



Thème 07 - Correction du fond et masque de flou

Le fond peut ne pas être homogène pour plusieurs raisons : l'offset ou le gain du détecteur élevés, la diffusion de la lumière, l'éclairage du fond, etc. Le fond peut changer au cours du temps.

Exercice 7.1 - Soustraire la valeur moyenne de fond

a) Ouvrir l'image *nuclei-rhod.tif*. Appliquer la LUT Hilo. Utilisez l'outil de B & C pour distinguer clairement le fond. Dessinez une ligne de sélection sur le fond et créer un profil d'intensité à l'aide de **Analyze>Plot Profile**. Faire une sélection sur la zone d'arrière-plan et mesurer l'intensité moyenne.

Soustraire cette intensité à toute l'image avec **Process>Math>Subtract**. Créer un profil d'intensité de nouveau.

b) Ouvrir *actine-stack.tif*. Faire défiler les images en appuyant sur le bouton *play* du stack. Faites une petite sélection rectangulaire sur l'image et *Plot Z-axis Profile* dans la bouton *STK* de la boîte à outils *Stack*.

Que pouvez-vous dire sur du fond?

Écrire une macro qui soustrait la moyenne d'une sélection rectangulaire pour chaque image de la pile. Conseils:

- Pour boucler sur les images du stack:

```
for (i = 1; i <= nSlices; i++) {
```

```
...
```

```
}
```

- Vous pouvez choisir l'image active avec `setSlice(i)`.

- Pour obtenir la valeur moyenne de la sélection active, vous pouvez utiliser la commande `getStatistics` (voir l'aide macro-documentation pour les détails).

- Vous pouvez utiliser l'enregistreur de macros pour savoir comment soustraire une valeur à l'image.

- Vous devez désactiver la sélection avant de calculer la soustraction, sinon elle ne s'appliquera qu'à la sélection. Vous avez besoin de restaurer la sélection pour l'itération suivante.

Exercice 7.2 - fond hétérogène

a) Ouvrir *root2.tif*. Tracez une ligne verticale sur le fond créer un profil d'intensité. Comme vous le voyez cette fois la ligne de base du fond n'est pas constante. L'image est plus sombre dans la zone supérieure et plus claire dans la zone inférieure. Mesurer la moyenne et la soustraire de l'image.

Créer un profil d'intensité de nouveau. Est ce que le gradient toujours là?

b) Une façon de se débarrasser du défaut d'homogénéité est d'utiliser une correction de pseudo Champ Clair. Dupliquer l'image et créer une estimation du fond en appliquant un filtre gaussien flou à l'image dupliquée. Choisissez un rayon juste assez grand pour que le signal ne soit plus visible dans l'image. Mesurer la moyenne sur l'image de fond. Utilisez le calculateur d'image pour diviser

l'image d'origine par le fond, en créant une image résultat en 32 bits. Multiplier ce résultat par la valeur moyenne de l'image de fond.

Créer un profil d'intensité de nouveau. Est ce que le gradient toujours là?

c) Appliquer **Process>Subtract Background** et de créer un profil d'intensité

Quel rayon utiliser pour obtenir un bon résultat?

Exercice 7.3 - masque flou

En soustrayant une version légèrement floue de l'image, nous pouvons augmenter la netteté apparente.

a) Ouvrir *hst2.tif*. Zoomer 2 ou 3 fois. L'image apparaît un peu floue.

Dupliquer l'image et appliquer un flou gaussien avec sigma 0,8. Multiplier le résultat par le facteur 0,6 et soustraire le résultat de l'image originale.

b) Rétablir l'image et essayez **Process>Filters>Unsharp Mask**