

EVALUATION DE LA QUALITE DES ŒUFS PAR DES METHODES D'IMAGERIE NON INVASIVES ET NON DESTRUCTIVES

Pereira Macedo Jules Antoine^{1,2}, Adriaensen Hans^{1,2}, Lecompte François^{1,2}, Elleboudt Frédéric^{1,2}, Réhault-Godbert Sophie³, Guyot Nicolas³

¹ INRAE, Université de Tours, CHU de Tours, Plate-forme PIXANIM, 37380 NOUZILLY,

² INRAE, CNRS, Université de Tours, IFCE, UMR PRC, 37380 NOUZILLY,

³ INRAE, Université de Tours, UMR BOA, 37380 NOUZILLY

hans.adriaensen@inrae.fr

RÉSUMÉ

La maîtrise de la qualité de l'œuf est essentielle pour la filière des œufs de consommation. Certaines altérations, liées à des facteurs externes comme l'âge des poules ou les conditions de conservation par exemple, peuvent en effet avoir des impacts négatifs d'un point de vue sanitaire et économique, notamment. Certains indicateurs de qualité interne de l'œuf sont visibles et sont pour la plupart mesurés après le cassage de l'œuf. D'autres, comme le volume de la chambre à air ou le déplacement du jaune dans l'œuf au cours du stockage sont moins facilement mesurables. L'objectif de ce travail est d'évaluer l'utilisation d'outils d'imagerie tomographique (l'imagerie par résonance magnétique ou IRM pour les tissus mous, la tomodensitométrie ou CT-scan pour les tissus durs) comme méthodes non invasives et non destructives pour caractériser la qualité des œufs. Des œufs de consommation de poules Lohmann Tradition ont été collectés le jour de la ponte, stockés pendant 7, 14 et 28 jours à deux températures (4 et 20°C), analysés par IRM (détermination des volumes du blanc et du jaune, cartographie des temps de relaxation T₂) et CT-scan (volumétrie de la chambre à air), puis caractérisés avec les outils de mesures standards de la qualité de l'œuf, après cassage. Les résultats obtenus révèlent que l'imagerie peut être utilisée comme outil de mesure non invasive de la qualité interne de l'œuf tout en apportant des nouvelles possibilités de mesure de critères difficilement appréciables une fois l'œuf cassé. Les résultats de cette étude pourront permettre à terme d'envisager la création d'un nouveau référentiel de la qualité de l'œuf.

ABSTRACT

Assessment of egg quality using non-invasive and non-destructive imaging methods

The control of egg quality is essential for the egg industry. Indeed, any alterations related to external factors, such as hen age or egg storage conditions, may have serious consequences on consumer's health and/or on the economy of the egg industry. Some internal egg quality indicators are visible and are mostly measured after breaking the egg, while others (air chamber volume, yolk movement during egg storage) are less easily measurable. The objective of this work is to assess the use of tomographic imaging tools (magnetic resonance imaging or MRI for soft tissues, computed tomography or CT-scan for hard tissues) as non-invasive and non-destructive methods for the characterization of egg quality. Unfertilized eggs from Lohmann Tradition hens were collected on the day of lay, stored for 7, 14 and 28 days at two temperatures (4 and 20°C), analyzed by MRI (determination of yolk and albumen volumes, mapping of T₂ relaxation times) and CT-scan (air chamber volumetry), then characterized with standard egg quality measurement tools, after egg breaking. The results of this study show that imaging can be used as a non-invasive tool for measuring internal egg quality while providing new possibilities for measuring criteria that are difficult to assess once the egg has been broken. In the future, the results of this study may allow the creation of a new reference for egg quality.

INTRODUCTION

La maîtrise de la qualité des œufs est très importante pour la filière « œufs ». Elle est sous la dépendance de facteurs liés i) aux animaux et à leur environnement (ex : souche, âge, nutrition, stress, maladie, température du milieu d'élevage...), ou ii) aux conditions de conservation des œufs (en particulier, la durée et température de stockage) (Roberts, 2004). Les premiers types de facteurs peuvent avoir des effets sur la qualité de la coquille et sur les compartiments internes, tandis que les seconds affectent uniquement la qualité interne. Des défauts de qualité des œufs peuvent avoir des conséquences très négatives, notamment au niveau sanitaire et économique.

Certains indicateurs de qualité interne des œufs s'apprécient après le cassage de l'œuf grâce à la mesure de certains paramètres, comme la hauteur du blanc, l'indice du jaune, le poids des compartiments internes (blanc, jaune), etc. D'autres comme le volume de la chambre à air ou la position ou le déplacement du jaune dans l'œuf au cours du stockage sont plus difficiles à évaluer. La qualité interne peut toutefois s'apprécier de manière non-invasive et non destructive en utilisant l'Imagerie par Résonance Magnétique (IRM), (figure 1, A) et la tomodensitométrie (CT-scan) (figure 1, E) qui permettent de réaliser des mesures qualitatives (observation de la coquille, du blanc et du jaune d'œuf *in ovo*) et quantitatives (mesure de volumes et des temps de relaxation des compartiments internes). En IRM, chaque tissu possède un temps de relaxation intrinsèque, ce qui conduit ainsi à des différences de contraste entre le blanc et le jaune. Le temps de relaxation permet de quantifier des phases cristallines/liquides dans des aliments, de doser la quantité de matière grasse ou/et d'eau, de décrire l'organisation de l'eau au sein d'aliments et de suivre les changements de structure des macromolécules. La mesure des temps de relaxation des compartiments internes peut donc être un indicateur potentiel de la qualité interne et de la fraîcheur de l'œuf.

L'objectif de cette étude est d'évaluer l'utilisation de l'IRM et la tomodensitométrie comme outils non destructifs et non invasifs pour la caractérisation de la qualité interne des œufs. Nous nous sommes focalisés en particulier sur les mesures de volumétrie et sur les mesures des temps de relaxation transversaux afin de voir l'évolution des macromolécules dans le blanc et le jaune, pour des œufs conservés dans différentes conditions de temps et de température. Cette étude s'inscrit dans le cadre du projet ANR EQLIPSE (Enhancing the Quality and the Level of Internal Protections of Shell Eggs, 2020-2023) dont l'un des objectifs porte sur les altérations induites par le stockage.

1. MATERIELS ET METHODES

1.1. Production et conservation des œufs

Les œufs de l'étude proviennent de poules Lohmann Tradition de 33 semaines d'âge (pic de ponte), élevées au sol au Pôle d'Expérimentation Avicole de Tours (PEAT, INRAE, Nouzilly, France). Quatre lots de 30 œufs (120 œufs au total) ont été stockés pendant 0, 7, 14 ou 28 jours. A chaque temps de conservation (J_7 , J_{14} et J_{28}), 15 œufs ont été stockés à 4°C (environ 75-85% d'humidité relative ou HR) et 15 autres à 20°C (50% HR) dans des enceintes climatiques (Type ICH260, Memmert, Schwabach, Allemagne).

1.2. Imagerie des œufs par IRM et CT-scan

1.2.1. Equipements

L'imagerie des œufs a été faite à l'aide d'un appareil IRM 3 Teslas (T) (Siemens, Magnetom Verio, Erlangen, Allemagne) équipé d'un gradient de champ magnétique de 45 mT/m pour l'observation du blanc et du jaune, et à l'aide d'un tomodensitomètre ou CT (Computed Tomography)-scan (Siemens, définition AS 128, Germany) pour l'observation de la coquille et les mesures de volume de la chambre à air.

1.2.1. Volumétrie

Huit plateaux de 15 œufs ont été imagés en IRM afin de déterminer les volumes du blanc et du jaune de l'œuf. Ces mêmes plateaux ont été imagés au CT-scan afin de caractériser le volume de la chambre à air située sous la coquille, généralement au niveau du gros bout de l'œuf. Pour ce faire, le traitement des images est réalisé avec le logiciel ITK-snap (Version 3.8.0) (Paul A. *et al.*, 2006), pour permettre la segmentation du blanc, du jaune et de la chambre à air.

1.2.2. Détermination des temps de relaxation T_2

Soixante œufs ont été imagés, répartis en 4 plateaux de 15 œufs. Les œufs sont issus de poules âgées de 33 semaines correspondant au pic de ponte. Trente œufs ont été imagés le jour de la ponte (J_0) et 30 œufs ont été imagés après 28 jours de conservations (J_{28}) à 4°C et 20°C.

La relaxation T_2 dans le blanc et le jaune suit une loi de décroissance bi-exponentielle, avec deux composantes T_2 (longue et courte) (Mitsouras *et al.*, 2016), selon l'équation :

$$\text{Intensité} = M_{0 \text{ long}} \times \exp(-TE/T_{2 \text{ long}}) + M_{0 \text{ court}} \times \exp(-TE/T_{2 \text{ court}}) + \text{constante}.$$

L'estimation des temps de relaxation a été réalisée grâce à un script développé *in situ* à l'aide d'algorithmes exécutés avec le logiciel Matlab (R2012b), permettant d'isoler chaque œuf du plateau, puis d'estimer les temps de relaxation long $T_{2 \text{ long}}$, $T_{2 \text{ court}}$ et les pourcentages relatifs des protons de l'eau tissulaires $M_{0 \text{ long}}$ et $M_{0 \text{ court}}$ correspondant aux temps de relaxation T_2 respectivement long et court. Pour chaque plateau, 19 coupes transversales (voir figure 1A, en rouge) successives (et couvrant la quasi-totalité de l'œuf) ont été traitées pour chaque œuf. Pour chaque coupe, 32 images (ayant chacune un Temps d'Echos (TE) différents) ont été combiné. Le

TE s'échelonne de 9,4 ms à 300,8 ms au pas de 9,4 ms. Le programme crée un masque binaire afin de séparer le blanc et le jaune. La nouvelle image obtenue conserve uniquement les pixels de l'image correspondant au blanc ou au jaune. Puis une fonction 'dictionnaire' a été créée afin d'ajuster chaque pixel du masque, par la fonction de décroissance bi-exponentielle décrite ci-dessus. Le principe de cette fonction est d'estimer chaque pixel à l'aide d'un dictionnaire de valeurs créées avec des intervalles de valeurs minimum et maximum pour $T_{2\text{ court}}$, $T_{2\text{ long}}$, $M_0\text{ court}$ et $M_0\text{ long}$. Ces valeurs sont ensuite transcrites dans la fonction de décroissance bi-exponentielle, qui prend la valeur qui minimise l'erreur, entre la valeur de la fonction et la valeur brute du pixel, puis les valeurs des paramètres correspondants en sont déduites. Les intervalles sont choisis en fonction de l'étude de Mitsouras *et al.* (2016) et vérifié à l'aide du logiciel d'ajustement de courbes TableCurve2D (TableCurve 2D Version 5.01, SYSTAT Software Inc. 2002). Ce dernier permet de faire des estimations pour les paramètres des T_2 et M_0 à l'aide d'une moyenne de valeurs de pixels sur une région d'intérêt bien définie. Les figures 1B et 1C, construites avec Matlab, représentent des valeurs fournies par la fonction dictionnaire aux pixels d'un blanc et d'un jaune d'œuf pour une coupe bien précise représentée schématiquement en rouge dans la figure 1A. Après avoir estimé chacun des pixels du masque binaire, une moyenne est calculée afin d'avoir une valeur correspondante aux temps de relaxations (T_2) courts et longs dans le blanc et dans le jaune ainsi que les paramètres M_0 . L'opération est répétée pour chacune des coupes pour en effectuer la moyenne par la suite.

1.4. Analyses statistiques

La distribution des différents types de données a été évaluée par un test de normalité de Shapiro-Wilk. Des tests de comparaisons non paramétriques de Wilcoxon ont été réalisés sur les médianes pour comparer les différents lots. Des tests de corrélations non paramétriques par la méthode de Spearman ont été réalisés entre les différents poids et volumes du blanc et du jaune, ainsi qu'entre le volume de la chambre à air et la perte de poids et pour finir entre les valeurs $T_{2\text{ court}}$ et $T_{2\text{ long}}$. De plus des régressions linéaires ont été faites afin de voir le rapport entre les volumes et les poids du blanc et du jaune ainsi qu'entre la perte de poids et le volume de la chambre à air. Un résultat avec une valeur de p inférieure à 0,05 (5%) est considéré comme statistiquement significatif. Les tests statistiques ont été réalisés à l'aide du logiciel Rstudio (Version 1.1.456).

2. RESULTATS ET DISCUSSION

2.1. Volumétrie

Dans la première partie de l'étude, nous avons cherché à évaluer le niveau de précision des mesures volumétriques obtenues par les méthodes d'imagerie, et leur utilisation potentielle comme indicateur de

qualité et/ou de fraîcheur de l'œuf. Nous nous sommes intéressés à trois compartiments internes : le blanc, le jaune et la chambre à air. Les poids du blanc et du jaune sont des paramètres souvent utilisés pour caractériser les œufs. Ils nécessitent de casser l'œuf et d'isoler chaque compartiment. La mesure directe du poids du blanc est néanmoins compliquée et approximative en raison de sa nature collante et des résidus qui restent fixés à la coquille de l'œuf et au séparateur après le cassage. Il peut cependant être estimé de façon plus précise mais indirecte, en retranchant les poids coquille (soigneusement lavées) et de jaune au poids de l'œuf entier. Le volume de la chambre à air est un critère inversement corrélé à la fraîcheur de l'œuf et qui augmente en fonction du temps de stockage. Cependant à notre connaissance, il n'existe pas de techniques simples de quantification directe. Son volume peut néanmoins être approximé sur des œufs stockés par la détermination de la perte de poids de l'œuf, ce qui nécessite de peser les mêmes œufs à J0 et après stockage et ce qui manque de précision.

Pour les volumes du blanc, du jaune et de la chambre à air déterminés à l'aide de l'IRM et du CT-scan, des tests de corrélations des poids du blanc, du jaune et de la perte de poids des œufs mesurés. Les résultats obtenus sur les données des deux températures de stockage sont présentés dans la Figure 2. Le poids du blanc et le volume du blanc sont corrélés positivement ($p < 0,05$, $\rho = 0,798$; Figure 2A) ainsi que le poids et le volume du jaune ($p < 0,05$, $\rho = 0,762$; Figure 2B) et la perte de poids et le volume de la chambre à air jaune ($p < 0,05$, $\rho = 0,998$; Figure 2C). Des régressions linéaires ont été faites avec des coefficients proches de 1 pour le blanc (coeff = 1,01, R^2 ajusté = 0,997 ; Figure 2A), le jaune (coeff = 1,02, R^2 ajusté = 0,9967 ; Figure 2B), et la chambre à air (coeff = 1,06, intercept = -0,29, R^2 ajusté = 0,996 ; Figure 2C). Les différentes données volumétriques issues de l'imagerie sont donc cohérentes avec les données de poids mesurées au laboratoire. Une forte corrélation est observée entre les méthodes utilisées, notamment avec la chambre à air où la corrélation est proche de 1.

Les volumes/poids des compartiments d'un œuf évoluent au cours du stockage, notamment en raison de mouvements de l'eau au sein de l'œuf. En effet, une partie de l'eau contenue dans le blanc pénètre dans le jaune et/ou s'évapore par les pores de la coquille. Il en résulte donc une diminution du poids/volume du blanc, une augmentation du volume de la chambre à air et une légère augmentation du poids/volume de jaune au cours du temps. La répartition des données volumétriques en fonction des différents temps de stockage (J0, J7, J14, J28) est présentée dans la figure 2. Les différents lots se différencient peu pour le blanc (Fig. 2A) et le jaune (Fig. 2B) car les données sont très variables. L'absence de distinction entre groupes est probablement liée aux variations trop faibles des volumes/poids de ces deux compartiments au cours du

stockage. Au contraire, les variations du volume de la chambre en fonction du temps de stockage sont très nettes (Fig. 2C), avec des sous-groupes visibles correspondant aux deux températures de stockage (4°C et 20°C). Ce dernier paramètre pourrait constituer un critère de choix pour évaluer la qualité et la fraîcheur interne des œufs à l'aide des outils d'imagerie. Des tests de comparaison entre groupes doivent cependant être réalisés pour évaluer le niveau de significativité des différences observées.

2.2. Temps de relaxation

Dans la deuxième partie de cette étude, l'objectif était de caractériser les temps de relaxation T_2 (longs et courts) du blanc et du jaune dans des œufs frais et stockés pendant 28 jours à 4°C ou 20°C, afin d'évaluer si ces paramètres peuvent permettre de prédire la qualité interne des œufs. Les valeurs obtenues sont présentées dans le tableau 1. Les tests de normalité de Shapiro-Wilk appliqués à nos données ont montré que les échantillons ne suivaient pas une loi normale. Des tests statistiques non paramétriques ont donc été utilisés. Les variables ($T_{2 \text{ long}}$, $T_{2 \text{ court}}$ pour le blanc et le jaune d'œuf) ont ainsi été analysées avec le test bilatéral de Wilcoxon, avec pour hypothèse H_0 : la différence des médianes est égale à 0, hypothèse H_1 : la différence des médianes est différente de 0. Un test de corrélation entre le $T_{2 \text{ court}}$ et le $T_{2 \text{ long}}$ par la méthode de Spearman a également été réalisé avec les hypothèses suivantes: H_0 : le coefficient de corrélation ρ est égale à 0 et hypothèse H_1 : le coefficient de corrélation ρ est différent de 0.

Les résultats sur le blanc montrent que le $T_{2 \text{ long}}$ des œufs conservés 28 jours à 20°C est significativement plus faible que les valeurs mesurées à J0 ($p = 0,002$) et à J28/4°C ($p=0,013$). Aucune différence significative n'est observée entre ces deux dernières conditions. Pour le $T_{2 \text{ court}}$ (tableau 1), les valeurs des œufs conservés 28 jours à 4°C et 20°C ne sont pas statistiquement différentes, mais sont supérieures au $T_{2 \text{ court}}$ mesuré à J0 avec un haut niveau de significativité ($p<0,001$). La corrélation entre le $T_{2 \text{ court}}$ et le $T_{2 \text{ long}}$ du blanc est significative ($p<0,05$) avec un coefficient de corrélation $\rho = -0,61$, qui reste faible. Lorsque le $T_{2 \text{ long}}$ augmente, le $T_{2 \text{ court}}$ a tendance à diminuer mais le coefficient n'est pas suffisamment proche de -1 pour en conclure qu'une diminution du $T_{2 \text{ long}}$ dans le blanc engendre systématiquement une augmentation du $T_{2 \text{ court}}$.

Les résultats sur le jaune montrent que le $T_{2 \text{ long}}$ est significativement inférieur dans les œufs conservés 28 jours à 20°C en comparaison des œufs frais (J0) ($p = 0,012$). Les valeurs de $T_{2 \text{ court}}$ du jaune dans les œufs stockés à 4°C et 20°C ne sont pas statistiquement différentes ($p = 0,098$) mais sont en revanche

supérieures au $T_{2 \text{ court}}$ des œufs frais (J0) à un niveau très significatif ($p<0,0001$). La valeur p du test de corrélation entre le $T_{2 \text{ long}}$ et le $T_{2 \text{ court}}$ du jaune par la méthode de Spearman est de 0,012, ainsi on rejette l'hypothèse H_0 en faveur de H_1 avec un coefficient de corrélation $\rho = -0,22$, ce qui est un coefficient de corrélation relativement faible. On ne peut donc pas conclure que la diminution du $T_{2 \text{ long}}$ dans le blanc engendre systématiquement une augmentation du $T_{2 \text{ court}}$.

CONCLUSION

Nos travaux ont montré de fortes corrélations entre les volumes des compartiments internes calculés à l'aide des techniques d'imagerie (IRM et CT-scan) et les mesures réalisées par des méthodes conventionnelles, notamment entre le volume de la chambre à air (indicateur de fraîcheur) et la perte de poids des œufs au cours du stockage. Nous avons également montré que la détermination des composantes longues et courtes des temps de relaxation T_2 dans le jaune et le blanc pouvait être intéressante pour caractériser la qualité interne de l'œuf car des modifications de certains de ces paramètres ont été observées au cours du stockage dans les deux compartiments de l'œuf. Ces premiers résultats suggèrent donc qu'il est possible d'évaluer la qualité interne et/ou la fraîcheur des œufs de façon non invasive, sans avoir à casser les œufs, grâce aux méthodes d'imagerie de type IRM et CT-scan qui permettent de quantifier des paramètres difficilement appréciables par les approches standards. Des tests de corrélation avec d'autres indicateurs de fraîcheur et de qualité interne (unités Haugh, pH du blanc, indice du jaune...) sont en cours afin de confirmer ces résultats et évaluer le niveau de précision des paramètres acquis en imagerie pour prédire la qualité interne des œufs. Au regard des objectifs fixés dans le projet ANR EQLIPSE, l'évolution de ces paramètres sera également étudiée en fonction des périodes du cycle de ponte.

REMERCIEMENTS

Ces expérimentations ont été réalisées dans le cadre du contrat ANR EQLIPSE (Enhancing the Quality and the Level of Internal Protections of Shell Eggs, ANR-19-CE21-0006). Les auteurs remercient l'ANR, le CNPO et le SNIPO pour leur soutien financier, l'ITAVI et le Pôle d'Expérimentation Avicole de Tours (PEAT, INRAE, Nouzilly, DOI : 10.15454/1.5572326250887292E12) pour l'élevage des poules pondeuses et la fourniture des œufs.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Roberts J., 2014. J Poult Sci (41) 161-77.
Paul A. et al, 2006. Neuroimage, 1;31(3):1116-28.
Mitsouras D., Mulkern R.V. and Maier S.E., 2016. Magn Reson.Med, (75), 2156-2164.

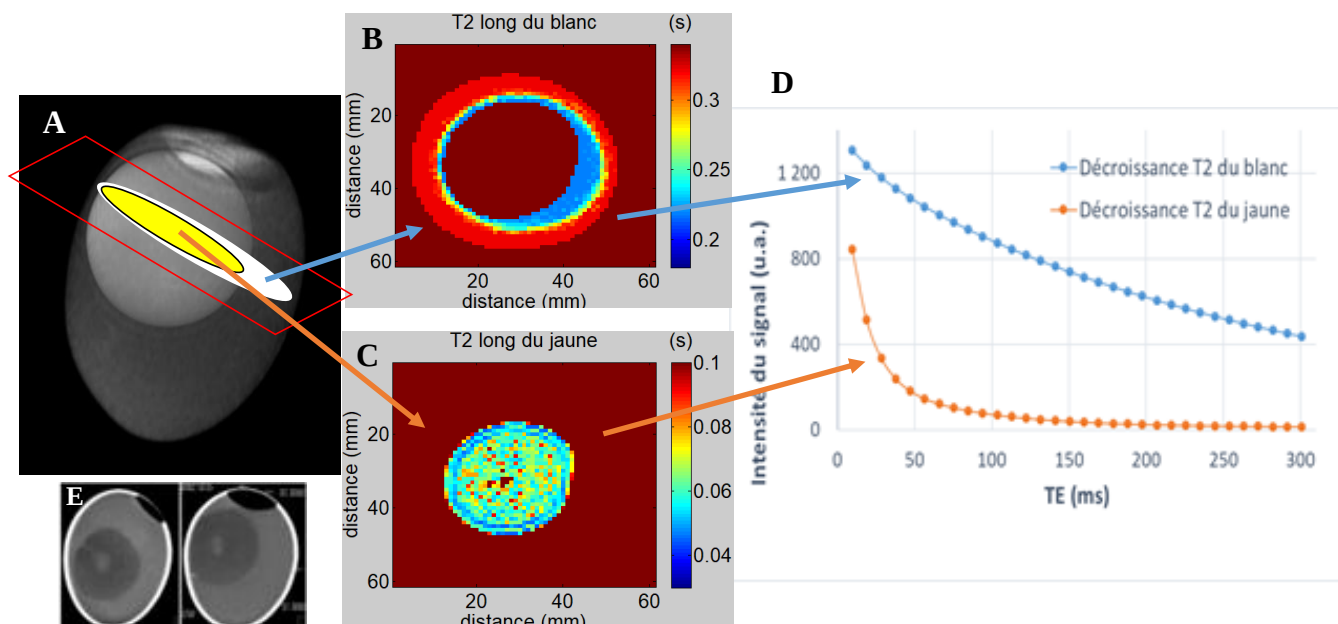


Figure 1. A) Visualisation 3D d'un œuf imagé à l'IRM avec une représentation schématique d'une coupe transversale (en rouge) du jaune (en jaune) et du blanc (en blanc). B) Valeurs T_2 pour chaque pixel du blanc calculé dans Matlab. C) Valeurs T_2 pour chaque pixel du jaune calculé dans Matlab. D) Exponentielle décroissante T_2 pour le blanc (en bleu) et le jaune (en orange) d'œuf. E) Illustration d'images CT d'un plan d'œuf frais (à gauche) et d'œuf stocké à 1 semaine -J7 (à droite) à 20°C, il est à noter ici que le jaune d'œuf migre vers le haut au cours du temps de stockage.

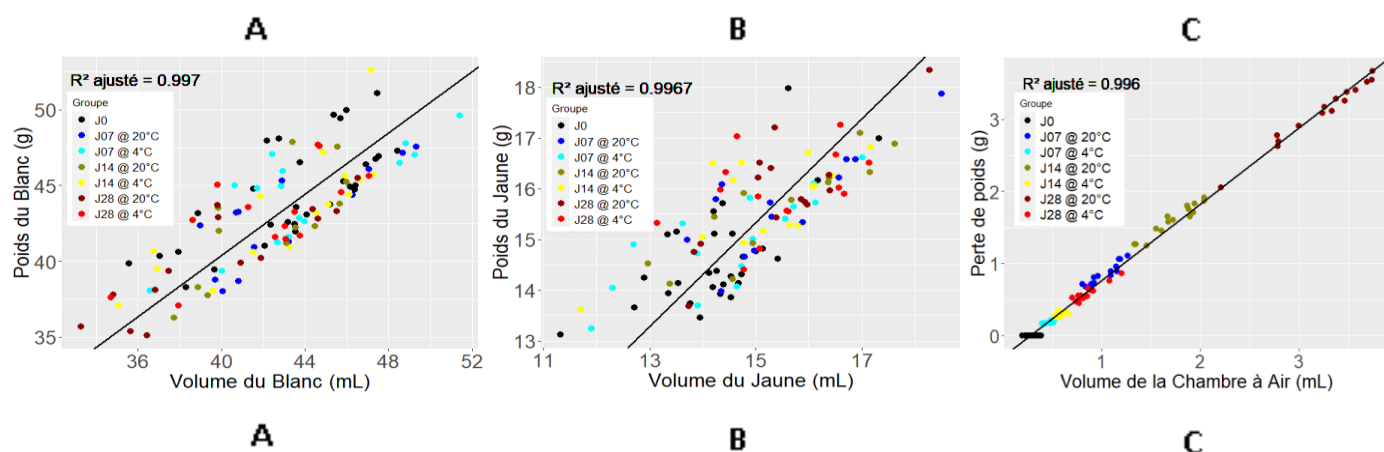


Figure 2. Relations entre différents paramètres de qualité interne des œufs déterminés par les méthodes conventionnelles et les méthodes d'imagerie. (A) Poids du blanc vs. Volume du blanc. (B). Poids du jaune vs. Volume du jaune. (C) Perte de poids de l'œuf vs. Volume de la chambre à air.

	Blanc			Jaune		
	J ₀	J ₂₈		J ₀	J ₂₈	
Températures	/	4°C	20°C	/	4°C	20°C
$T_{2 \text{ long}}$ (ms)	$271,5 \pm 7,08^A$	$271,3 \pm 18,6^A$	$249,9 \pm 30,1^B$	$64,1 \pm 1,7^A$	$63,7 \pm 1,7^{AB}$	$63,0 \pm 1,6^B$
$T_{2 \text{ court}}$ (ms)	$21,3 \pm 2,36^B$	$25,3 \pm 3,3^A$	$28,3 \pm 5,6^A$	$11,6 \pm 0,4^B$	$12,7 \pm 0,6^A$	$13,0 \pm 0,7^A$

Tableau 1. Tableau de mesure des moyennes ($\pm$ écart-types) des temps de relaxation T_2 longs et courts du blanc et du jaune dans des œufs frais (J0) et stockés (J28) à 4°C et 20°C. Les différences significatives observées en fonction des conditions de stockage pour un même paramètre ($T_{2 \text{ long}}$ ou $T_{2 \text{ court}}$) et un même compartiment (blanc ou jaune) sont indiquées par des lettres différentes.