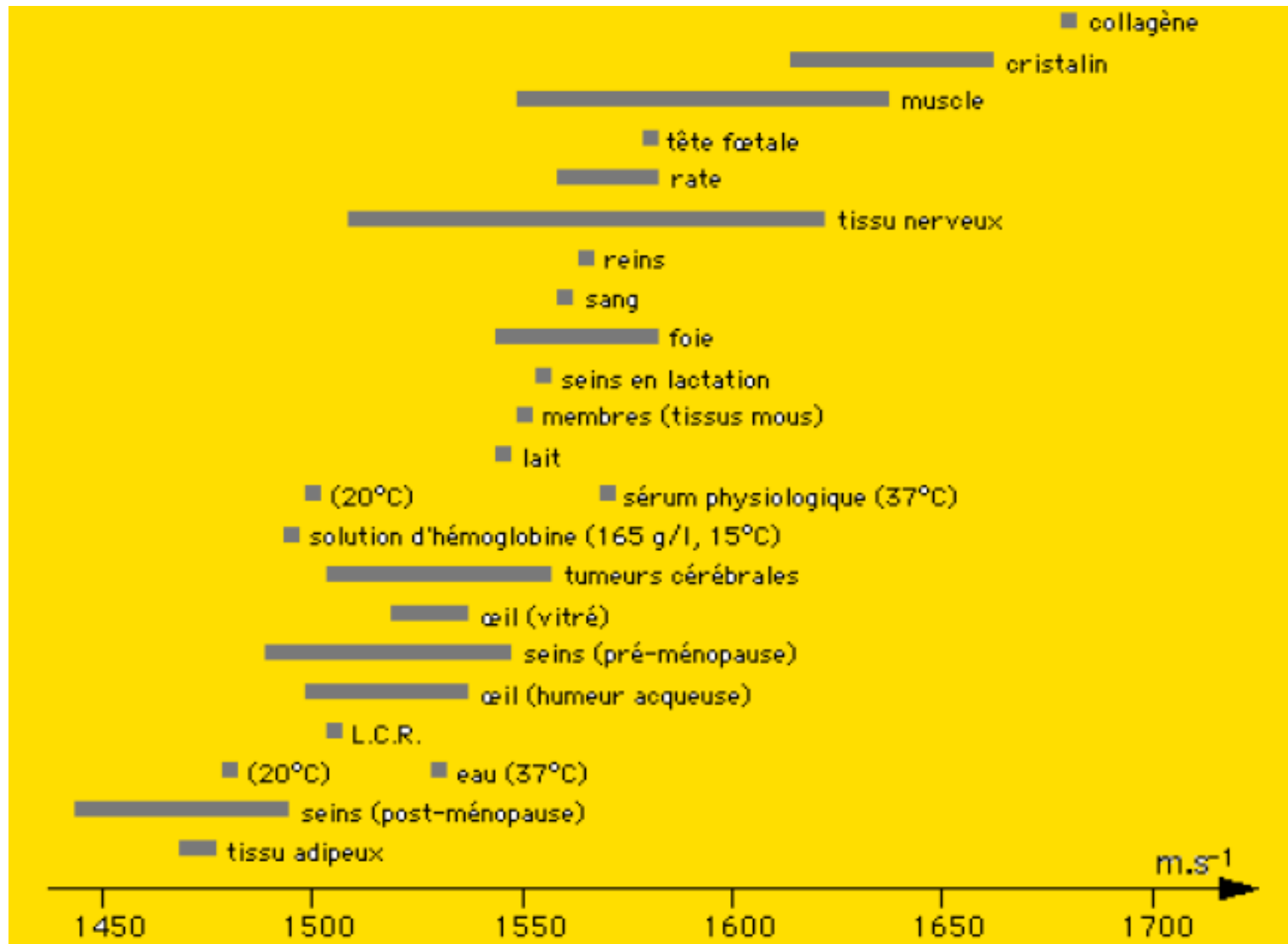
$$C = \sqrt{\frac{E}{\rho}}$$

E élasticité du milieu  
 $\rho$  Masse volumique

$$z = \rho \cdot C \quad [\text{kg} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}]$$

	Air	Eau	Os
C (m.s <sup>-1</sup> )	330	1480	3500
z (kg.m <sup>-2</sup> .s <sup>-1</sup> )	425	1,48.10 <sup>6</sup>	4,3.10 <sup>6</sup>

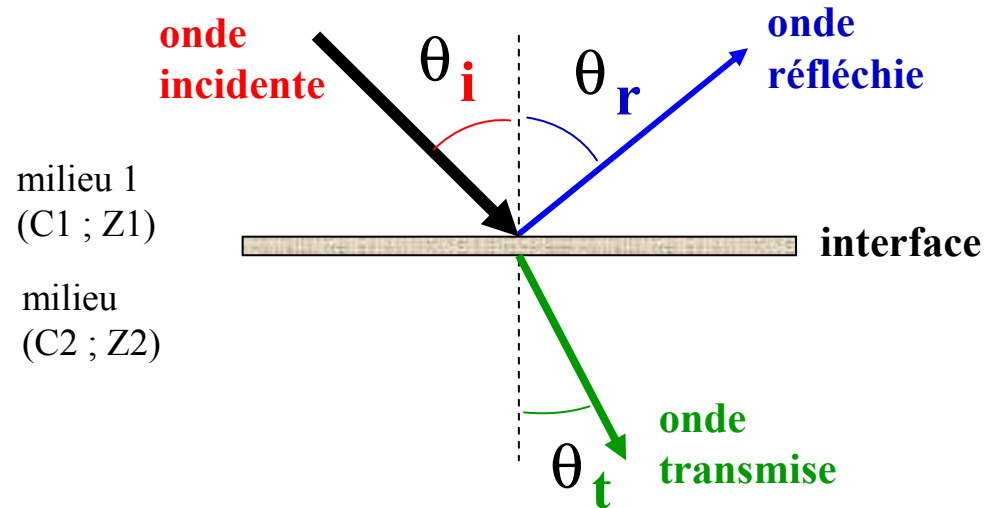
L'impédance est différente d'un tissu à l'autre et la limite entre 2 tissus constitue une **interface**.



Elles obéissent  
à la **loi de Descartes** :  
(comme en optique)

$$\theta_i = \theta_r$$

$$\frac{\sin \theta_i}{C_1} = \frac{\sin \theta_t}{C_2}$$



Intensités réfléchies R  
et transmises T



$$R = \frac{(z_2 - z_1)^2}{(z_2 + z_1)^2}$$

$$T = \frac{4z_1z_2}{(z_2 + z_1)^2}$$

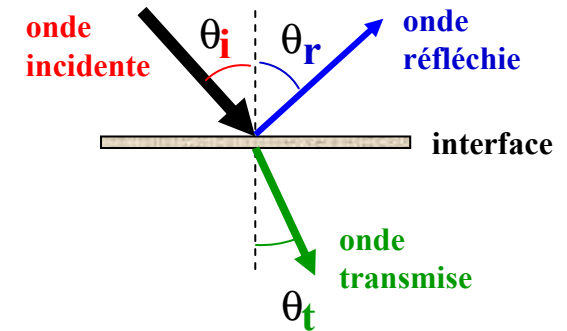
Remarque : si  $Z_2 \neq Z_1$ , l'essentiel de l'onde est transmise

⇒ principe de base de **l'audition**.

En échographie US :

⇒ c'est la **réflexion** que l'on utilise.

$$R = \frac{(z_2 - z_1)^2}{(z_2 + z_1)^2} \quad T = \frac{4z_1z_2}{(z_2 + z_1)^2}$$



Interface air/tissu:

$$Z_{\text{air}} = 4 \cdot 10^2 \text{ et } Z_{\text{tis}} = 1,5 \cdot 10^6 \text{ kg} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$$

$$\left| \begin{array}{l} Z_{\text{tis}}/Z_{\text{air}} = 3750 \\ R = 0,999 \quad \Leftrightarrow 99 \% \text{ de l'onde est réfléchi} \\ T = 0,01 \% \end{array} \right.$$

**Remarque :** si  $Z_2$  très différent de  $Z_1$ , l'essentiel de l'onde est réfléchi.

## Incidence du taux de réflexion/transmission des US

Interface	Tissus/air	Os/muscle	Graisse/muscle	Sang/muscle	Foie/muscle
R (%)	99,9	30	1	0,1	0,01

Si 99 % de l'onde est réfléchi :

→ fort signal (écho) reçu en retour...  
mais pas de pénétration des US en profondeur dans les tissus

**Donc :** les US ne sont pas adaptés pour étudier les poumons

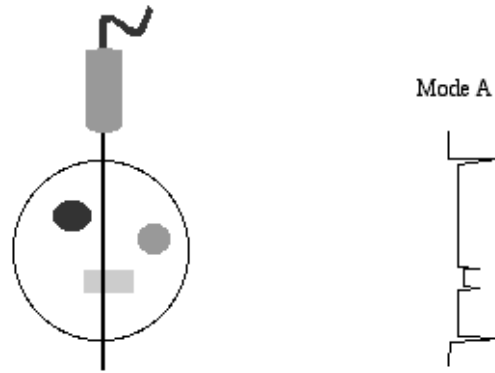
Et pour favoriser la pénétration des US dans le corps, **on utilise du gel** sur la peau pour réduire les différences d'impédance sonde/air et air/tissus.



# Les modes de fonctionnement des sondes échographiques (I)

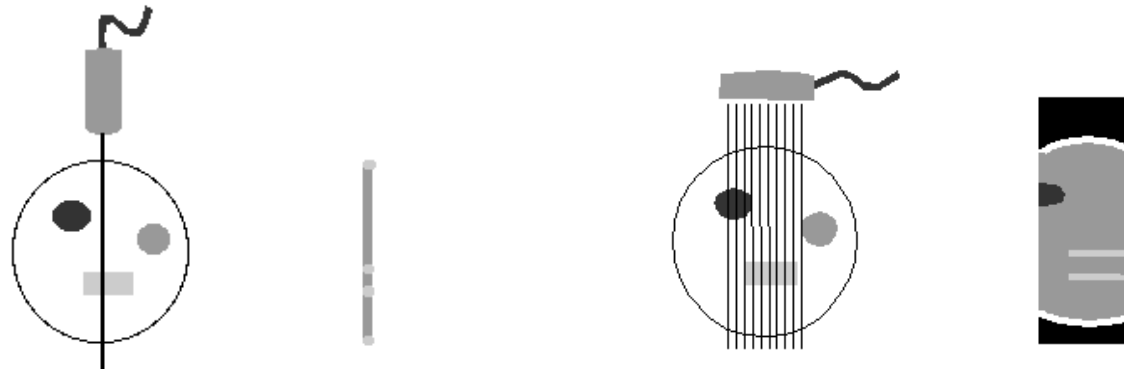
(I)

mode **A**  
(amplitude)

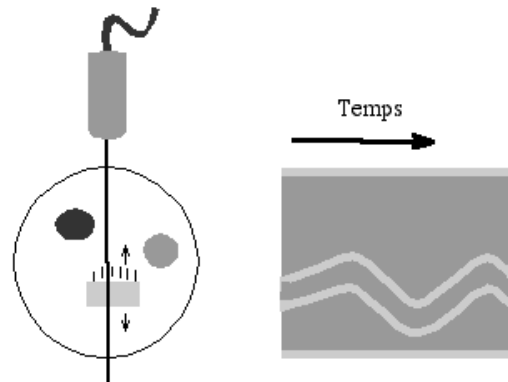


Le mode A est le mode de représentation de l'image le plus primitif. Il consiste à afficher l'**amplitude du signal** recueilli par la sonde en fonction de la **profondeur**.

mode **B**  
(brillance)



mode **TM**  
(temps-mouvement)



C'est un mode dérivé du mode **B**, dans lequel le signal reçu représente les variations, en fonction du temps, des interfaces acoustiques, le long d'une ligne d'exploration.

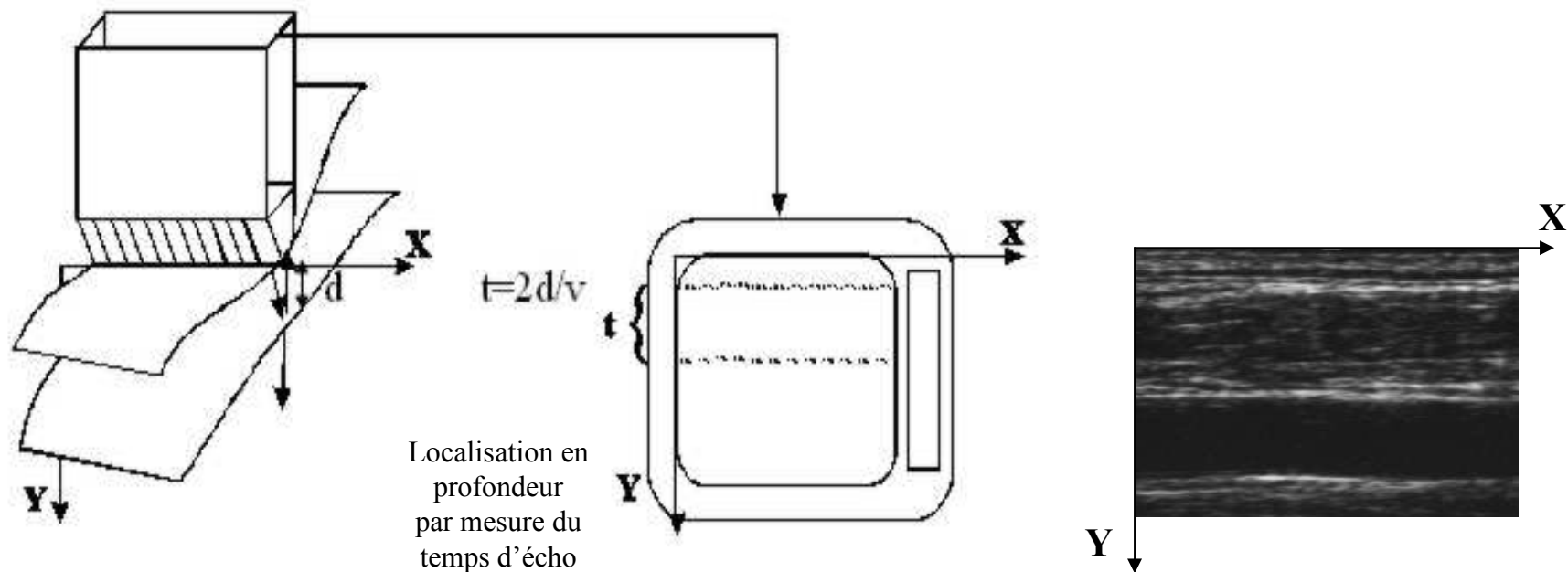
(étude des structures en mouvement : cœur...)

## Les modes de fonctionnement des sondes échographiques (II)

mode **B**  
(brillance)

On représente l'intensité du signal non plus par une courbe mais par la brillance d'un point sur l'écran.

Plus le point est brillant, plus la réflexion des ultrasons a été importante et donc, plus l'écho est intense.



**Intérêt de ce mode** : construire l'image en n'utilisant que la variation dans la dimension Y de façon à pouvoir présenter l'image d'une tranche de tissu

## Comment apparaissent les différents tissus de l'organisme ?

---

**Les liquides simples** dans lesquels il n'y a pas de particules en suspension, laisser traverser les sons et ne se signalent donc pas par des échos. Ils seront noirs sur l'écran (structures hypoéchogènes).

**Les liquides avec particules**, le sang, le mucus, contiennent de petits échos. Ils apparaîtront donc dans les tons de gris, plus ou moins homogènes.

**Les structures solides**, l'os par exemple, renvoient beaucoup les échos. On verra donc une forme blanche avec une ombre derrière.

**Les tissus mous** sont plus ou moins échogènes : le placenta est plus blanc que l'utérus, qui est plus blanc que les ovaires.

**Le gaz et l'air**, sont comme l'os, très blanc.

## Le contraste en ultrasons et son amélioration

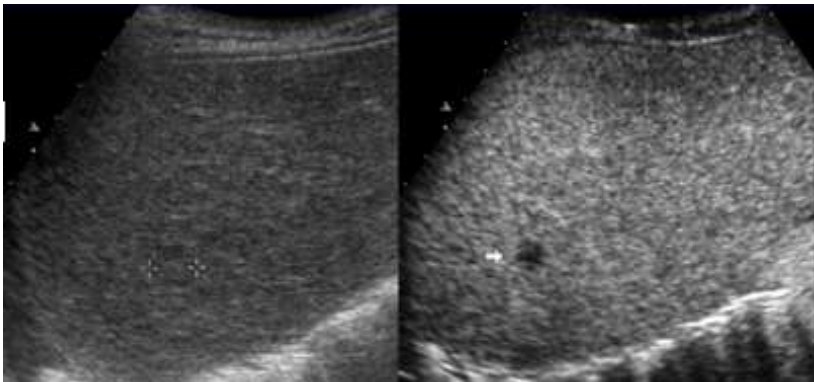
### CONCLUSION

Contraste : dû à la différence d'**impédance entre 2 tissus**

### Produits de contraste en ultrasons:

Idée : induire des différences d'impédance.

On injecte par voie intraveineuse des **microbulles de gaz** encapsulées, d'un diamètre de quelques microns. Ces microbulles améliorent le contraste, car le gaz est un puissant réflecteur des ultrasons



**49** Métastase **hypo**vascularisée



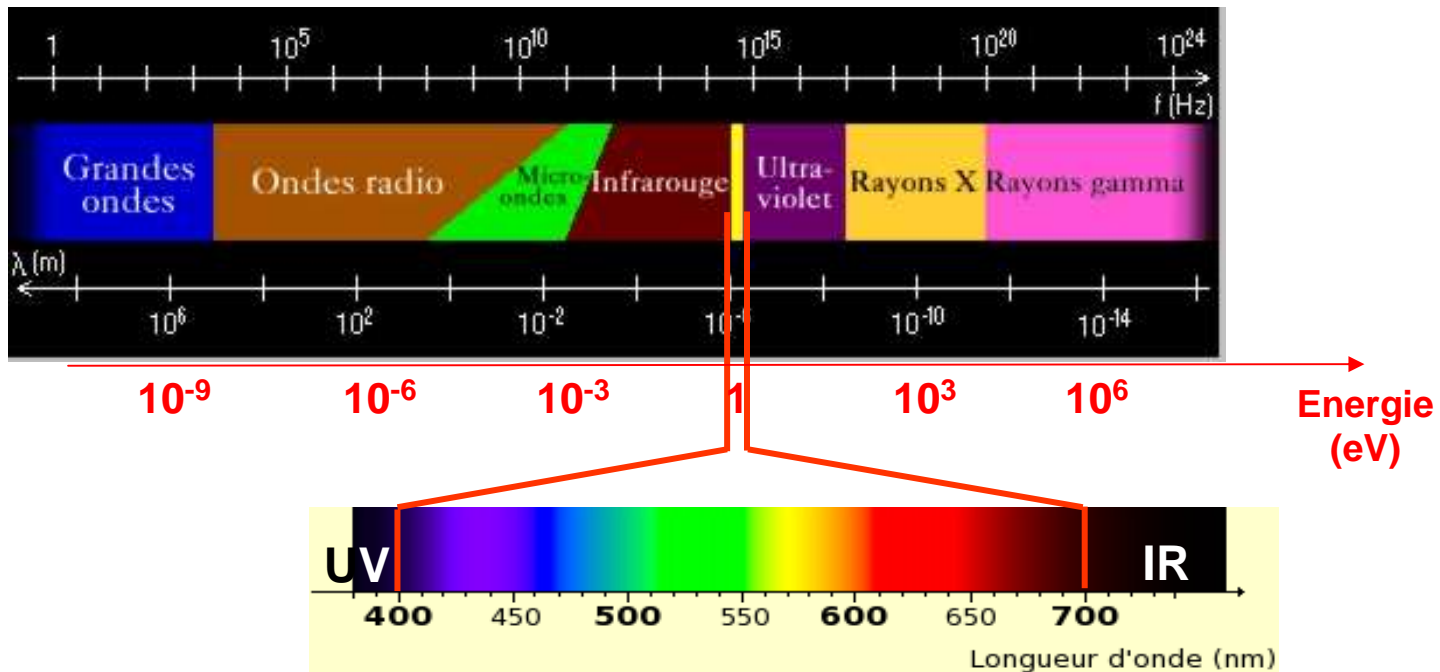
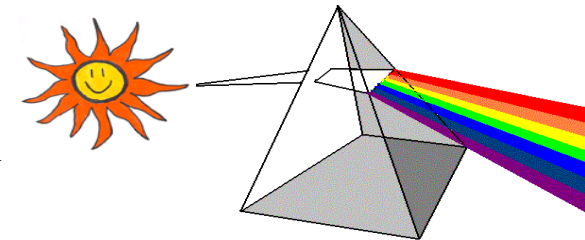
Tumeur **hyper**vascularisée



# Le contraste en optique

# Le signal physique : la lumière polychromatique (naturelle)

Lumière visible | onde électromagnétique (OEM)  
 propagation avec  $C = 3 \cdot 10^8 \text{ m.s}^{-1}$   
 longueurs d'ondes entre 400 et 700 nm



51

(loi de Duane & Hunt)

$$E = h\nu = \frac{1240}{\lambda}$$

{	$\lambda = 400 \text{ nm}$	→	$E = 3,1 \text{ eV}$
}	$\lambda = 700 \text{ nm}$	→	$E = 1,8 \text{ eV}$

# Le signal physique : la lumière **monochromatique**

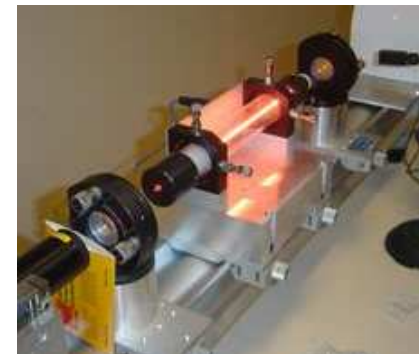
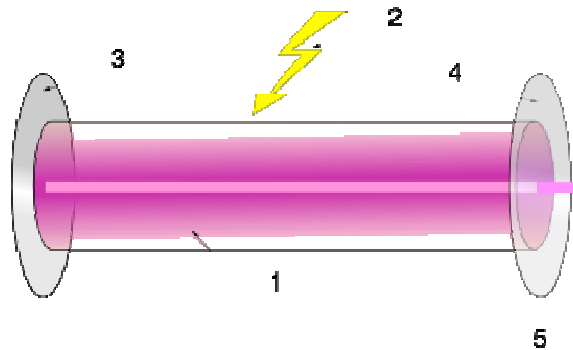
Ex : **LASER** : **L**ight **A**mplification by **S**imulated **E**mission of **R**adiations

(amplification de la lumière par émission stimulée de radiations)

C'est une source lumineuse cohérente spatialement (phase identique)  
et temporellement (une seule longueur d'onde)

- 1917 Description du principe par A. Einstein
- 1953 Mise au point du premier MASER (Microwave...)
- 1960 Mise au point du premier LASER
- ... ..
- 1974 Première application pratique : les lecteurs de codes barre
- 1978 Lecture des disques lasers
- 1982 Généralisation au disque compact

- 1) milieu excitable
- 2) énergie de pompage
- 3) miroir totalement réfléchissant
- 4) miroir semi-réfléchissant
- 5) faisceau laser

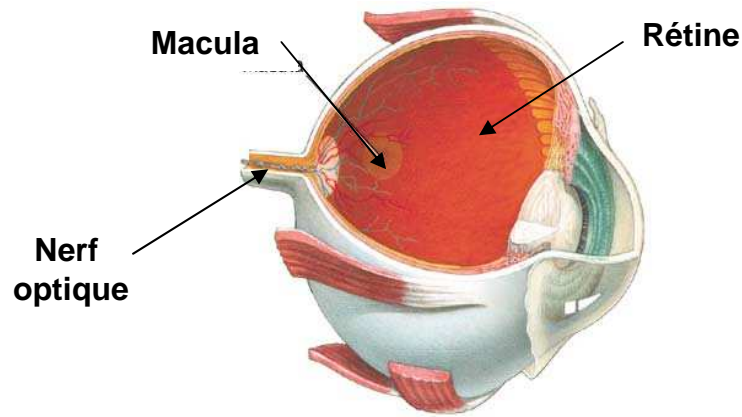


# Dispositifs permettant la détection d'un signal lumineux (I)

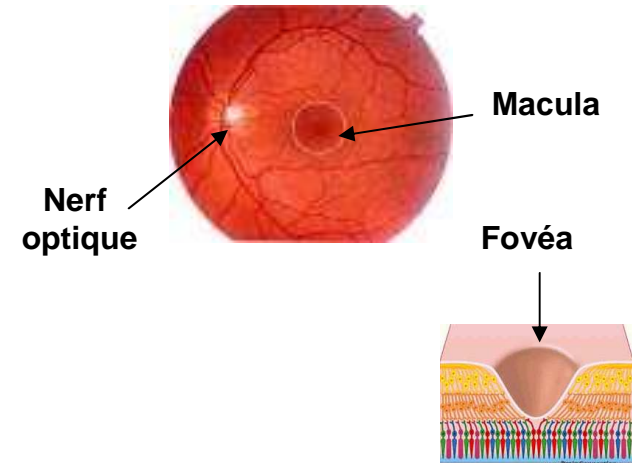


## L'oeil (I)

Macula : - rétine centrale  
- acuité visuelle maximale  
- fovéa au centre de la macula

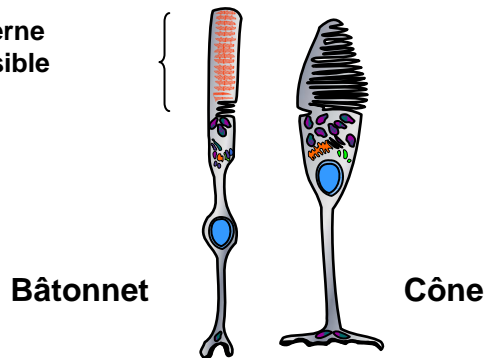


## Fond de l'oeil



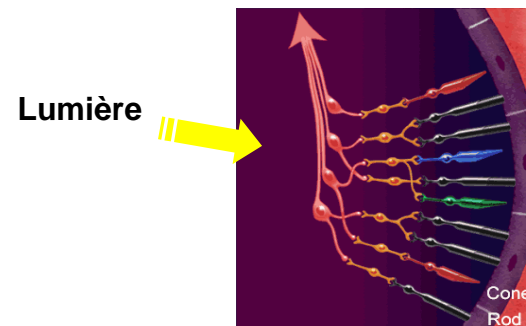
≈ 100 millions de récepteurs : bâtonnets (95%)  
cônes (5%)

Partie externe photosensible



Extrémité synaptique

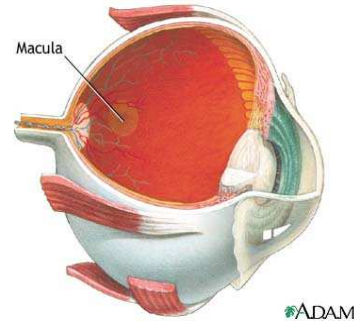
Signal détecté



Particularité : la rétine humaine est un système de détection « inversé » par rapport à la direction de provenance de la lumière



### L'oeil (II)



l'œil humain est plus sensible à la **luminance** qu'à la **chrominance**

La **luminance** est le flux lumineux émis ou réfléchi par unité de surface dans une direction donnée. Cette notion s'applique aux sources et à tous les objets qui renvoient une partie de la lumière qu'ils ont reçue.

~ variation de l'intensité lumineuse

La **chrominance** est l'information sur la couleur

~ variation des couleurs

# Dispositifs permettant la détection d'un signal lumineux (III)

## Le film photographique

Photographie : « écrire/peindre avec la lumière »

**Rôle du film** : convertir les rayons lumineux qui le frappent en une image fixe, intelligible à l'œil humain. L'image est figée grâce au marquage indélébile de cristaux argentiques.

Support avec cristaux d'halogénures d'argent (argent + 1 halogène : brome, chlore ou iode) sensible à la lumière

phase d'exposition

Transformation chimique de l'halogénure d'argent

→ **image latente**

phase de développement

Quand le film est plongé dans révélateur, des particules d'argent métallique se forment alors dans les zones exposées à la lumière

→ **négatif**

phase de tirage

On répète les deux opérations d'exposition et de développement afin d'obtenir un négatif du négatif, i.e. l'image positive.

→ **photographie**



### Les capteurs numériques

Le **CCD** (Charged Coupled Device)  
Le **CMOS** (Complementary Metal Oxide Semiconductor)  
Le super CCD (Fujifilm)

CCD : le plus répandu / le plus sensible à la lumière  
CMOS : le moins cher à fabriquer, le moins gourmand en énergie

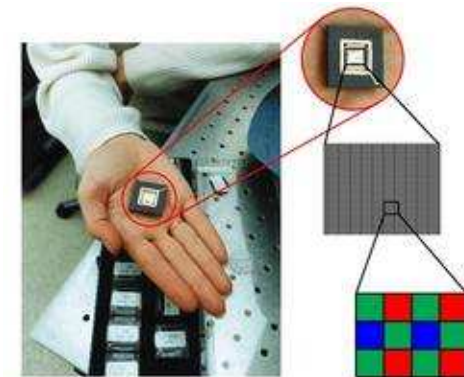
La surface du capteur est constituée de photosites.  
1 photosite donnera 1 point = 1 pixel.

Si rayon lumineux  $\Rightarrow$  une impulsion électrique d'intensité proportionnelle à la quantité de lumière reçue.

L'impulsion est par la suite codée en binaire sur un octet et comme les photosites n'ont enregistré que la luminance :

$\Leftrightarrow$  image... **monochrome** !

Pour obtenir des valeurs de **chrominance** (rouge, violet, marron...) chaque photosite est recouvert d'un filtre coloré, ne laissant passer que les rayons d'une certaine longueur d'onde (RVB en synthèse additive) et pour récupérer les mesures manquantes, on va réaliser une interpolation de couleurs. C'est-à-dire qu'on calcule les informations complémentaires en se basant sur la couleur mesurée par les pixels adjacents.



## Mesure de phénomènes lumineux : radiométrie et photométrie

---

### **Radiométrie**

**Mesure des paramètres physiques,**  
i.e. les caractéristiques énergétiques d'une source.

C'est de la **physique** avec un système d'unités bien défini.

Les unités et les mesures sont valables pour tout rayonnement , visible ou non.

Ces mesures sont **indépendantes de tout récepteur biologique.**

### **Photométrie**

**Mesure de la perception visuelle**  
i.e. la sensibilité de la rétine à l'énergie reçue d'une source.

C'est de la **psycho-physique** avec un besoin d'un système d'unités spécifique.

Ces unités ne sont valables que pour la lumière visible.

Elles sont **étroitement liées** au récepteur, ici la **rétine.**

## Radiométrie et photométrie : les unités

	Grandeurs radiométriques			Grandeurs photométriques		
	Définition	Symbole	Unité	Définition	Symb.	Unité
Flux	<b>Flux énergétique</b>	$\Phi$	w	<b>Flux lumineux</b>	F	lumen (lm)
Éclairement	<b>Éclairement énergétique</b>	$E_e = \frac{d\Phi}{dS}$	w.m <sup>-2</sup>	<b>Éclairement lumineux</b>	E	lm.m <sup>-2</sup> ou lux
Intensité Source ponctuelle	<b>Intensité énergétique</b>	$I_e = \frac{d\Phi}{d\Omega}$	w.sr <sup>-1</sup>	<b>Intensité lumineuse</b>	I	candéla (cd)
Brillance Source étendue	<b>Brillance énergétique</b>	$B_e = \frac{dI_e}{d\sigma \cos \alpha}$	w.m <sup>-2</sup> .sr <sup>-1</sup>	<b>Luminance</b>	L	cd.m <sup>-2</sup>
Couleur	<b>Longueur d'onde</b>	$\lambda$	nm	<b>Teinte et saturation</b>		HLS

## Alors le contraste en optique ?

---

Le contraste optique peut être :

- simplement lié à la **réflexion** ou à l'**absorption** d'une lumière extérieure incidente sur l'objet d'étude comme c'est le cas pour la vision
- avoir une origine plus complexe liée à l'utilisation de techniques de **fluorescence**
- utiliser la technique de contraste de phase ou du fond noir (ç)

Le contraste optique (absorption, diffusion, fluorescence...) porte une information importante pour l'étude des mécanismes biologiques ou le diagnostic médical.

😊 innocuité totale du rayonnement (à l'échelle de temps de l'étude)

😞 l'imagerie optique des tissus biologiques se heurte au problème de la forte diffusion de la lumière par ces tissus.

# Contraste lié à la différence d'absorption/réflexion

(I)

Couleur d'un objet = mélange de longueur d'onde

celle de la source lumineuse (syst. **additif**)

celle issue de la réflexion de la source lumineuse (syst. **soustractif**)

- ex de la TV où chaque point est formé d'une triade de luminophores émetteurs de photons)

## Le système Rouge-Vert-Bleu

décrit toute couleur comme une combinaison des trois couleurs primaires R, V et B.

Ainsi, toute lumière de brillance totale  $B$  peut être définie par:  $B = B_R + B_V + B_B$

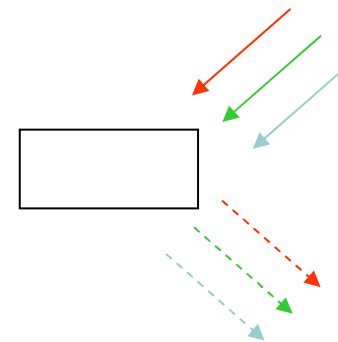
$B_R$  = brillance de rouge

$B_V$  = brillance de vert

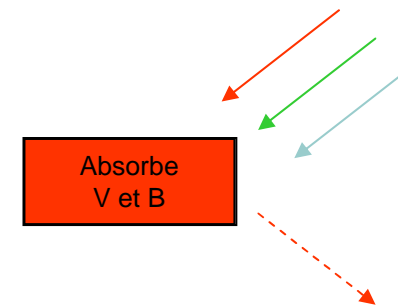
$B_B$  = brillance de bleu



- réflexion d'une source lumineuse sur un mélange de pigments dont les pouvoirs d'absorption s'ajoutent



Un objet qui réfléchit toutes les  $\lambda$  est vu blanc.



Un objet qui absorbe certaines  $\lambda$ , est vu de la couleur des  $\lambda$  réfléchies.

Les couleurs ne sont pas une propriété de la matière, comme l'est par exemple son état (liquide, solide ou gazeux).

La vision des couleurs nous vient en fait de l'interprétation que fait notre système visuel (rétine puis cerveau), des longueurs d'ondes des rayons lumineux émises par les objets et éléments qui nous entourent.

Cette vision est liée à **3 facteurs** :

### **1- Nature de l'objet :**

qui va renvoyer ou non certaines radiations

### **2- Nature de la lumière qui éclaire cet objet :**

Un objet qui paraît de couleur jaune à la lumière du jour.

Éclairé par une lumière rouge, ce corps paraîtra rouge clair.

Éclairé par une lumière verte, il paraîtra brun.

### **3- Les propriétés de l'œil**

Le sujet normal est considéré comme trichromatique (œil sensible au 3 couleurs RVB)

Il existe par ordre de gravité croissante, les anomalies suivantes :

**Le trichromatisme anormal** : la courbe spectrale de son œil s'écarte de la normale ( → rouge)

**Le dichromatisme** : le sujet ne voit plus que deux des couleurs fondamentales.

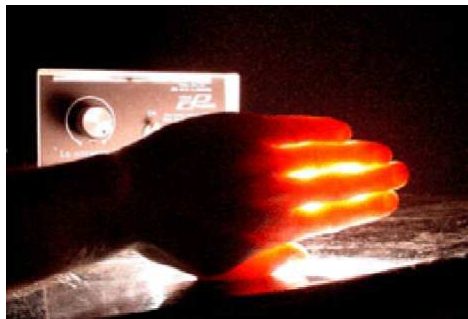
**L'achromatisme** : le sujet ne perçoit le monde qu'en noir, gris et blanc.

**Médical** : le but est de voir à travers les tissus biologiques

**1<sup>er</sup> problème** : forte absorption de la lumière par les tissus

Pour faire de l'imagerie d'organes, il faut pénétrer en profondeur les tissus, donc choisir une longueur d'onde peu absorbée.

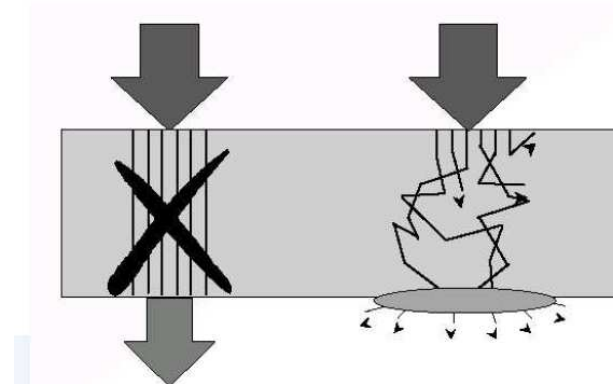
C'est le cas des longueurs d'onde situées dans le rouge et le proche



→ Seule la lumière proche du rouge (600 nm) « passe », le reste est absorbé

**2<sup>nd</sup> problème** : diffusion de la lumière

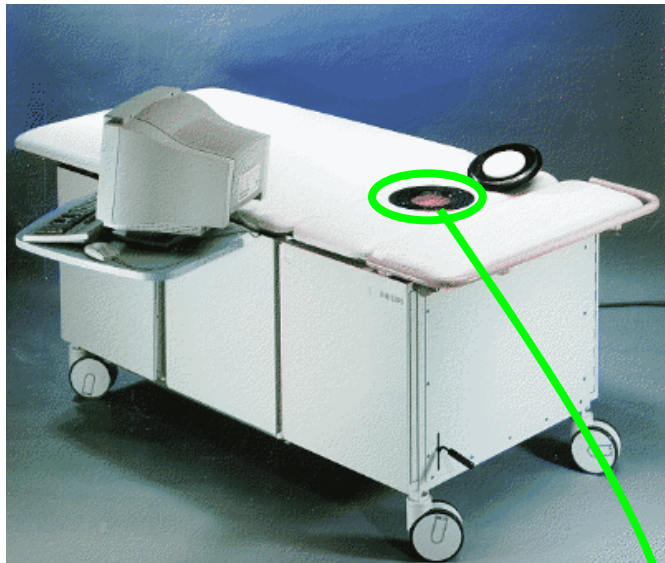
Discrimination des photons (bons/mauvais)  
selon leur temps de vol



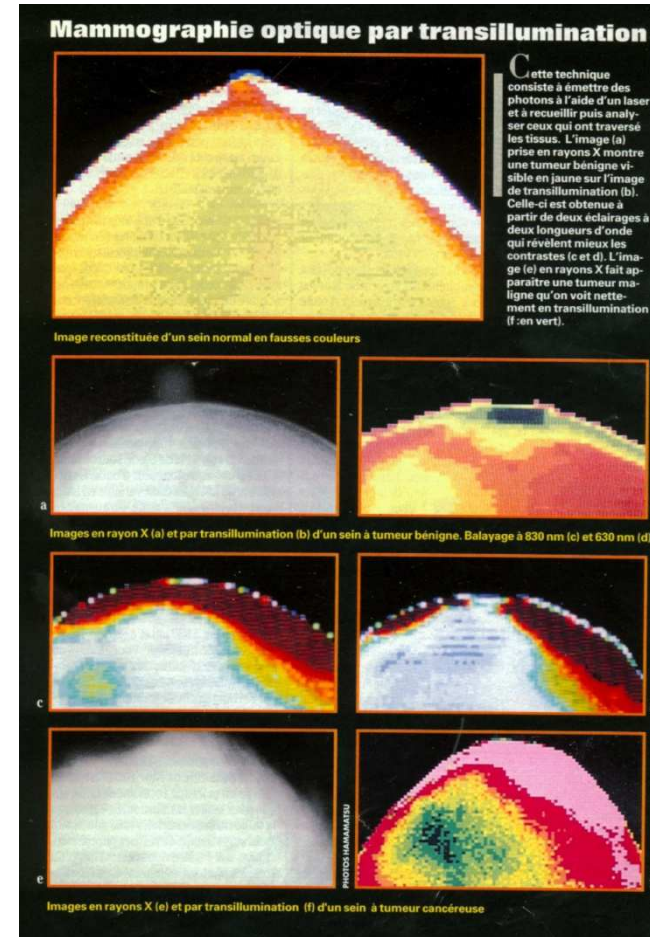
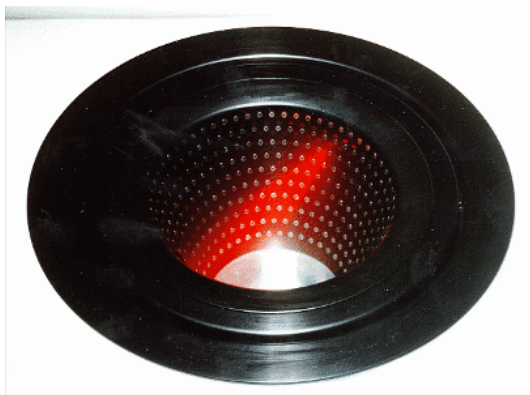
# Contraste lié à la différence d'absorption/réflexion

(IV)

## Imagerie photonique par transillumination



Système de mammographie développé par la Société Philips



Cette technique consiste à émettre des photons à l'aide d'un laser et à recueillir puis analyser ceux qui ont traversé les tissus. L'image (a) prise en rayons X montre une tumeur bénigne visible sur l'image de transillumination (b). Celle-ci est obtenue à partir de deux éclairages à deux longueurs d'onde qui révèlent mieux les contrastes (c et d). L'image (e) en rayons X fait apparaître une tumeur maligne qu'on voit nettement en transillumination (f). (document Société Hamamatsu Photonics).

**Définition** : on appelle **fluorescence** le processus d'émission de lumière par des molécules dénommées fluorophores qui ont la propriété d'émettre une radiation lumineuse lorsqu'elles sont photo-activées.

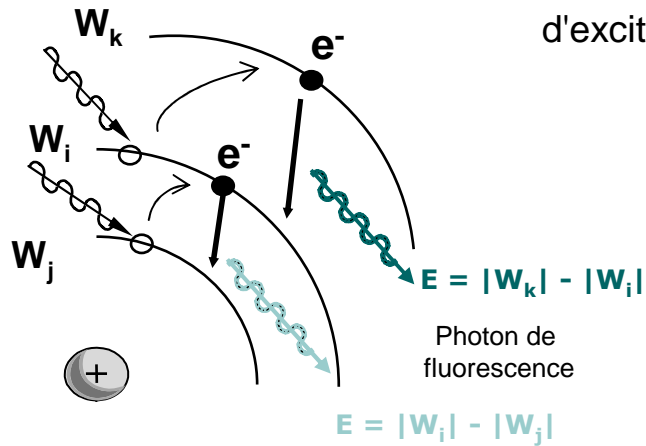
La fluorescence apparaît aujourd'hui comme un des processus de contraste optique parmi les plus efficaces.

Elle est très largement utilisée dans le domaine de la microscopie du vivant et plus particulièrement dans la détection d'entités moléculaires.

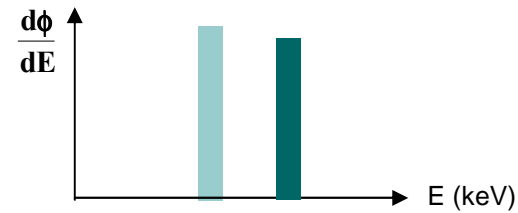
# Contraste lié à l'utilisation de la fluorescence

(II)

## La Fluorescence ?



La **fluorescence** est une émission lumineuse provoquée par le retour à l'équilibre d'un atome après diverses formes d'excitation autres que la chaleur.



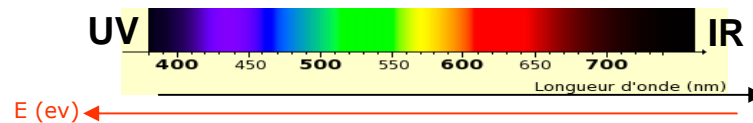
Fluorine (CaF) éclairée par ....



lumière blanche

UV

**Attention** : pour obtenir de la fluorescence, il faut éclairer le matériau avec une énergie plus élevée que celle qu'il va réémettre:



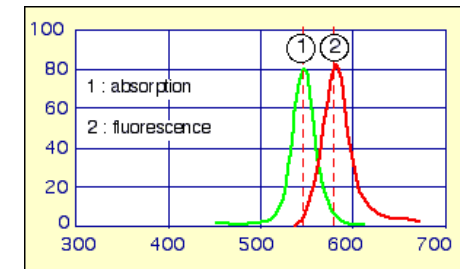
# Contraste lié à l'utilisation de la fluorescence

(III)

## Origine de la fluorescence que l'on cherche à observer :

- la fluorescence naturelle d'une substance située dans la cellule,  
⇒ exemple : **la chlorophylle** fluoresce naturellement en **rouge**.
- l'utilisation d'une substance fluorescente se fixant spécifiquement sur une structure.  
⇒ exemple : **le DAPI (Di Aminido Phenyl Indo)** se fixe spécifiquement sur l'ADN et fluoresce en **bleu**.
- l'utilisation d'une substance non spécifique fluorescente naturellement :  
⇒ exemple : **la rhodamine** qui fluoresce naturellement en **rouge**.  
On la fixe sur un anticorps spécifique d'un antigène.  
La fluorescence observée permet de localiser l'antigène.

Un fluorophore est caractérisé par **deux spectres** : son spectre d'absorption de la lumière incidente et son spectre d'émission de fluorescence.



Spectres de la rhodamine

## Utilisation d'un microscope à fluorescence

C'est un microscope photonique équipé de deux lampes :

- une lampe ordinaire pour une observation classique par transmission
- une autre pour l'utilisation de la fluorescence.

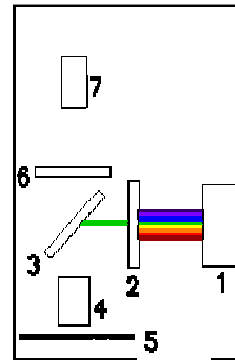
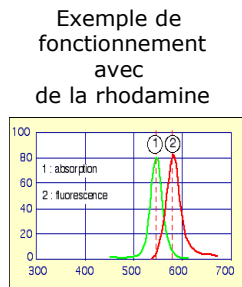
**66** Des filtres d'excitation permettent de choisir la longueur d'onde incidente et des filtres d'arrêt permettent de sélectionner les radiations émises par l'objet excité.

# Contraste lié à l'utilisation de la fluorescence

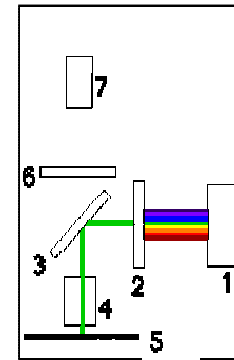
(IV)

Optique simplifiée du microscope à fluorescence :

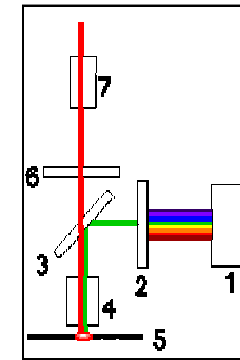
- 1-lampe à arc
- 2-filtre d'excitation
- 3-miroir dichroïque
- 4-objectif
- 5-préparation
- 6-filtre d'émission
- 7-oculaire



Le filtre d'excitation sélectionne les radiations spécifiques du fluorochrome utilisé...

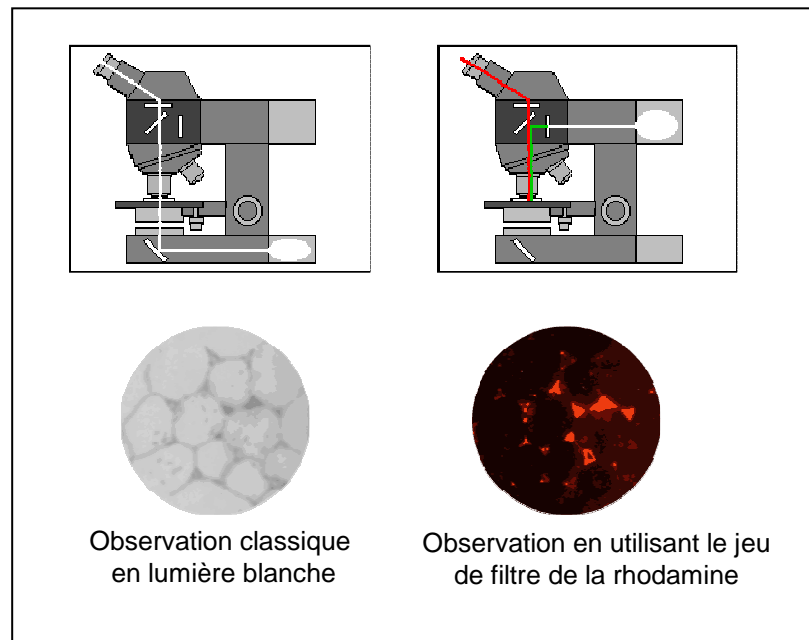


...qui sont réfléchies par le miroir et éclaire l'échantillon



...celui-ci émet les radiations de fluorescence qui seules atteignent l'oculaire.

**Application :** recherche d'une enzyme, la pectine-méthyl-estérase (PME) sur de cellules de l'hypocotyle de germe de soja



Observation classique en lumière blanche

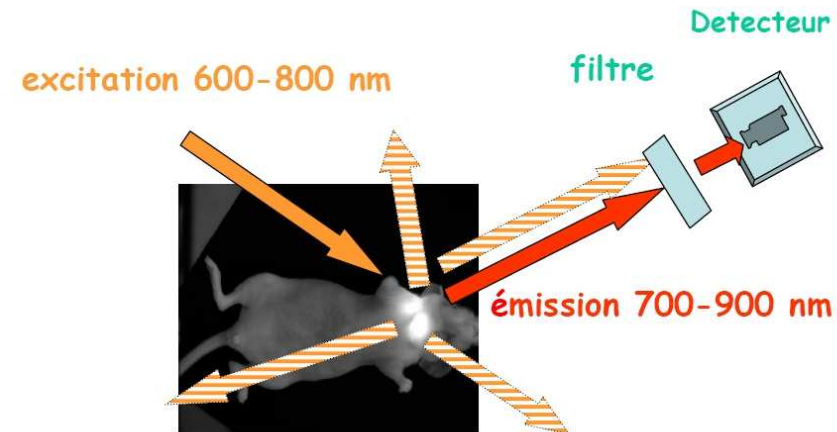
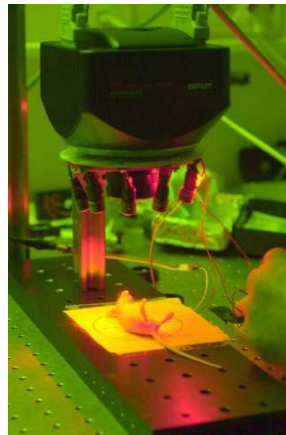
Observation en utilisant le jeu de filtre de la rhodamine

## Contraste lié à l'utilisation de la fluorescence

(V)

### Autre application : Imagerie de fluorescence directe du petit animal

L'animal est éclairé dans la longueur d'onde de l'absorption maximale. Les atomes sont excités et reviennent ensuite spontanément à leurs niveaux d'énergies fondamentaux avec émission d'un ou plusieurs photons.



On arrive à discriminer les différents tissus (tumoraux et sains) car ils émettent une fluorescence spécifique

De nos jours, il existe des appareils d'imagerie optique 3D.



# **A l'échelle de l'infiniment petit**

# 1- Utilisation de la technique par contraste de phase

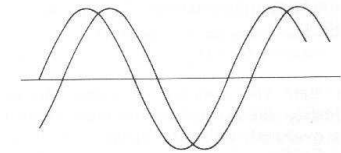
(I)

## Principe

Les objets microscopiques biologiques (cellules, coupes minces de tissus) sont très souvent peu colorés (pas d'absorption différentielle des différentes radiations de la lumière polychromatique) et très minces (l'intensité du flux lumineux incident traversant l'objet n'est pas modifié de façon significative)

→ images non contrastées

Ces objets présentent pourtant, en leur sein, des variations d'indices de réfraction qui entraînent un "déphasage" des rayons lumineux transmis.



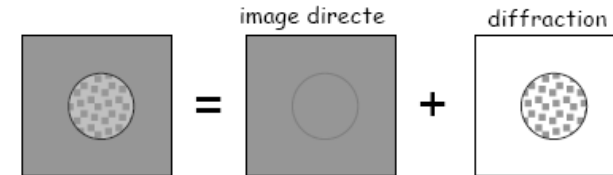
Le microscope à contraste de phase **transforme en niveaux de gris les différences d'indices de réfraction** entre deux structures. Il visualise ainsi des structures transparentes quand leur indice de réfraction diffère de celui de leur voisinage.

# 1- Utilisation de la technique par contraste de phase

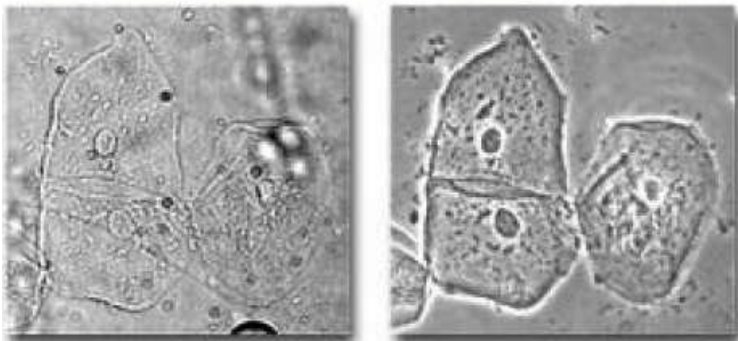
(II)

L'image d'un objet microscopique transparent sera égale à :

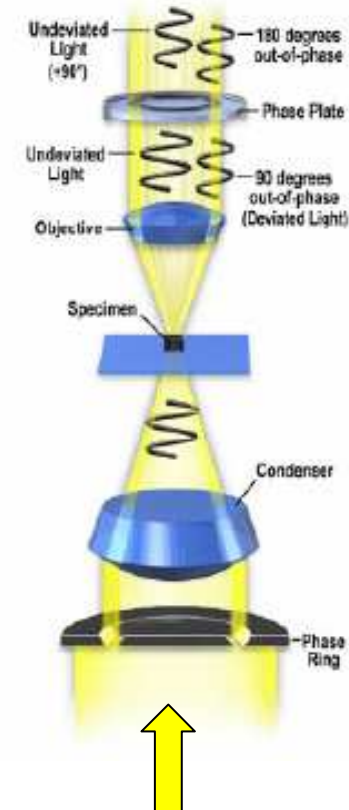
- 1 image directe issue des parties uniformes
- 1 image de diffraction due aux irrégularités



illumination ordinaire      contraste de phase



Phase Contrast Microscopy

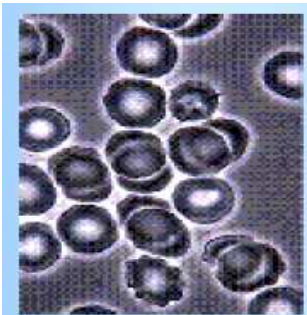


## 2- Utilisation de la technique du champ noir

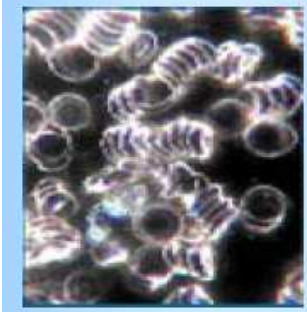
Le mode d'observation en **fond clair** est le plus couramment utilisé pour l'observation des formes et des couleurs naturelles.

En **fond noir**, l'éclairage par lumière rasante met en évidence les porosités et, d'une manière générale, les défauts invisibles en fond clair apparaissent très clairement.

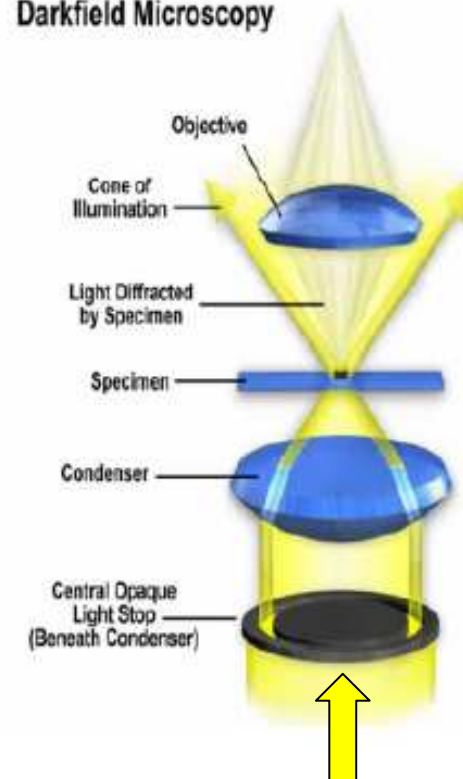
Fond  
clair



Fond  
noir

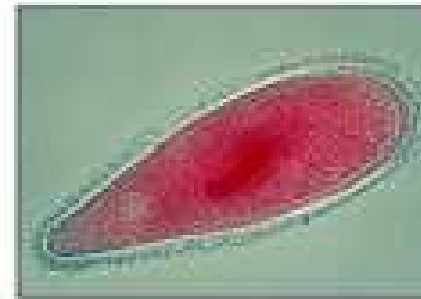
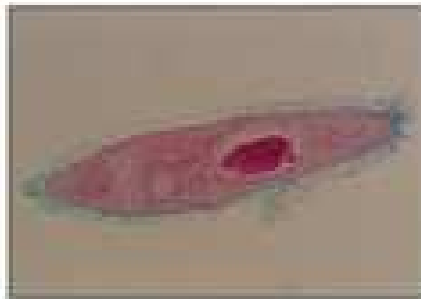
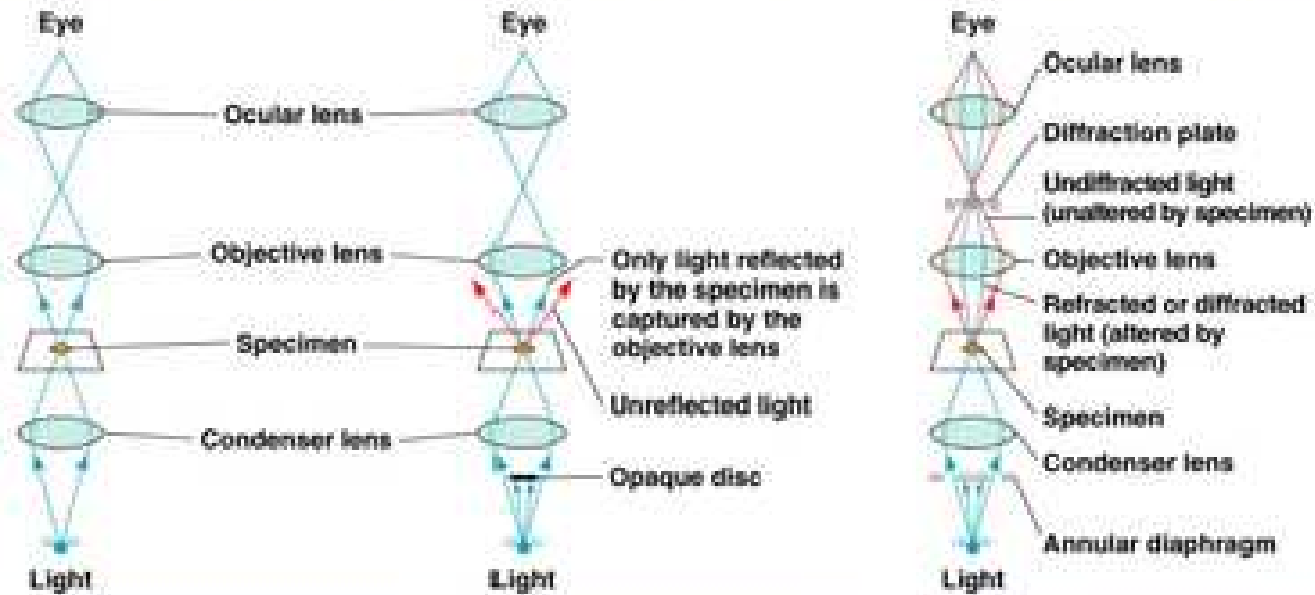


Darkfield Microscopy



# Comparaison de ces 3 différentes techniques

## Fond clair - Fond noir - Contraste de phase





Documents utilisés :

J. Darcourt - Cours de la vision – P2

Arnauld Sergé – Microscopie en lumière blanche et en fluorescence

**P. Barthez** - <http://www2.vet-lyon.fr/ens/imagerie/D1/11.Echo1/E1-notes.html>

