

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA
RECHERCHE SCIENTIFIQUE



UNIVERSITE MOHAMED BOUDIAF - M'SILA
FACULTE DE TECHNOLOGIE
DEPARTEMENT D'ELECTRONIQUE
MEMOIRE DE FIN D'ETUDES EN VUE DE L'OBTENTION DU
DIPLÔME
DE MASTER EN ELECTRONIQUE
OPTION : INSTRUMENTATION ET MAINTENANCE INDUSTRIELLE

THEME :

**Processus D'alignement des Séries D'image Microscopique à
Niveau De Gris**

Présenté par :

Messak Abdelmounaim

dirigé par :

Ketfi Mohamed El Amine

Année Universitaire : 2015 / 2016

Remerciement

Tout d'abord je remercie le dieu, le clément de m'avoir donné la foi et le courage de terminer ce projet.

Je tiens à adresser mes plus vifs remerciements à Mon encadreur Mr Ketfi Mohamed El Amine pour son aide, son soutien et ses conseils qui m'ont fourni une grande motivation à accomplir ce travail.

Je remercie également le président des membres du jury, et les membres du jury, pour avoir accepté d'être examinateurs de ce mémoire.

Finalement, Je tiens à exprimer toute ma gratitude à tous ceux qui ont contribué, de près ou de loin, à la concrétisation de ce travail.

Dédicaces

À mes très chers parents, spécialement mon père, qui m'ont permis de devenir ce que je suis aujourd'hui

À mes sœurs Isra et Ritaj et Jana

À mon frère Abdellatif

À toute ma famille

À toute mes amies

À mes amies

Liste Des Figures

Figure I.1 Imagerie 3D à différentes échelles en science des matériaux: a) Représentation 3D d'une mousse métallique obtenue par micro tomographie X [Maire2001]; b) Visualisation de particules d'or 8nm) dans une particule de catalyse Au/SBA-15, par tomographie électronique [Ziese2004]; c) Distribution des atomes de Si (vert) et de Mg (magenta) dans un alliage AlMgSi obtenue par la sonde atomique tomographique (LaWaTAP) [Deconihout2007].....	8
Figure I.2 Illustration graphique de : (a) la projection, (b) la rétroprojection.....	9
Figure I.3 Projection et rétroprojection d'une fonction f	11
Figure I.4 Différentes étapes de la reconstruction par rétroprojection Filtrée.....	12
Figure I.5 Les différentes étapes du TEM.....	14
Figure I.6 Représentation schématique des interactions des électrons avec un échantillon en lame mince.....	17
Figure I.7 Différents modes de fonctionnement.....	18
Figure I.8 Principe de la méthode des trois fenêtres.....	21
Figure I.9 Principe de la microscopie électronique à imagerie filtrée en énergie EFTEM.....	22
Figure I.10 L'ouverture de TomoJ.....	25
Figure I.11 Interface de TomoJ.....	25
Figure II.1 Exemples générés par simulation.....	30
Figure II.2 Images microscopique STEM "Pyrodictium".....	32
Figure II.3 Algorithme d'alignement des images par corrélation croisée.....	35
Figure II.4 Exemple d'alignement de deux images par corrélation croisée.....	36

Figure II.5 Alignement de la série de projections en utilisant des marqueurs repères (leurs positions sont représentées par les points verts) ; les images sont translattées et corrigées.....	38
Figure II.6 Alignement de cellule à l'aide les marqueurs.....	38
Figure III.1 d'image d'une série de tilt de 76 images de taille 256×256 pixels chacune en mode EFTEM.....	48
Figure III.2 d'image d'une série de tilt de 91 images de taille 512 × 512 pixels chacune, en mode STEM.....	48
Figure III.3 Images test originales tirées de la bibliothèque Toolbox Matlab.....	50
Figure III.4 Organigramme de méthode CC sur Matlab.....	53
Figure III.5 Image Boat désalignée ($d_x = 15.00, d_y = 20.00$).....	54
Figure III.6 Image Boat alignée par CC.....	54
Figure III.7 Image Cameraman désalignée ($d_x = 15.00, d_y = 20.00$).....	55
Figure III.8 Image Cameraman alignée par CC.....	55
Figure III.9 Image House désalignée ($d_x = 15.00, d_y = 20.00$).....	56
Figure III.10 Image House alignée par CC.....	56
Figure III.11 Image STEM n°1 de la Stack.....	57
Figure III.12 Image STEM n°57 de la Stack.....	58
Figure III.13 Image STEM alignée par CC0.....	58
Figure III.14 Image référence serie02_002.tif.....	59
Figure III.15 Image désalignée serie02_011.tif.....	59
Figure III.16 Image alignée par CC.....	59

Figure III.17 Série d'Images en mode STEM en TOMOJ.....	62
Figure III.18 Résultat d'alignement par la méthode de CC sur l'image STEM en TOMOJ, appliquée sur 91 copies.....	62
Figure III.19 Emplacement et suivi des Landmarks sur différentes copies de la série EFTEM.....	64
Figure III.20 Emplacement et suivi des landmarks sur l'image STEM.....	65
Figure III.21 Interface De l'Align Tilt Séries.....	66
Figure III.22 Fenêtre d'exécution.....	66

Liste Des Tableaux

Tableau III.1 Valeurs d'erreur quadratique MSE pour différentes images synthétiques alignées correspondantes à la méthode CC.....60

Tableau III.2 Valeurs d'erreur quadratique MSE pour différentes images microscopiques alignées correspondantes à la méthode de CC.....61

Notation et Abréviations

Ils ont utilisé les classements traditionnels suivants abréviations:

ART: Algébrique **R**econstruction **T**echnique

EFTEM: Energie **F**iltred **T**ransmission **E**lectron **M**icroscopy

EM: Electron **M**icroscopy

FFT : Fast **F**ourier **T**ransform

HAADF: High Angle **A**nnular **D**ark **F**ield

MI: Mutuel **I**nformation

MSE: Mean **S**quared **E**rror

SIRT: Simultaneous **I**terative **R**econstruction **T**echnique

STEM: Scanning **T**ransmission **E**lectron **M**icroscopy

TEM: Transmission **E**lectron **M**icroscope

TF : Transform **F**ourier

2D: Two-**D**imension

3D: Three-**D**imension

Sommaire

Remerciement.....	I
Dédicace.....	II
Liste Des Figures.....	III
Liste Des Tableaux.....	VI
Notation Et Abréviation.....	VII
Introduction Générale	1
Introduction.....	2
Position Du Problème.....	2
Organisation Du Manuscrit.....	4
Chapitre 1 : Microscopie Electronique.....	5
I.1 Introduction.....	6
I.2 Tomographie Electronique.....	9
I.2.1 Alignement	9
I.2.2 Reconstruction	10
I.2.3 Segmentation	14
I.3 Microscopie Electronique.....	15
I.4 Principe De La Microscopie Electronique.....	15
I.5 Les Types De La Microscopie Electronique	17
I.4.1 Microscopie Electronique Conventiennelle.....	17
I.4.2 Microscopie Electronique En Transmission A Balayage STEM.....	19
I.4.3 Microscopie Electronique A Pertes D'énergie EFTEM.....	19
I.6 Logiciel TomoJ Sous ImageJ.....	23
I.7 Conclusion	26
Chapitre 2 : Méthodes Classiques D'alignements.....	27

II.1	Introduction	28
II.2	Principe D'alignement.....	29
II.3	Techniques D'alignement De L'image	31
	II.3.1. Méthodes d'Alignement Basées Sur Des Mesures Statistiques.....	31
	II.3.2. Technique d'Alignement Basée Sur Les Marqueurs.....	36
II.4	Techniques Développées (l'Information Mutuelle).....	39
II.5	Conclusion.....	44
	Chapitre 3 : Résultat Et Discussion.....	45
III.1	Introduction.....	46
III.2	Nature Des Données.....	47
	III.2.1 Images Réelles Microscopiques EM (Electron Microscopy).....	47
	III.2.2 Images Niveaux De Gris De La Bibliothèque Toolbox Matlab.....	49
	III.2.3 Critères D'évaluations.....	51
III.3	Discussion Des Résultat.....	52
	III.3.1 Méthodes d'Alignements Simulées.....	52
	III.3.1. A) Méthode d'Alignement De Corrélation Croisée	52
	III.3.1. B) l'emplacement du land marks dans les images EM.....	63
III.2	Conclusion.....	67
	Conclusion Générale.....	68
	Bibliographie.....	71
	Résumé	

Introduction

La microscopie électronique offre une résolution sub-nanométrique, elle connaît aussi un fort développement métrologique notamment en tomographie (acquisition trois dimension), l'imagerie est donc aujourd'hui en pleine transformation.

Par ailleurs la tomographie électronique est une technique qui consiste à reconstruire le volume d'un objet à partir d'une ou de plusieurs séries de projection enregistrées en récemment un outil indispensable pour l'étude des structures biologiques grâce à la partie multitude des modes permettant sa mise en œuvre (comme par exemple le champ clair en TEM ou encore le champ sombre en mode STEM), l'utilisation simple ou combine de ces modes apporte des informations de la nature très variées sur les nano-objets étudiés. Par rapport à la tomographie aux rayons X, elle possède une meilleure résolution allant jusqu'en dessous du nanomètre pour les échantillons suffisamment minces, en tomographie électronique on est souvent et confrontée à plusieurs problèmes, en amont et en aval à la chaîne de reconstruction tridimensionnelle, un des problèmes fondamentaux et connexes à la problématique de la tomographie électronique est celui de l'alignement des images inclinées appelé aussi problème de synchronisation ou de recalage.

L'alignement est défini comme une méthode de faire concorder deux ou plusieurs images montrant une même scène à des instants distincts, depuis des points de vue différents, c'est la série de tilt dans le cas des images microscopiques, ainsi les images observées doivent être utilisées dans le cas des images microscopiques, ainsi; les images observées doivent être utilisées un repère commun si on veut pouvoir utiliser les informations non redondantes contenues dans chacune d'elles pour avoir une bonne reconstruction, il est indispensable de bien aligner la série d'images alignées.

Cette introduction a une double finalité, la première est de préciser le cadre de ce travail et le problème que nous allons traiter, tandis que la seconde consiste à présenter la principale contribution de ce travail en indiquant le fil directeur reliant ses deux parties.

Position Du Problème

Une des problématiques majeures en traitement d'images et de pouvoir analyser et traiter plusieurs images dans un référentiel commun pour regrouper ou comparer leurs informations respectives, ce problème connu sous le nom **d'alignement** ou (recalage), est

nécessaire dès qu'il s'agit de confronter plusieurs sources d'information acquises à des temps différents, par des capteurs différents ou à partir de vues différentes.

L'alignement d'images, en anglais « registration », fait référence à la procédure ayant pour but de trouver une transformation géométrique reliant deux ou plusieurs images.

Le but est de situer les images dans un même repère géométrique, c'est un domaine de recherche aux multiples applications qui impliquent un grand nombre de techniques d'imagerie numérique, cette diversité provient principalement de la notion très générale des images reliant: modes de compatibilité impliqués fait à chaque fois qu'il est nécessaire de correspondance spatiale entre les images, les applications et d'en tirer nombreuses et variées.

Les nanomatériaux sont de plus en plus présents dans notre vie quotidienne : ils se trouvent dans une très large gamme de produits, comme par exemple en médecine, industrie pétrolière, la microscopie électronique de transmission (MET), qui sont capables de nous fournir des informations plus détaillées de nature morphologique ou même structurale à l'échelle nanométrique, du point de vue de la caractérisation des nanomatériaux, toutes ces techniques présentent l'un des inconvénients suivants : les informations de nature chimique sont moyennées, les variations de concentrations sont difficilement observables, les images obtenues sont limitées en résolution spatiale et en champ observé, les informations sont intégrées en épaisseur.

La tomographie à énergie filtrée EFTEM (Energie Filtred Transmission Electron Microscopy) combine l'approche tomographique et l'imagerie filtrée en énergie, ce mode d'imagerie est basé sur la spectroscopie des pertes d'énergie des électrons traversant l'échantillon dans un microscope électronique et permet d'obtenir, en combinant plusieurs images, une cartographie chimique d'un seul élément. Elle fournit une image qui est la projection du signal, l'algorithme de reconstruction tomographique va nous permettre d'obtenir des volumes mais cette fois-ci chimiquement sélectives.

Dans notre travail, nous étudierons en détail la microscopie électronique avec ses différents modes de travail :

- ✓ Mode à balayage (Scanning Transmission Electron Microscopy STEM).
- ✓ Mode à énergie filtrée (Energie Filtred Transmission Electron Microscopy EFTEM).

Nous présenterons également les problèmes rencontrés pour chaque mode, depuis la phase de prétraitement à l'alignement, des comparaisons entre les méthodes d'alignements bien connues et l'algorithme proposé seront établies. Plusieurs illustrations seront présentées tout au long du manuscrit nous allons implémenter l'algorithme sous Matlab et le combiner avec la phase d'alignement par Landmarks effectuée sous le logiciel TomoJ sous ImageJ, ce logiciel est développé par le chercheur « Cedric Messaoudi » de l'institut Curie, Orsay, France. Ce logiciel est destiné à la tomographie électronique, c'est à dire la reconstruction du volume des images microscopiques. Notons que les données utilisées sont des données réelles (images microscopiques) acquises selon les deux modes STEM et EFTEM en utilisant un microscope électronique à transmission.

Organisation Du Mémoire

Ce mémoire concerne donc l'étude des techniques d'alignements pour les images microscopiques. Nous avons voulu présenter un manuscrit clair et illustré par de nombreux exemples, figures et schémas.

Ce document est constitué de la présente introduction, de trois chapitres et d'une conclusion générale, nous avons ajouté en début de chaque chapitre, une introduction détaillant plus encore le contexte et les enjeux de la partie traitée dans le dit chapitre, ainsi que les travaux effectués, chaque chapitre se termine par une conclusion et une synthèse sur les performances des méthodes abordées et sera justifié par des illustrations, de plus les tables des matières accompagnant les chapitres du mémoire.

Ce mémoire est organisé comme suit :

- ✓ Le Chapitre 1: Nous exposons le principe de la tomographie électronique et les différents modes de travail, nous présenterons également le logiciel d'alignement dans la microscopie électronique de transmission : « TomoJ sous ImageJ ».
- ✓ Le Chapitre 2: Dans ce chapitre nous décrivons en profondeur les techniques mathématiques d'alignements d'images à partir des données « statiques ».
- ✓ Le Chapitre 3 : Ce chapitre sera entièrement dédié à nos résultats

Enfin la conclusion générale effectue la synthèse des résultats et permet de dégager quelques perspectives.

I.1 Introduction

Des récents microscopes électroniques, capables de produire des images avec une résolution proche de l'échelle atomique, ont permis de grand progrès dans la recherche que ce soit en biologie ou en science des matériaux. Cependant, la microscopie électronique propose essentiellement de l'information sous forme d'images ou de cartes bidimensionnelles d'un objet tridimensionnel, en effet une image conventionnelle de microscopie électronique à balayage présente une vision sous un angle donné de la surface de l'échantillon, dans le cas d'une image de microscopie électronique à transmission, il s'agit d'une projection d'un objet le long de l'axe du faisceau d'électrons, dans laquelle il est impossible de distinguer des objets ou des détails superposés, souvent les échantillons observés en microscopie électronique à transmission sont de faible épaisseur pour que les électrons puissent les traverser, ceci permet aux microscopistes dans certains cas de se passer de l'information dans la 3^e dimension en l'estimant constante dans cette direction, alors que dans d'autres cas, sans imagerie tridimensionnelle, ils cherchent déjà à orienter les échantillons de manière adéquate pour obtenir de l'information dans cette faible épaisseur.

Lorsque l'objectif est de caractériser des structures complexes tridimensionnelles dont la taille est suffisamment petite, la 3^e dimension devient significative, c'est dans le domaine de sciences de la vie que le besoin de l'imagerie tridimensionnelle a poussé le développement de la tomographie électronique, il y a quelques décennies, des structures biologiques comme des virus ou des assemblages macromoléculaires devaient être déterminées dans trois dimensions car leurs propriétés physiques et chimiques dépendent considérablement de leur topographie.

Depuis une dizaine d'année, la tomographie électronique est considérée comme un outil de caractérisation tridimensionnelle (3D) dans la biologie cellulaire et moléculaire.

En sciences de matériaux, la tomographie électronique se développe bien plus tard, une des premières applications de la tomographie électronique en science des matériaux a été publiée par Koster et al. en 2000. [1] selon l'échelle d'observation, la science des matériaux fait maintenant appel à différentes techniques d'imagerie tridimensionnelle, dont la tomographie électronique. (Figure I-1)

Pour les objets de taille relativement grande, de quelques millimètres jusqu'à des dizaines de centimètres, la microtopographie aux rayons X est le moyen le plus adapté pour examiner leur structure en trois dimensions, elle est basée sur la reconstruction à partir de projections observées dans différentes directions, le contraste dans les projections (radiographies) utilisé pour la tomographie peut être le contraste d'absorption ou le contraste de phase, le contraste d'absorption est basé sur la loi de Béer-Lambert qui décrit, au sein d'un matériau, le rapport entre le nombre de photons transmis et le nombre de photons incidents le long d'un trajet des rayons X, en ce qui concerne le contraste de phase, il est expliqué par le déphasage entre deux faisceaux parallèles traversant de part et d'autre une interface entre deux constituants du matériau examiné, ce contraste s'ajoute au contraste d'absorption classique, l'imagerie en contraste de phase est très utile quand le contraste d'absorption est faible entre deux composants ou lorsque les matériaux étudiés présentent peu de contraste avec l'air ambiant (cas des polymères).

La résolution spatiale des images de microtopographie aux rayons X peut descendre en dessous du micron grâce au rayonnement synchrotron, ce dernier permet de produire des faisceaux de rayons X intenses et de très bonne cohérence spatiale avec une gamme d'énergie très large (6-150 kV). Ils sont adaptés à la fois à l'imagerie des matériaux de faible numéro atomique (des polymères, des objets biologiques) et des matériaux plus absorbants (métaux). [2]

A l'autre extrémité de l'échelle, la sonde atomique tomographique est la seule technique d'analyse permettant de reconstruire des cartographies 3D de distribution chimique au sein d'un matériau, avec une résolution quasi-atomique, les atomes sont évaporés à des instants précis, de la surface d'une pointe très fine (rayon de courbure $R=50\text{nm}$), par effet de champ grâce à des impulsions HT brèves (1ns), les atomes arrachés sont projetés sur un détecteur spatial résolu en temps, leur nature chimique est identifiée par la spectroscopie de masse à temps de vol, la nécessité d'appliquer les impulsions de champ à l'extrémité de la pointe a longtemps limité l'utilisation de cette technique aux matériaux bons conducteurs électriques.

Un récent développement de la nouvelle génération de sonde atomique laser, appelée LaWaTAP (pour Laser assisted Wide Angle Tomographic Atom Probe), permet d'élargir le champ d'application vers les matériaux semi-conducteurs ou isolants grâce

à des impulsions laser femto seconde. Par ailleurs, la taille de la surface sondée est multipliée par 25 par rapport à celle sondée avec une sonde atomique classique. [3]

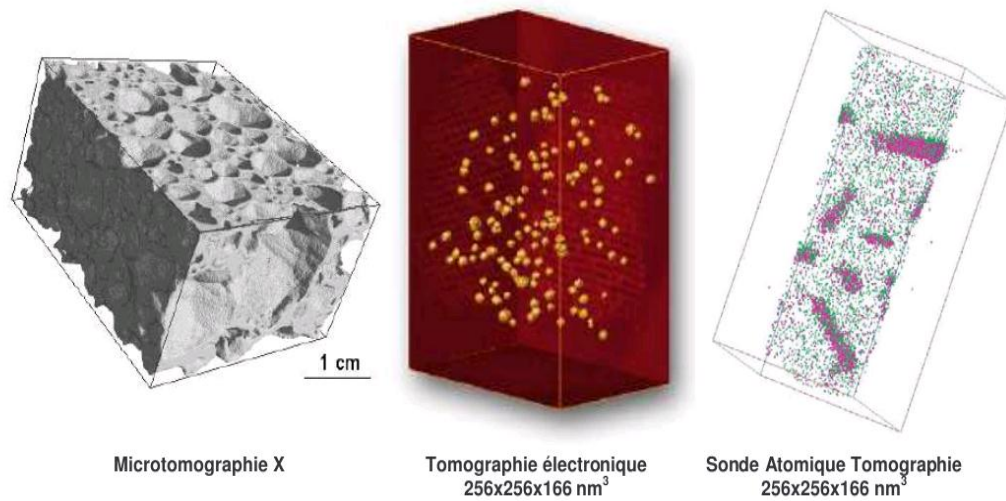


Figure I.1 : Imagerie 3D à différentes échelles en science des matériaux: a) Représentation 3D d'une mousse métallique obtenue par micro tomographie X [Maire2001]; b) Visualisation de particules d'or (8nm) dans une particule de catalyse Au/SBA-15, par tomographie électronique [Ziese2004]; c) Distribution des atomes de Si (vert) et de Mg (magenta) dans un alliage AlMgSi obtenue par la sonde atomique tomographique (LaWaTAP) [Deconihout2007]

La tomographie électronique, quant à elle, est appropriée pour les échantillons de taille de quelques centaines de nanomètre avec une résolution volumique de quelques nanomètres, d'une manière approximative, si un volume est reconstruit à partir d'une série de 100 images de projection, la résolution d'un volume reconstruit est autour de 1/100 de la taille de l'échantillon. [4].

Dans la suite cette première partie, nous présentons le principe de la tomographie ainsi que le développement de la tomographie électronique, nous nous intéresserons également aux différentes techniques de la tomographie électronique en science des matériaux, leurs avantages et leurs inconvénients.

Le paragraphe suivant détaillera d'avantage le principe de la tomographie électronique.

I.2 Tomographie Electronique

La tomographie électronique, appelée aussi parfois microscopie électronique à trois dimensions, est un mode de travail en microscopie électronique en transmission qui permet de résoudre les caractéristiques des nanoobjets et de nanostructures dans les trois dimensions de l'espace, le mot « tomographie » dérive du grec « tomos », qui signifie « section », combiné au grec « graph », qui signifie « dessiner » ; littéralement, il peut être traduit comme la visualisation des sections d'un objet ou plutôt sa découpe en sections, et dans la littérature la plupart du temps il sera utilisé avec cette signification, même si du point de vue expérimental cette technique a commencé à être utilisée dans les années cinquante,[5] ses bases opérationnelles la tomographie consiste à enregistrer une série d'images en projection d'un objet que l'on fait tourner d'un axe orthogonale à la direction du faisceau d'électron, on nomme souvent une telle série « série de tilts », les intensités des pixels équivalentes à des projections permettant à travers un processus itératif de calculer l'intensité d'un voxel à 3D l'équivalent du pixel de l'image de l'objet à 2D. La Figure I.2 illustre les processus de la tomographie.

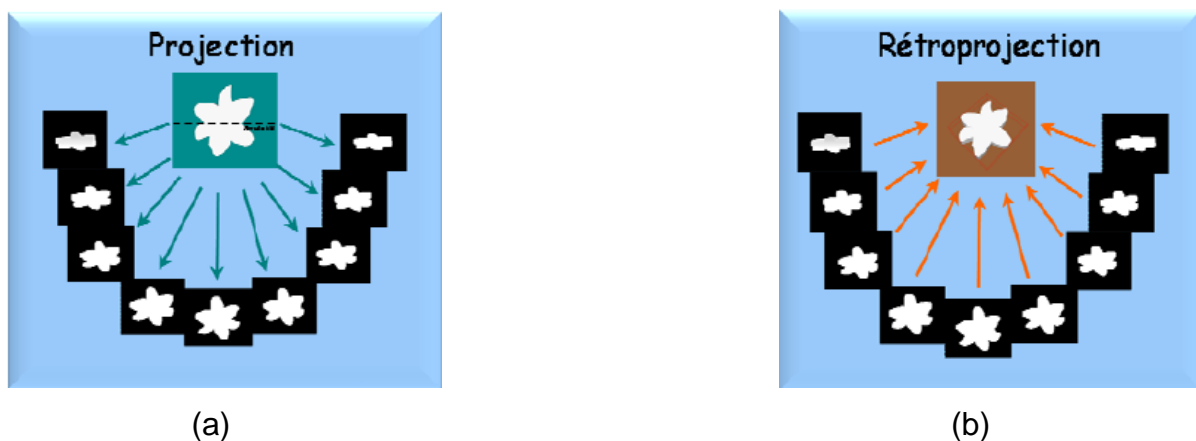


Figure I.2 Illustration graphique de : (a) la projection, (b) la rétroprojection

Et dans la tomographie électronique il existe 3 étapes après l'acquisition des données :

I.2.1 Alignement

De manière générale, le recalage [6,7] peut être défini comme la recherche de la relation mathématique entre deux jeux de données dans le but de les observer dans un espace

commun. Ainsi, le recalage rigide d'image est la recherche de la transformation T , combinant rotation, translation, permettant d'aller d'une image flottante F à une image référence R .

Généralement, chaque image est une vue du même objet mais les conditions d'acquisitions étant différentes, il est nécessaire d'appliquer une transformation à l'image F pour qu'elle soit superposable à l'image R , le recalage d'images peut être réalisé selon deux procédés :

- utilisation d'un référentiel externe dont la géométrie est connue.
- utilisation des similitudes existantes entre les différentes images, c'est-à-dire que seul le contenu anatomique des images permet le recalage, il s'agit ici d'un recalage dit intrinsèque.

Il existe deux approches principalement exposées dans la littérature :

- Les approches géométriques, qui utilisent des primitives géométriques (contours, squelettes...) extraites des images à recaler.
- Les approches iconiques, qui utilisent la dépendance statistique lorsque l'on considère les niveaux de gris d'une image.

I.2.2 Reconstruction

Dans cette section, nous allons évoquer les méthodes de reconstruction les plus couramment utilisées en tomographie électronique, en général il y a deux grandes familles de méthodes de reconstruction tomographique, l'une est l'ensemble des algorithmes analytiques, basées sur l'inversion directe des données, l'autre est l'ensemble des méthodes algébriques (ou itératives), basés sur l'approche inverse, qui cherche à reconstruire l'objet de manière itérative par l'optimisation d'un critère définissant un certain compromis entre la fidélité aux données et des contraintes a priori.

Nous abordons dans le paragraphe suivant les principales méthodes de reconstruction analytiques, en précisant leurs points forts et leurs faiblesses.

✓ Méthode analytiques (Directes)

Ces méthodes consistent à exprimer le problème directement sous une forme continue, la recherche de la fonction $f(x, y)$ peut s'effectuer soit en passant dans le domaine de Fourier, soit directement en inversant la transformée de Radon.

Deux types de méthodes de reconstruction existent :

- Rétroprojection (BP)
- Rétroprojection Filtrée (FBP)

➤ Rétroprojection

C'est méthodes simple pour estimer la $f(x, y)$ à partir de ses projections. C'est-à-dire, qu'on peut estimer la distribution f en rétroprojectant p suivant chaque angle θ

$$\hat{f}(x, y) = \int_0^\pi p_\theta(t) d\theta = \int_0^\pi p_\theta(x \cos \theta + y \sin \theta) d\theta \quad (\text{I.1})$$

Cette méthode introduit des artefacts de reconstruction sont connus sous le nom d'artefacts en étoile, déforment considérablement l'image.

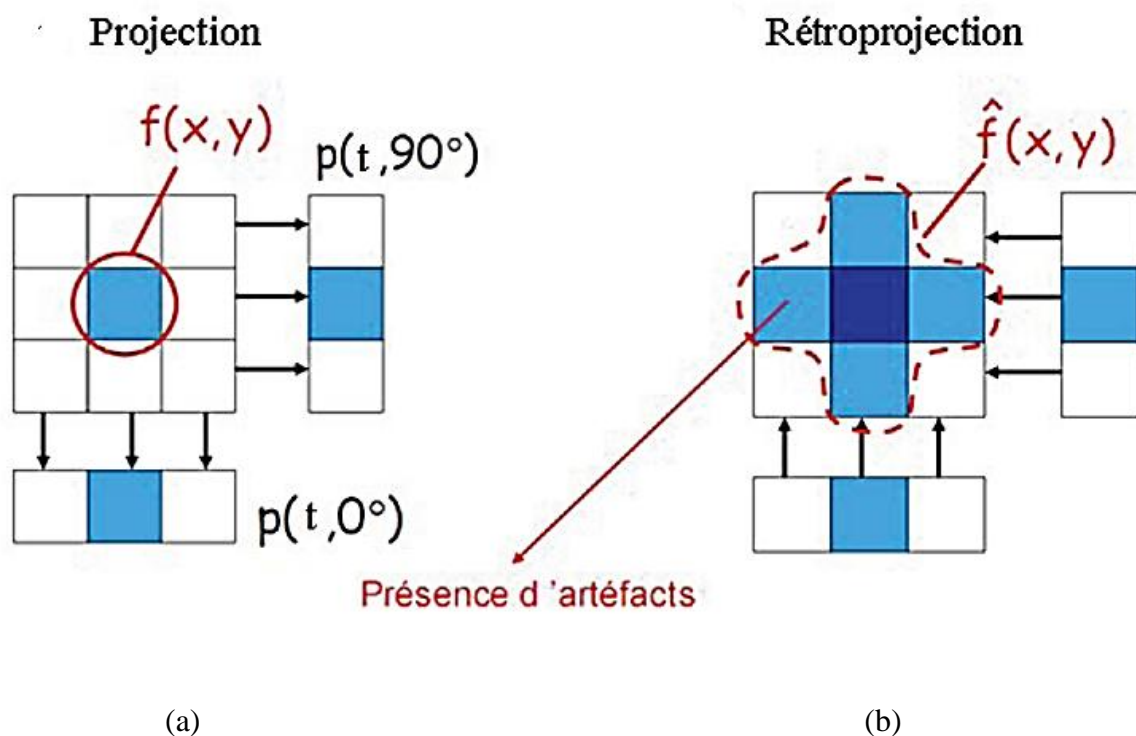


Figure I.3 Projection et rétroprojection d'une fonction f

➤ Rétroprojection Filtrée

La rétroprojection filtrée, comme l'indique son nom, incorpore une étape de filtrage des données une et rétroprojection dans le processus de reconstruction.

Dans la méthode rétroprojection nous avons 3 cas pour reconstruite l'image.

Domaine Spatial

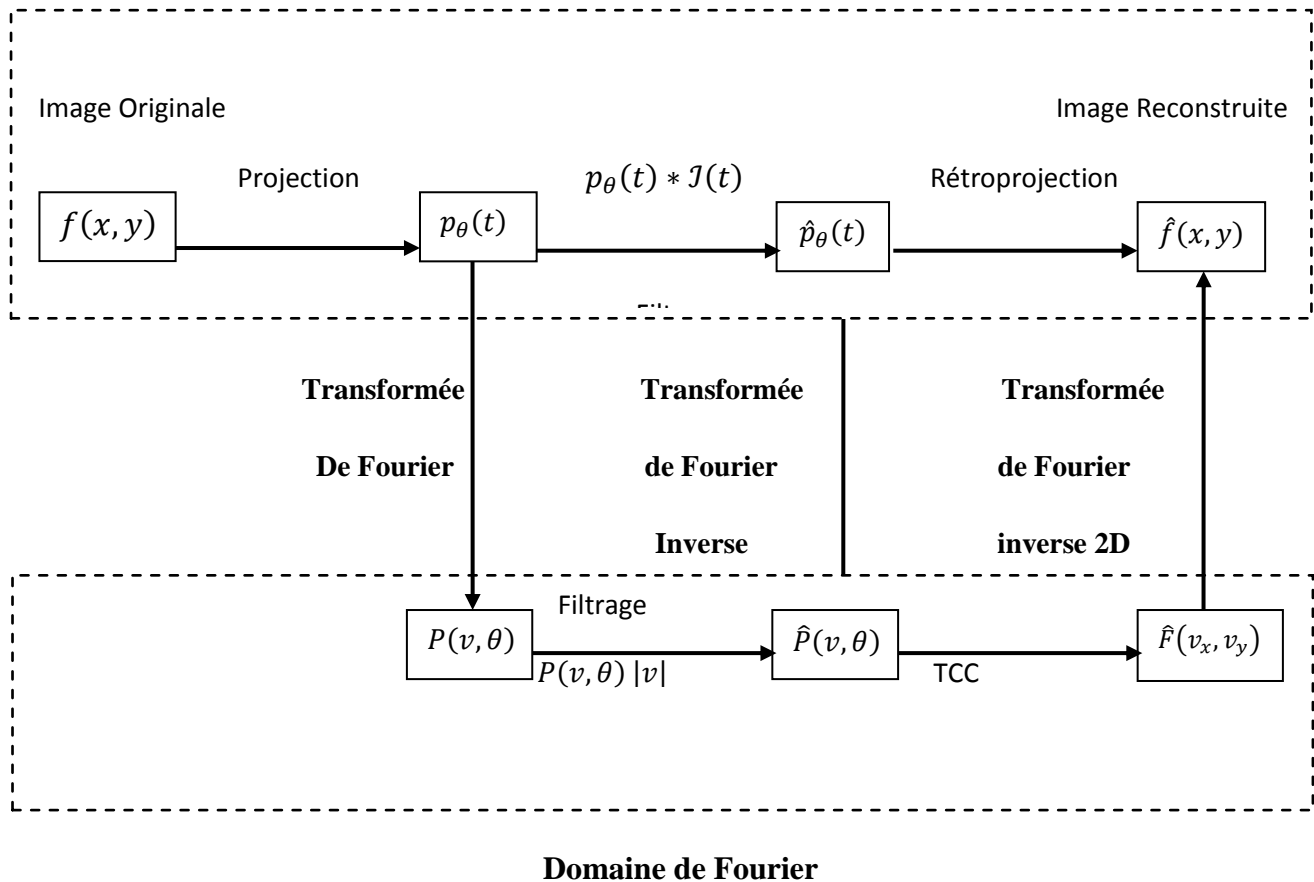


Figure I.4 Différentes étapes de la reconstruction par rétroprojection Filtrée

✓ Méthode algébriques

Alors que les méthodes analytiques reposent sur une solution mathématique exacte du problème de reconstruction, les techniques algébriques sont des méthodes itératives. En général, elles sont plus lourdes en temps de calcul, en revanche, ce type de méthodes a démontré une qualité supérieure de reconstruction, ceci s'explique par la possibilité de prendre en compte, dans le processus de reconstruction, l'instrument avec ses défauts et des informations a priori sur l'objet, dans cette partie, nous allons citer les méthodes les plus utilisées pour la reconstruction tomographique.

➤ **ART**

Cet algorithme, très connu en tomographie, est un cas particulier d'algorithme de projections sur des ensembles convexes, pour la résolution d'un système d'équations linéaires [8], le principe général de l'algorithme ART (algébrique reconstruction technique) [9], est de partir d'une image initiale $f(0)$ (souvent égale à zéro) et de corriger celle-ci pas à pas en utilisant une seule ligne de projection à la fois, il compare l'écart entre les lignes de projections simulées à partir de $f(\tau)$, $\sum_{l=1}^N H^{il} \phi_k f_l^{(\tau)}$ égal à et les lignes de projections mesurées p_k^i , l'algorithme ART peut se traduire par l'expression :

$$f_j^{(\tau+1)} = f_j^{(\tau)} + \lambda \frac{p_k^i - \sum_l H_{\phi_k}^{il} f_l^{(\tau)}}{\|H_{\phi_k}^{ij}\|^2} H_{\phi_k}^{ij} \quad (\text{I.2})$$

Où $f_j^{(\tau)}$ est la valeur du pixel d'indice j à l'itération τ , $\lambda < 1$ est un facteur de relaxation permettant l'accélération de la convergence, $\|H_{\phi_k}^{ij}\|^2$ est un terme de normalisation, égal au nombre de pixels traversés par le rayon i lorsque le modèle est le modèle ponctuel.

En pratique, la solution obtenue par cette méthode souffre fortement du phénomène d'amplification du bruit.

➤ **SIRT**

Les méthodes de type SIRT (simultaneous itérative reconstruction technique) [10], procèdent pixel par pixel. Elles consistent à corriger un pixel f_j en utilisant simultanément tous les rayons qui le traversent. Soit $f_j^{(\tau)}$ la valeur du pixel f_j à l'itération τ , les méthodes SIRT peuvent s'exprimer sous la forme suivante :

$$f_j^{(\tau+1)} = f_j^{(\tau)} + \frac{\sum_i [H_{\phi_k}^{ij} (p_k^i - \sum_l H_{\phi_k}^{il} f_l^{(\tau)}) / \sum_l H_{\phi_k}^{il}]}{\sum_i H_{\phi_k}^{ij}} \quad (\text{I.3})$$

Ces méthodes sont un cas particulier d'une minimisation de type gradient [11, 12,13], où la fonction à minimiser est de la forme : $\|p-Hf\|^2$, le minimum de cette fonction peut être trouvé par un algorithme SIRT grâce aux Itérations suivantes :

$$f^{(\tau+1)} = f^{(\tau)} + \lambda^{(\tau)} D H^T (p - H f^{(\tau)}) \quad (\text{I.4})$$

Avec $D = \text{Diag} \{1/\sum_i H^{ij}\}$ et $\lambda(\tau) < 1$ le coefficient de relaxation permettant l'accélération de la convergence.

La version simplifiée de cet algorithme considère H^T comme un opérateur de rétroprojection, ainsi, le coût de calcul de cet algorithme à chaque itération est principalement une projection Hf et une rétroprojection $H^T(p - Hf^{(\tau)})$, avec cette approche, la convergence est plus lente qu'avec la méthode ART mais les images reconstruites sont de qualité supérieure [14].

I.2.3 Segmentation

La segmentation d'image est une opération de traitement d'images qui a pour but de rassembler des pixels entre eux suivant des critères prédéfinis, les pixels sont ainsi regroupés en régions, qui constituent un pavage ou une partition de l'image. Il peut s'agir par exemple de séparer les objets du fond. Si le nombre de classes est égal à deux, elle est appelée aussi binarisation.

Et voici un schéma descriptif de toutes les étapes déjà expliquées.

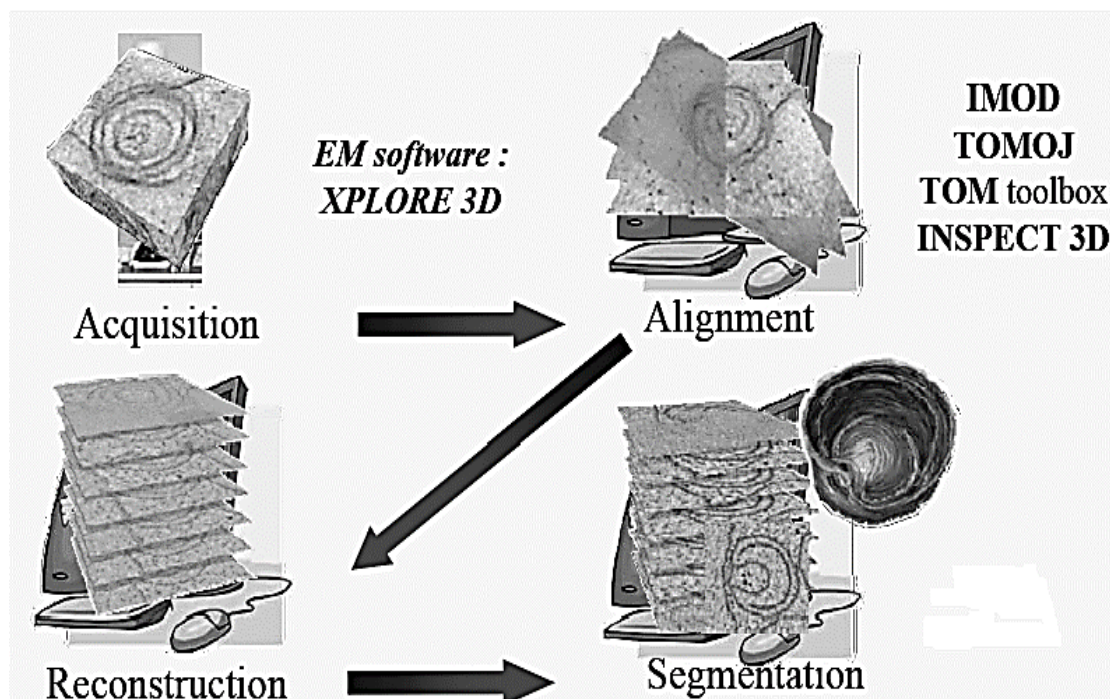


Figure I.5 Les différentes étapes du TEM

I.3 Microscopie Electronique

La microscopie électronique est devenue un puissant outil de caractérisation des matériaux ou structures biologiques, on utilise le terme tomographie électronique pour toute technique qui utilise le microscope électronique à transmission de recueillir des projections d'un objet qui est incliné en sens multiple et utilise ces projections pour reconstruire l'objet [15].

Les progrès actuels que ce soit en science des matériaux ou en biologie imposent une analyse et un contrôle de la microstructure ou la nanostructure de plus en plus précis, d'autre part durant les prochaines années, la complexité des dispositifs nanométriques va encore augmenter en s'approchant de celle des structures « naturelles » comme par exemple les assemblages des protéines ou les structures cellulaires, une technique inévitable pour fournir des informations sur ces structures complexes dans les trois dimensions de l'espace est la tomographie électronique, encore appelée microscopie électronique 3D [16], dans ce chapitre nous exposerons le principe de la microscopie électronique et les différents modes de travail.

I.4 Principe De La Microscopie Electronique

La formation d'une image en MET est due au phénomène de diffusion des électrons primaires dans un volume d'échantillon, lorsqu'un électron de haute énergie traverse un échantillon, il interagit avec la matière, en effet les interactions sont partagées en interactions élastiques (l'énergie est conservée en négligeant le recul du noyau, les électrons changent uniquement de direction de propagation) et inélastiques (l'énergie des électrons est différente avant et après interaction), alors il existe fondamentalement deux mécanismes de diffusion :

- Élastique : C'est le cas lorsque les électrons interagissent avec les noyaux et subissent une interaction attractive (pas de changement d'énergie) et sont par conséquent fortement déviés.
- Inélastique : Les électrons qui traversent le nuage des orbitales électroniques interagissent avec des électrons liés aux atomes, et peuvent par conséquent leur communiquer de l'énergie (l'électron incident perd de l'énergie), cette énergie permet à l'électron de la cible de changer de niveau énergétique, la déviation angulaire des électrons est alors plus faible que dans le cas de la diffusion élastique.

Un grand nombre d'applications de la microscopie électronique consistent à fournir des interprétations géométriques des images à des fins d'analyses qualitatives ou quantitatives sur un volume.

La reconstruction du volume de l'objet est réalisée à partir d'une série de projections en deux dimensions de cet objet, comme la profondeur de champ en microscopie est assez grande et l'échantillon mince, la mise au point s'effectue en première approximation sur toute l'épaisseur de l'échantillon, surtout si l'on travaille en mode parallèle TEM (**M**icroscope **E**lectronique à **T**ransmission), l'image obtenue est donc une projection de l'échantillon dans un plan perpendiculaire à la direction d'observation, dans ce qui suit nous détaillerons les différents modes du microscope électronique: mode conventionnel, mode à balayage, et mode à énergie filtrée EFTEM.

- **La Microscopie Electronique A Transmission : Un Outil Multifonctions**

La microscopie électronique à transmission est devenue une technique puissante de Caractérisation et d'observation permettant d'explorer la matière à une échelle atomique, cela tient à l'utilisation d'électrons rapides dont la longueur d'onde est de l'ordre de quelques centièmes d'Angstrom, les microscopes électroniques de dernière génération peuvent avoir deux modes d'illumination différents : le mode champ clair à transmission qui correspond à la microscopie conventionnelle et le mode en transmission à balayage (STEM, scanning transmission electron microscopy), elles utilisent les différents signaux produits par les nombreuses interactions possibles entre les électrons rapides (100 à 400 keV) et la matière constituée d'objets très minces d'épaisseur <500 nm) pour former une image de celui-ci, la Figure I.6 montre les différents signaux produits par les interactions possibles entre les électrons et la matière.

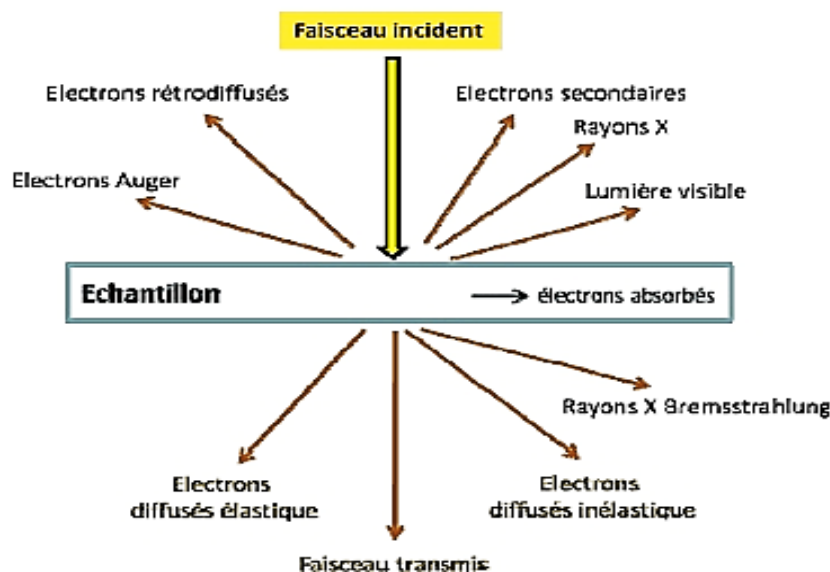


Figure I.6 Représentation schématique des interactions des électrons avec un échantillon en lame mince

En microscopie électronique les interactions sont classées en deux catégories, les interactions élastiques ou l'électron a la même énergie cinétique avant et après l'interaction, c'est-à-dire la même longueur d'onde, et les interactions inélastiques ou l'électron perd une partie de son énergie au cours de l'interaction, ces différentes interactions ont comme résultat la formation de trois types de contrastes dans les images formées :

- a) Contraste d'épaisseur, il provient des électrons qui sont diffusés élastiquement de manière incohérente, c'est un contraste qui est prédominant pour les matériaux amorphes.
- b) Contraste de diffraction, il provient des électrons qui sont diffusés élastiquement de manière cohérente, ce contraste est dépendant de la structure cristalline et de l'orientation de l'objet.
- c) Contraste de phase, il provient de l'interférence des différentes ondes de longueurs différentes étant spécifique pour les images des hautes résolutions

I.5 Modes De Microscopie Electronique En Transmission

I.5.1 Microscopie Electronique Conventionnelle

La microscopie conventionnelle est basée sur les interactions élastiques des électrons avec la matière, dans un microscope conventionnel l'objet étudié est irradié par un faisceau parallèle permettant de l'imager sur un écran placé dans le plan image de la lentille

objectif. On obtient l'image 2D d'un objet dont la structure est à 3 dimensions, si le réglage du microscope est fait de manière à imager sur son écran le plan focal de la lentille objectif, on peut visualiser une figure d'interférence, qui correspond à la figure de diffraction (mode diffraction), ainsi en mode image, une détermination morphologique et dimensionnelle de cristallites est réalisable tandis qu'en mode diffraction on a accès à l'organisation et l'orientation de ces cristallites, des études complémentaires par microscopie électronique en transmission haute résolution peuvent être réalisées, la microscopie électronique haute résolution implique l'enregistrement d'une image d'interférence entre toutes les ondes issues de l'objet, les phénomènes physiques mis en jeu restent les mêmes, mais la résolution augmente par l'utilisation d'une plus faible longueur d'onde électronique, il est alors possible de visualiser la matière à l'échelle atomique et ainsi de déterminer directement sur les clichés images la nature des plans présents. Par cette méthode une détermination exacte des plans aux interfaces est alors envisageable.

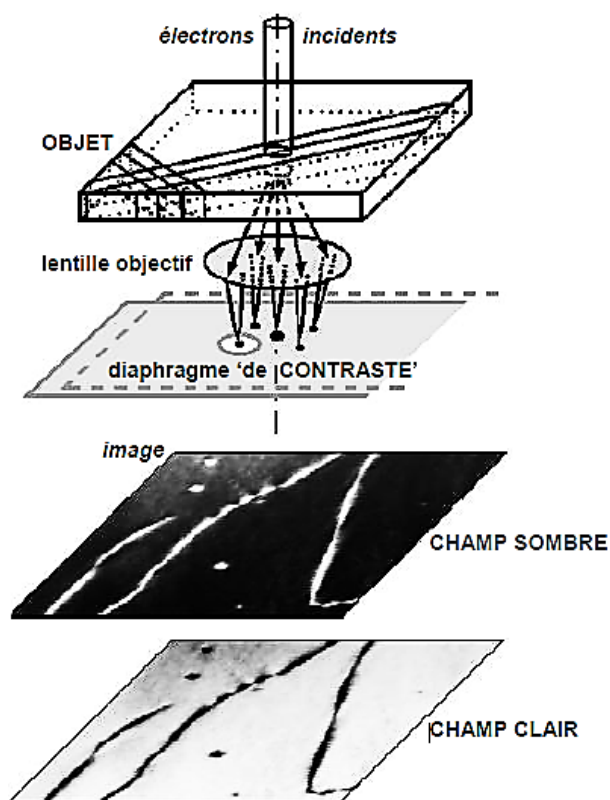


Figure I.7 Différents modes de fonctionnement.

Par ailleurs, les échantillons doivent avoir une faible épaisseur, cette contrainte ayant pour origine les fortes interactions entre les électrons et la matière, cependant, à cause de la grande profondeur de champ en microscopie électronique, l'image obtenue est une projection de

l'objet observé. Par conséquent, une grande partie de l'information concernant l'objet étudié est perdue car sa structure tridimensionnelle est résumée à une projection bidimensionnelle [16].

I.5.2 Microscopie Electronique en Transmission à Balayage (STEM)

Contrairement au mode TEM qui utilise un faisceau parallèle dans la formation des images, dans le mode STEM le faisceau est focalisé sur l'échantillon et il balaye l'échantillon uniformément, les électrons transmis en chaque point sont collectés par un détecteur et l'image est reconstruite à partir des signaux mesurés ? En mode TEM la formation de l'image se fait en parallèle tandis que l'acquisition se fait en série dans le mode STEM.

Dans ce mode STEM, en utilisant deux types de détecteurs on peut compter les électrons transmis sous différents angles afin de former des images qui peuvent contenir des informations complémentaires, une description plus détaillée de ce mode de travail sera présentée dans le deuxième chapitre de ce manuscrit, on va juste préciser qu'en mode STEM la résolution des images dépendent de la taille de la sonde et de la forme de l'objet étudié. La taille de la sonde est fortement liée aux réglages du microscope qui doivent être faits de manière à fournir un faisceau suffisamment concentré et intense afin d'avoir un bon rapport signal sur bruit dans les images enregistrées dans ce mode d'illumination.

I.5.3 Microscopie Electronique à Pertes d'Energie EFTEM

L'imagerie qui est associée à la spectroscopie de pertes d'énergies est l'imagerie filtrée en énergie (EFTEM) qui permet de faire de l'imagerie chimique, cette technique réalise des images avec un faisceau parallèle et en sélectionnant grâce une fente, les énergies les images EFTEM sont de nature très bruitées, des techniques particulières de prétraitement, doivent être utilisée lors de l'enregistrement [17].

Parmi ces techniques, et qui est la plus utilisée est les méthodes des trois fenêtres, le principe de la méthode des trois fenêtres consiste à enregistrer à chaque fois, trois images filtrées en énergie, deux images appelées "pre-edge" sont utilisées pour estimer le fond en considérant généralement une loi exponentielle

$$F(E) = A \cdot E^{-r} \quad (I.5)$$

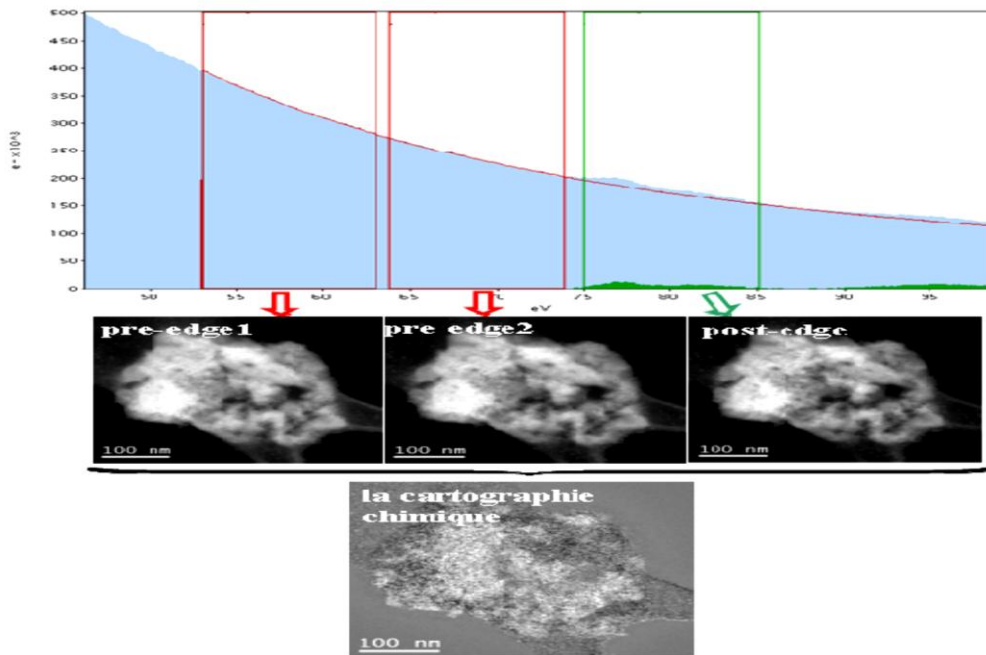
Tel que: F : fonction d'approximation du fond

E : Les énergies filtrées

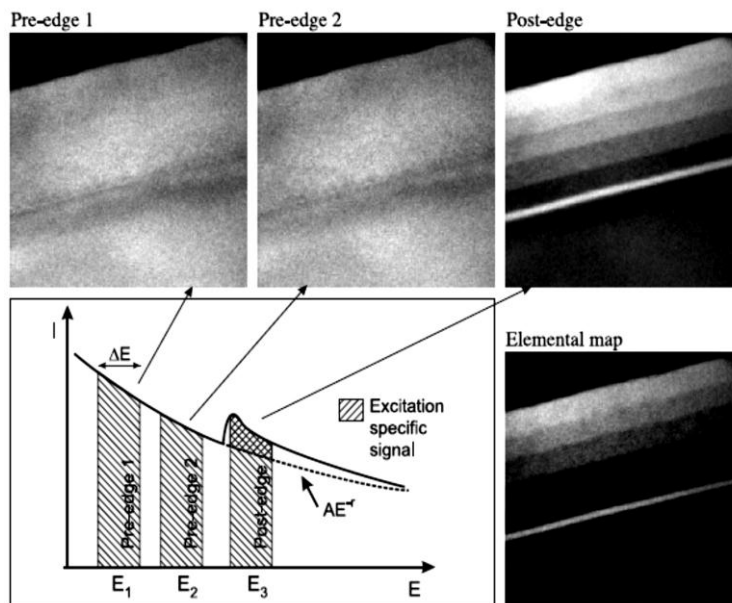
A Et r des paramètres qui dépendent de l'élément chimique.

Une fois le fond modélisé et calculé au niveau de l'énergie de la fenêtre "post-edge", il est soustrait de l'image correspondante, c'est-à-dire de l'image "post-edge", l'image ainsi obtenue est une cartographie chimique car l'intensité en chacun de ses pixels est proportionnelle à la concentration de l'élément ayant son seuil d'ionisation dans la fenêtre post-edge, la Figure I.8 illustre le principe de la méthode des trois fenêtres [18], la Figure I.9 en montre le principe d'EFTEM.

Cependant, dans certains domaines comme l'étude de la structure des virus, nous cherchons à former une reconstruction en trois dimensions (3D) de l'objet, une technique permettant l'acquisition de ce type de données est la tomographie électronique, son principe consiste à reconstruire des structures en trois dimensions à partir d'une ou de plusieurs séries de projections en deux dimensions, son atout essentiel est la capacité de retrouver la troisième dimension de l'objet, donc de récupérer des informations qui sont perdues en microscopie conventionnelle 2D. En inclinant l'échantillon à l'aide du goniomètre du microscope à différents angles d'inclinaison précis (appelés « angles de tilt ») et en réajustant à chaque reprise la mise au point de la projection, on obtient une série de projections de ce même échantillon, cette série va nous permettre ensuite de remonter à une reconstruction 3D de l'objet à l'aide de différents algorithmes capables de passer d'un ensemble de projection à une représentation volumique.



(a)



(b)

Figure. I.8 Principe de la méthode des trois fenêtres.
 (a) Fonction exponentielle de modélisation du fond
 (b) Images des trois énergies

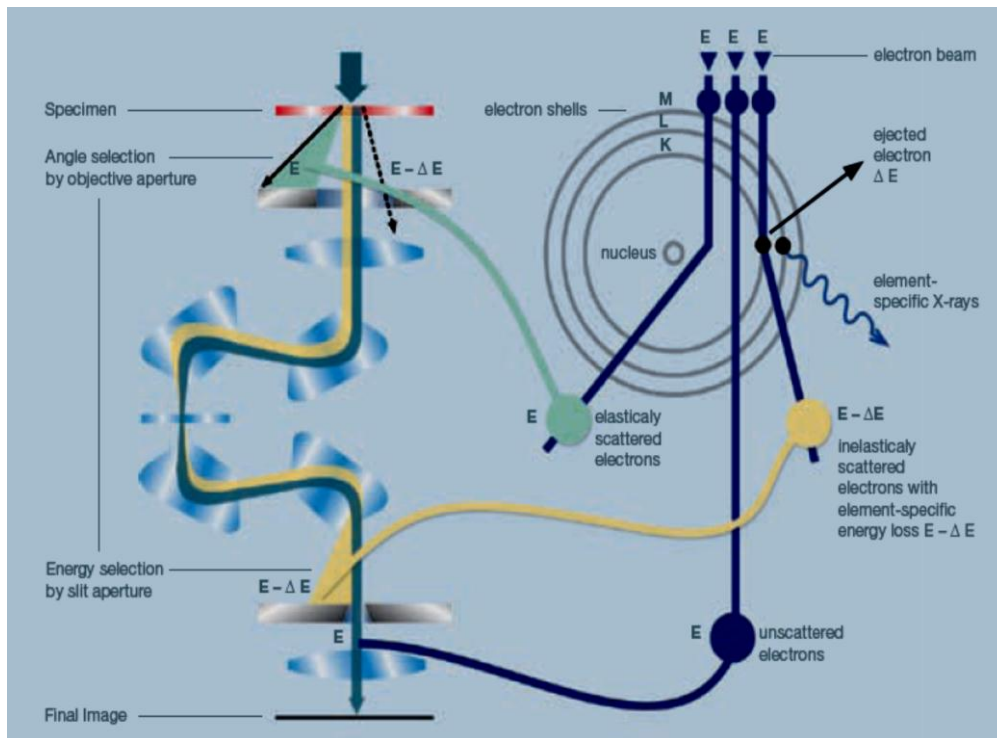


Figure I.9 Principe de la microscopie électronique à imagerie filtrée en énergie EFTEM.

La résolution finale dans le volume reconstruit dépend essentiellement du nombre des projections acquises et de l'angle maximal de tilt, mais également des caractéristiques de l'objet, finalement l'analyse du volume consiste à visualiser et extraire les parties à analyser et calculer les paramètres d'intérêt [17], par rapport à la tomographie aux rayons X, elle possède une bien meilleure résolution allant jusqu'en dessous du nanomètre pour les échantillons suffisamment minces et contrastés.

I.6 Logiciel Destine A La Microscopie Electronique

Il existe plusieurs logiciels spécialisés dédiés essentiellement à la tomographie électronique, grâce à l'essor de la tomographie électronique dans les dernières années, de plus en plus d'équipes de chercheurs s'intéressent aujourd'hui au développement ou à l'adaptation des logiciels spécialisés parmi lesquels certains sont même mis gratuitement à la disposition des utilisateurs, à titre d'exemple nous pouvons mentionner :

- **IMOD**

IMOD est un ensemble de programmes de traitement d'image, de modélisation et de visualisation utilisés pour la reconstruction tomographique et pour la reconstruction 3D des EM sections série et sections optiques, le paquet contient des outils pour le montage et l'alignement des données au sein de plusieurs types et tailles de piles d'images, la visualisation des données 3-D de toute orientation, et de la modélisation et l'affichage des fichiers d'image. IMOD a été développé principalement par David Mastronarde, Rick Gaudette, Sue Held, Jim Kremer, Quanren Xiong, et John Heumann à l'Université du Colorado.

- **TOM Toolbox**

Tomographie Toolbox est une collection de fonctions qui étendent la capacité du MATLAB (+ Image Processing Toolbox) environnement informatique numérique, la boîte à outils prend en charge une large gamme de fonctions pour la tomographie, presque toutes les fonctions de la boîte à outils sont MATLAB M-Files, une série de déclarations MATLAB qui mettent en œuvre des algorithmes spécialisés.

Dans ce mémoire, nous avons exploité le logiciel TomoJ 2.17 pour comparer les résultats de simulations que nous avons développé en Matlab.

- **TomoJ**

TomoJ est un logiciel de reconstruction 3D développé en java, par l'Institut Curie à Paris, sous forme d'un plug-in d'ImageJ, Il permet d'aligner les séries d'images avec une correction automatique des translations par corrélation croisée, il est possible de choisir d'appliquer le calcul sur toute l'image ou sur une région d'intérêt. TomoJ propose également une éventuelle correction des rotations par corrélation croisée mais les résultats de quelques essais restent non satisfaisants par rapport à la méthode de

suivi de marqueurs, par ailleurs ce logiciel permet d'affiner les corrections manuellement en suivant des détails le long de la série, les utilisateurs doivent fournir les positions d'objets présents dans toutes les images de la série, comme la trajectoire de tout point de l'échantillon doit suivre une droite perpendiculaire à l'axe d'inclinaison, toutes les trajectoires décrites par les positions des objets donnés par l'utilisateur sont linéarisées au mieux. Ce même principe est utilisé pour déterminer l'axe d'inclinaison.

En ce qui concerne la reconstruction tomographique, malgré le temps de calcul assez long par rapport à d'autres logiciels, TomoJ reste le seul logiciel libre proposant différents algorithmes de reconstruction : rétroprojection (Back Projection), rétroprojection pondérée (Weighted Back Projection), ART et SIRT.

Nous avons exploité ce logiciel en utilisant deux séries d'images réelles : La première série (image STEM) qui est prise en mode STEM, la deuxième série d'images (image EFTEM), représente deux éléments chimiques : carbone et oxygène. Pour mieux comprendre les fonctionnalités du logiciel TomoJ, nous présentons dans ce qui suit, quelque fenêtre d'exécution. Pour utiliser TomoJ on doit d'abord ouvrir la série d'inclinaison comme une pile, puis on lance TomoJ depuis imageJ comme c'est illustré dans la Figure I.10 une fenêtre apparaît pour demander des angles d'inclinaison, l'interface de TomoJ est découpée en plusieurs parties : La partie supérieure contenant une sorte de menu, et la partie inférieure contient les onglets correspondant aux différentes étapes de calcul :

- Data Informations
- pré-processing
- Align tilt séries
- Reconstruction
- Post-processing

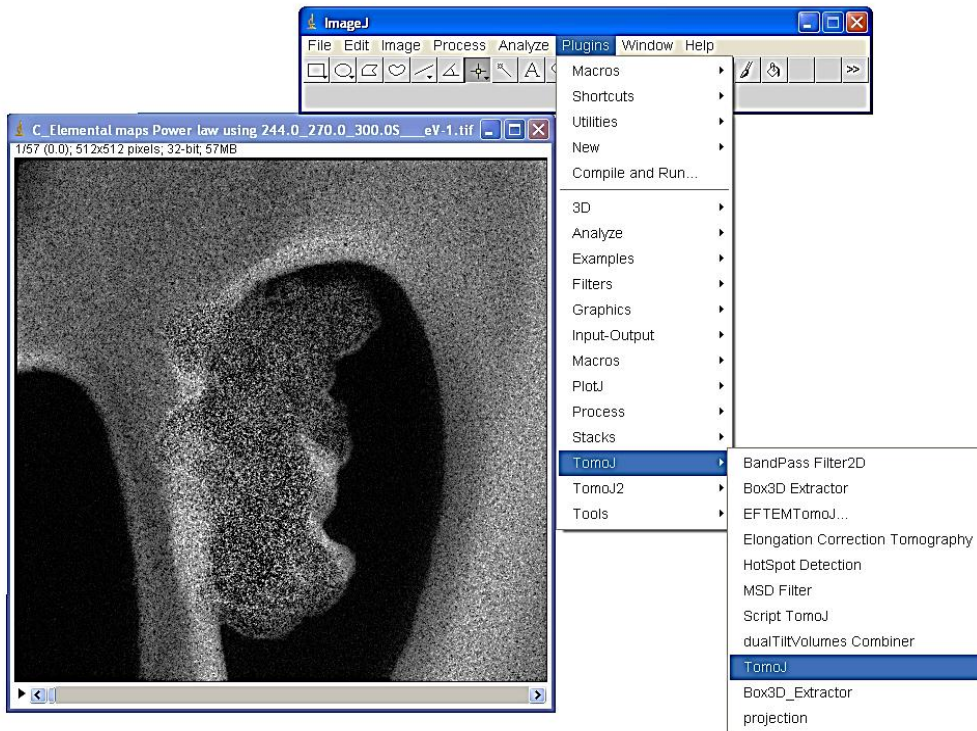


Figure I.10 L'ouverture de TomoJ sous le plug-in de l'ImageJ

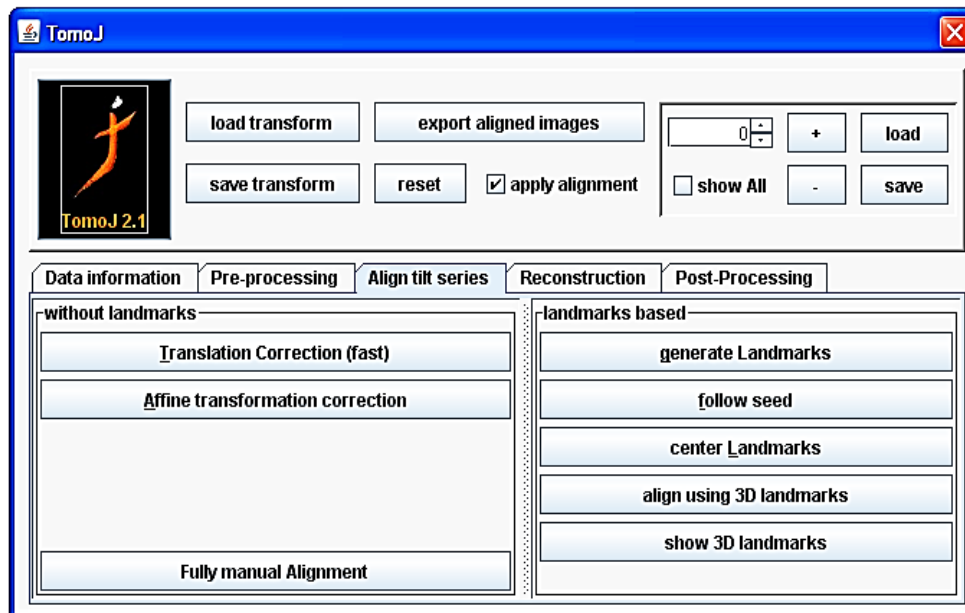


Figure I.11 Interface du TomoJ

I.7 Conclusion

Nous avons présentée dans ce chapitre la tomographie sous tous ses aspects, nous avons dans un premier temps, consacré toute une partie à définir ce qu'est la microscopie électronique, quel en est le principe physique de base ainsi qu'à la description détaillée des trois modes : microscopie conventionnelle, microscopie STEM et microscopie EFTEM.

Les images EFTEM sont de nature très bruitées et elles nécessitent un prétraitement particulier avant la reconstruction tomographique, nous avons mentionné que la tomographie électronique trouvait son utilité dans de très nombreux et très variés domaines d'application.

A la fin de cette partie, nous avons exposé un des logiciels destinés à la tomographie électronique, le logiciel TomoJ.

Dans le chapitre suivant, nous détaillerons les procédures d'alignement d'une série d'images, particulièrement, nous mettrons l'accent sur ses méthodes.

II.1 Introduction

Afin de pouvoir comparer des objets présentant des caractéristiques similaires, il est nécessaire de trouver un système de coordonnées unique pour les représentées, en effet les courbes ou les images à analyser ne peuvent pas être observées sur les mêmes domaines ou les mêmes plans, les images microscopiques qui nous intéressent dans ce travail, où sont un exemple typique, si l'on devait résumer l'alignement d'images en une phrase, on pourrait dire que cela consiste à déplacer ou à déformer une image de manière à ce qu'elle ressemble à une autre, les algorithmes d'alignement sont de ce fait assez nombreux et variés, faire un état de l'art des différentes méthodes d'alignement s'avère donc délicate, en effet la pléthore des approches et des inspirations, des formalismes et des cadres de travail, des applications et des évaluations, due en partie à la relative absence de comparaison entre algorithmes, peut être paralysante, cependant, nombre d'auteurs se sont attelés à cette lourde tâche, on citera par exemple Woods [19], Hill [20] ou encore Collignon [21], plus précisément, les approches basées sur les intensités des images furent introduites par Woods en 1992 [19], l'alignement était alors effectué en minimisant la variance des rapports d'intensités des images, tout de suite après, Hill [22] introduit la notion d'histogramme joint. Dans le même groupe, Van den Elsen publie une méthode d'alignement par corrélation [23]. Collignon [21] et Studholme [24] proposent d'utiliser l'entropie comme mesure d'alignement, la même année, Viola [25] et Collignon [26], trouvent simultanément une approche basée sur l'information mutuelle.

Pour résumer, deux grandes classes de méthodes d'alignement peuvent être distingués, à savoir: méthodes basées sur des mesures statistiques et méthodes des marqueurs, traditionnellement, des marqueurs, ou des points préalablement mis en évidence étaient utilisés pour aligner des images multimodales.

Le travail effectué dans ce mémoire vise à participer à l'état de l'art relatif à l'alignement des images en étudiant le problème d'alignement des signaux 2D, en se basant sur les méthodes d'alignement basées sur des mesures statistiques, les signaux considérés dans ce travail, seront des signaux 2D, afin d'illustrer plus précisément le problème d'alignement, nous proposons de présenter un exemple généré par simulation et deux exemples réels qui seront étudiés plus en détail par la suite:

- **Exemples générés par simulation:** la Figure II.1 illustre une des images tirées de la bibliothèque Toolbox Matlab. Pour simuler le problème d'alignement, nous créons une

paire d'images désalignées en insérant un déplacement par translation (x, y) sur l'une des images.

- **Exemples réels:** il s'agit de deux séries d'images microscopiques en deux modes STEM et EFTEM qui nécessite déjà, sans avoir besoin à effectuer des transformations, une étape d'alignement avant la reconstruction 3D, ces exemples seront détaillés dans le Chapitre 3. La Figure II.2 illustre une image microscopique STEM d'une série de tilt de 91 copies de taille 512×512 pixels chacune.

Il convient avant de détailler ces deux classes, de préciser le principe d'alignement.

II.2 Principe D'alignement

Le problème d'alignement de deux signaux I_1 et I_2 , consiste donc à trouver la transformation qui aligne exactement les deux signaux, dès lors un certain nombre de questions viennent à l'esprit : quelles informations utiliser pour guider l'alignement? Comment définir la ressemblance entre deux images? Comment déformer une image? Comment trouver la meilleure déformation? Ces questions mènent aux formalismes suivant: L'alignement consiste à déterminer une transformation \hat{T} telle que:

$$\hat{T} = \underset{T}{\operatorname{argmax}} S(f_1(I_2), f_2(T(I_2))) \quad (\text{II.1})$$

- $I_2 \approx T(I_2)$: La transformation ou la déformation doit être telle que l'écart entre les fonctions I_1 et $T(I_2)$ soit le plus petit possible au sens d'une certaine mesure de dissimilarité entre deux signaux. Inversement, cette transformation doit être telle qu'une mesure de similarité entre les fonctions I_1 et $T(I_2)$ soit maximale.
- T soit suffisamment régulière afin que les caractéristiques de la fonction I_2 soient conservées avec la déformation.



(a)



(b)

Figure II.1 Exemples générés par simulation

(a) Image originale

(b) Image décalée par translation

- f_1 et f_2 les fonctions extrayant des caractéristiques des images, comme nous le verrons dans l'équation (II.17).
- S est une fonction de similarité, définie sur l'espace des caractéristiques extraites par f_1 et f_2 .
- "argmax" la procédure d'optimisation de la mesure de similarité, recherchant le maximum dans l'espace de recherche défini par les paramètres de T , si au contraire, S

est une mesure de dissimilarité, cette procédure sera alors "argmin", recherchant le minimum dans l'espace de recherche défini par les paramètres de T.

Dans notre étude, les signaux I_1 et I_2 représentent une paire d'images successives de la série de tilt, telle que I_1 est considérée comme image de référence, lorsque l'on souhaite aligner un ensemble de m signaux, pour notre cas m images d'une série de tilt (I_1, I_2, \dots, I_m).

Le but est de trouver m transformations (que ce soit translation ou rotation) suffisamment régulière, telles que les fonctions déformées (les images alignées : $T(I_1)$ et $T(I_2)$) soient alignées de manière optimale par rapport à une certaine mesure de dissimilarité ou au contraire à une certaine une mesure de similarité [27].

Dans le prochain paragraphe nous détaillerons les différentes techniques d'alignement.

II.3 Techniques D'alignement De L'image

Il existe deux grandes classes des méthodes d'alignement, les méthodes basées sur des mesures statistiques (Cross Corrélation) et les méthodes basées sur les marqueurs (land marks).

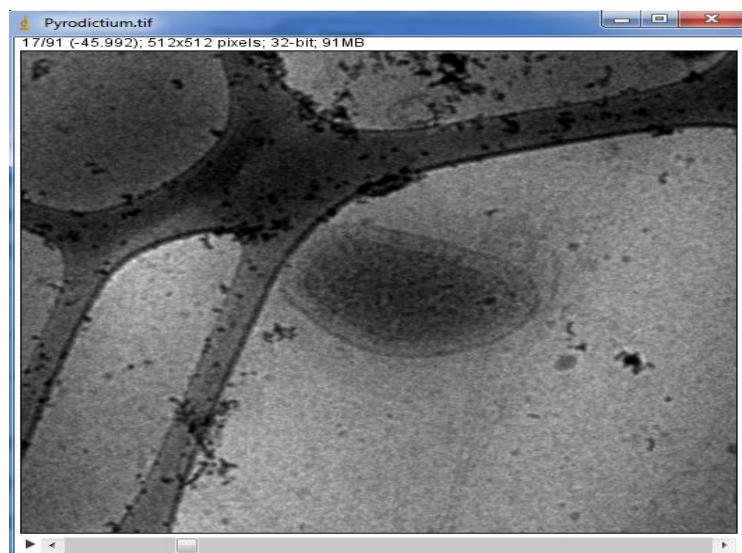
II.3.1 Méthodes Basées Sur Des Mesures Statistiques

❖ Méthode De Corrélation Croisée

La corrélation d'images est indispensable pour aligner les séries de projections avant la reconstruction tomographique. D'autre part elle est utilisée pour calculer le champ de déformation. Formellement, on note $I_{j,xy}$ la valeur du pixel aux coordonnées spatiales (x,y) dans les images parmi J images d'une série de tilt, pour les valeurs entières de $x = 0, \dots, (K - 1)$ et $y = 0, \dots, (L - 1)$.



(a)



(b)

Figure II.2 Images microscopique STEM "Pyrodictium"

(a) Image n°10 de la série de tilt

(b) Image n°17 de la série de tilt

$$I_{j,xy} = I_j(x,y) \quad (\text{II.2})$$

De plus, on assume que $I_j(x, y)$ est une réalisation de J processus stochastiques stationnaires corrélés sur le domaine rectangulaire 2D délimité par $0 \leq x < K$ et $0 \leq y < L$, la transformée de Fourier $F(I_{j,xy})$ de $I_{j,xy}$ est alors:

$$F(I_{j,xy}) = \sum_{x=0}^{K-1} \sum_{y=0}^{L-1} I_{j,xy} \exp\left(-i2\pi\left(\frac{xk}{K} + \frac{yl}{L}\right)\right) \quad (\text{II.3})$$

Et la transformée de Fourier inverse est:

$$F^{-1}(I_{j,xy}) = \frac{1}{KL} \sum_{k=-\frac{K}{2}}^{\frac{K}{2}-1} \sum_{l=-\frac{L}{2}}^{\frac{L}{2}-1} I_{j,xy} \exp\left(2\pi i\left(\frac{xk}{K} + \frac{yl}{L}\right)\right) \quad (\text{II.4})$$

i Dénote $\sqrt{-1}$

Et:

$$\left(\omega_{1,k}, \omega_{2,l}\right)^T = 2\pi\left(\frac{k}{K}, \frac{l}{L}\right)^T \quad (\text{II.5})$$

Les translations dans le domaine spatial sont équivalentes à des différences de phase dans le domaine de Fourier (propriété de translation de la TF), alors si les images sont désalignées due à des translations, comme dans le cas des images microscopiques de notre étude, la phase spectrale sera des fonctions linéaires de ω . Plus précisément, si l'image I_j est désalignée par rapport à l'image I_i avec une translation de $\mu_j \equiv (\mu_{1j}, \mu_{2j})^T$ pixels (i.e. μ_{1j} dans la direction des x et μ_{2j} dans la direction des y), donc le désalignement entre les deux images I_i et I_j sera:

$$\mu_{ij} \equiv (\mu_i - \mu_j)^T \quad (\text{II.6})$$

Et :

$$\Phi_{ij,kl} = \omega_{kl}^T (\mu_i - \mu_j)^T \text{ mod } 2\pi \quad (\text{II.7})$$

L'algorithme d'alignement par corrélation croisée entre deux images I_i et I_j , réside donc dans la recherche du vecteur μ_{ij} pour lequel la fonction de corrélation présente un pic.

Soient deux images I_1 et I_2 que nous souhaitons aligner précisément suivant le même axe, la première étape consiste à calculer les transformées de Fourier $F(I_1)$ et $F(I_2)$ des deux

images I_1 et I_2 respectivement, ensuite nous obtenons une nouvelle image en prenant la transformée de Fourier inverse du produit de $F(I_1)$ par le conjugué de $F(I_2)$, sur cette image, il suffit de détecter la position du pic d'intensité maximum: cette position par rapport au centre de l'image donne le vecteur déplacement de I_2 par rapport à I_1 comme c'est illustre dans la Figure II.3 [28].

Rappelons pour mémoire, que la fonction de corrélation croisée entre deux images I_i et I_j , qui est une mesure de similarité, est définie par:

$$C(x, y) = \sum_s^i \sum_t^j I_i(s, t) I_j(x + s, y + t) \quad (\text{II.8})$$

Dans un souci de clarification, nous présentons l'exemple illustré dans la Figure II.4 dont on présente le principe d'alignement par corrélation croisée tel que le résultat final est une carte bidimensionnelle dont la taille correspond à celle des images d'origine et qui possède un pic de corrélation qui correspond à la translation de I_2 pour laquelle les deux disques se superposent parfaitement, la position du pic par rapport à l'origine (centre de la carte) correspond au vecteur de translation à appliquer pour recentrer l'image I_2 par rapport à l'image I_1 , pour les aligner l'une par rapport à l'autre, la deuxième image est translaturée à une position qui correspond à la meilleure ressemblance entre les deux, de plus, le calcul du coefficient de corrélation fournit pour chaque déplacement relatif une bonne évaluation de la similarité entre les deux images considérées, ce coefficient entre I_1 et I_2 est défini comme suit:

$$\rho(I_1, I_2) = \frac{\text{Cov}(I_1, I_2)}{\sigma_1 \sigma_2} \quad (\text{II.9})$$

Tel que: $\text{Cov}(I_1, I_2)$ est la covariance entre I_1 et I_2 , σ_1 , σ_2 sont les écarts type des images I_1 et I_2 respectivement.

Dans notre étude, le calcul est répété pour chaque binôme de deux images successives de la série de tilt.

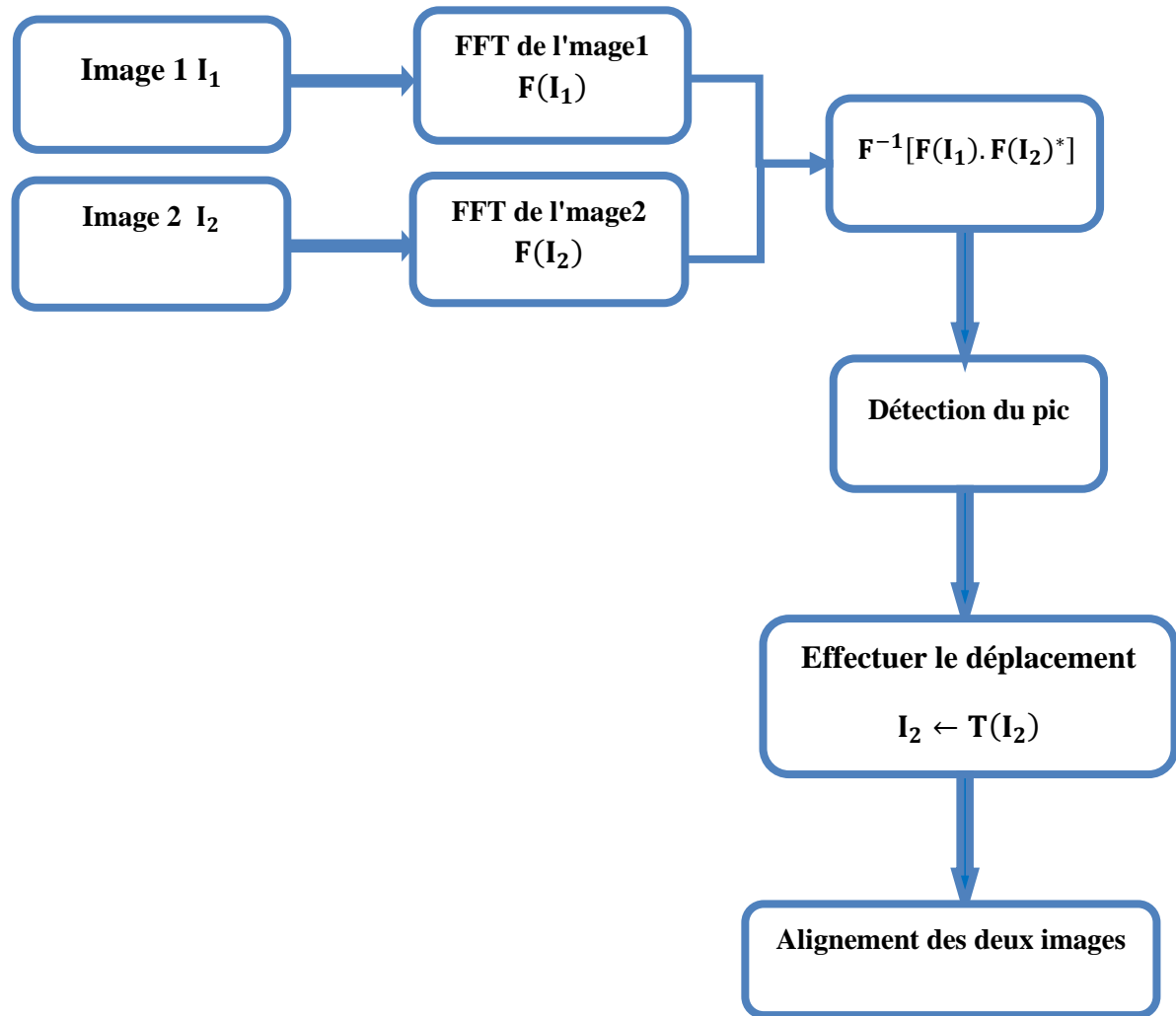


Figure II.3 Algorithme d'alignement des images par corrélation croisée.

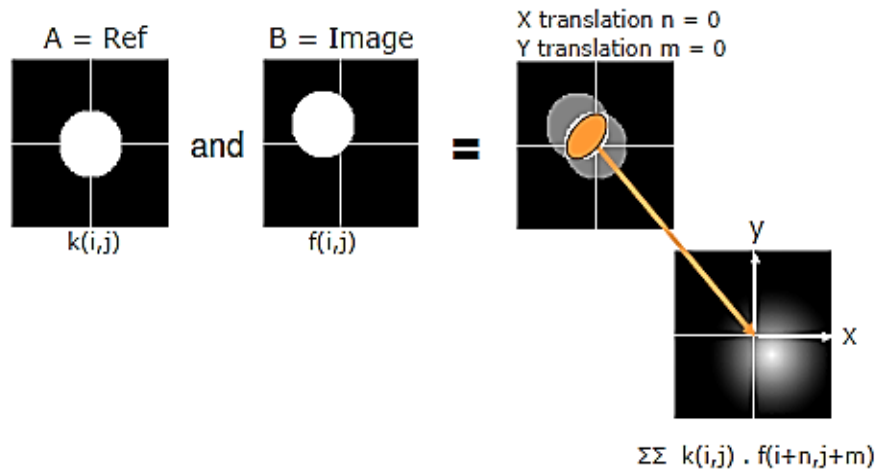


Figure II.4 Exemple d'alignement de deux images par corrélation croisée.

Avantages et inconvénients :

Dans ce paragraphe, nous allons examiner les avantages et les inconvénients de cette méthode (Corrélation croisée), et je vais les mentionnés brièvement.

- **Les avantages :**
 - ✓ Automatique.
 - ✓ Rapide.
 - ✓ Pas toujours performant dû au changement d'angle.
 - ✓ Possibilité de jouer avec des filtres pour améliorer l'alignement.
- **Les inconvénients :**
 - ✗ Autosimilarité de l'image.
 - ✗ Temps de calcul assez long.
 - ✗ Problème de propagation d'erreur.

II.3.2. Techniques d'Alignement Basées sur les Marqueurs (Landmark)

Les lands marks sont désignés par un ensemble de points caractéristiques de la forme d'un signal. Pour une courbe il peut s'agir de la position de maxima, de minima, de points d'inflexion ou encore de singularités. Pour une image représentant un visage, les positions des yeux, des oreilles, du contour de la bouche sont des exemples classiques de land marks en 2D,

pour une image microscopique représentant une cellule biologique, les membranes du noyau sont généralement choisies pour positionner les lands marks.

Les méthodes d'alignement à partir de Landmark visent à calculer des transformations qui mettent en correspondance les Landmark qui sont communs à un ensemble de signaux devant être recalés, les Landmark des signaux qui caractérisent les mêmes structures, se trouvent ainsi à la même position après déformation, la Figure II.5 illustre le principe d'alignement par marqueurs.

Généralement, en tomographie électronique on utilise des billes d'or de différentes tailles en fonction du grandissement auquel on travaille, leur avantage est d'être bien contrastées et d'avoir toujours la même forme pour toutes les directions d'observation et une taille suffisamment faible pour repérer leurs positions avec peu d'incertitude, en utilisant ce modèle géométrique nous pouvons d'une part, effectuer un alignement beaucoup plus précis et d'autre part, appliquer à la série de projections les corrections évoquées ci-dessus, à condition que les billes soient réparties sur toute l'image [29].

- **La Synthèse**

la méthode de les marqueurs est très utilisée pour l'alignement d'images pour plusieurs raisons principales, l'un d'eux est pour déterminer à l'aide des transformations affines où le point devrait se situer sur l'image précédente (ou suivante), si le score de corrélation est supérieur au seuil défini, ce nouveau point est accepté et utilisé comme graine pour l'image précédente (ou suivante), est les positions sont une nouvelle fois affinées en suivant les points dans un sens puis dans l'autre.

Dans ce processus pour Affiner la position (en translation) par corrélation croisée locale, alors qu'il Tout point n'ayant pas le score de corrélation adéquat (seuil) est rejeté, et la dernière vérification se fait sur la longueur de la chaîne de point ainsi obtenu.

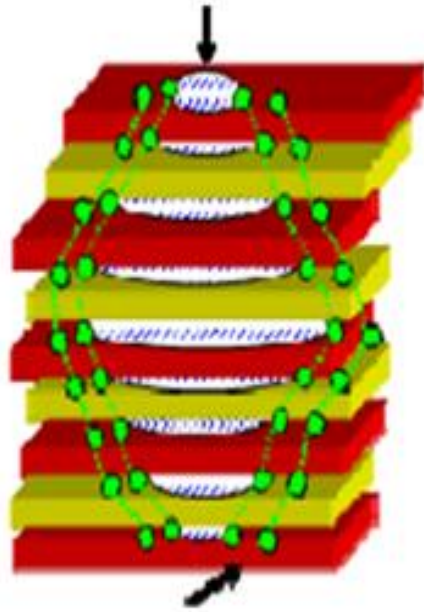


Figure II.5 Alignement de la série de projections en utilisant des marqueurs repères (leurs positions sont représentées par les points verts) ; les images sont traduites et corrigées

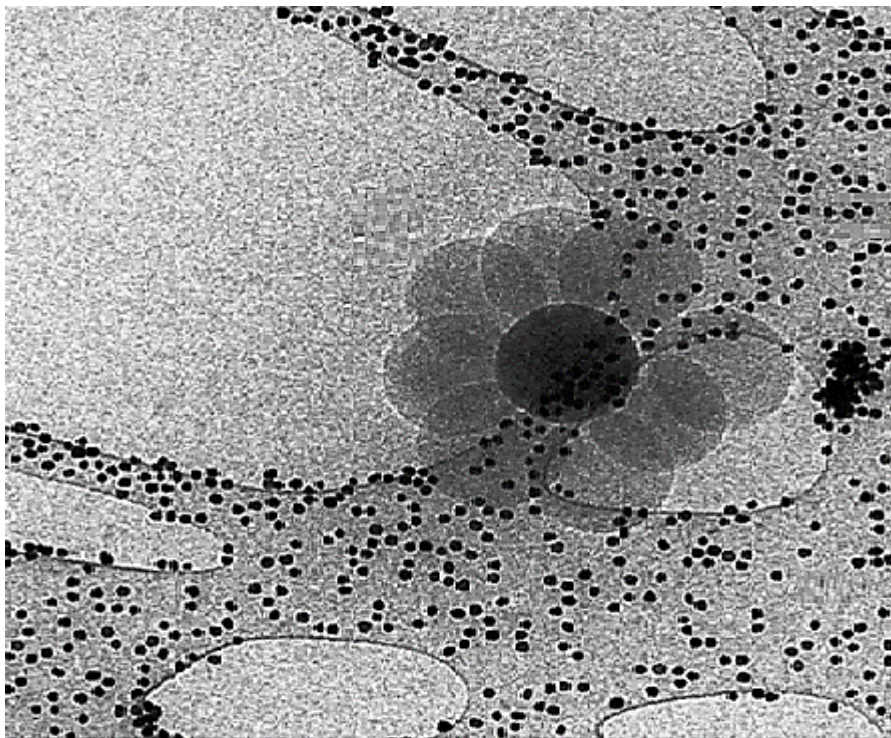


Figure II.6 Alignement de cellule à l'aide des marqueurs

Également ces méthodes (Landmark) présentent de nombreux avantages et inconvénients :

- **Les avantages :**
 - ✓ Grande qualité d'alignement.
 - ✓ Nécessité d'avoir des marqueurs (en quantités suffisante et uniformément répartis).
 - ✓ Suivre les marqueurs sur toute la série.
 - ✓ Aide possible à la sélection des marqueurs.
- **Les inconvénients :**
 - ✗ La complexité de suivre les marqueurs sur toute la série d'images.

La corrélation d'image par cette approche consiste à déterminer cette valeur de translation et à l'appliquer à l'image à aligner pour l'amener en coïncidence avec l'image de référence [30],[31].

De plus, la méthode de corrélation d'images présente de nombreux avantages [32], premièrement le calcul s'effectue sur tous les pixels de l'image plutôt que sur un nombre limité de mesures de position de marqueurs, il devrait donc être plus fiable, deuxièmement, la corrélation peut être appliquée sur une région d'intérêt de l'échantillon alors que les marqueurs sont souvent déposés sur le film support, en plus l'alignement basé sur le suivi de marqueurs est sensible à la distorsion de film support pendant la phase d'acquisition, troisièmement, il n'y a pas de phase d'identification des marqueurs et de mesure de leurs coordonnées.

Même si de nouveaux logiciels de reconstruction proposent l'automatisation de cette étape, souvent, l'intervention humaine reste nécessaire pour affiner les résultats.

Enfin, idéalement, dans la zone corrélée, l'échantillon devrait être entouré par un film uniformément dense, or ceci n'est pas toujours facile à obtenir lors des préparations d'objets biologiques avec un marquage négatif pour révéler des contrastes.

II.4 Techniques Développées (l'Information Mutuelle)

II.4.1 Entropie

Il convient, avant d'aborder la méthode d'alignement par information mutuelle, de rappeler quelques définitions de base.

L'entropie est la quantité d'information contenue dans une série d'événements, une image A est par exemple constituée d'une série d'événements, des pixels, ayant tous une probabilité p_i et une intensité i .

Plus une image est complexe, plus son entropie $H(A)$ est grande, Shannon propose une définition de l'entropie telle que :

$$H = \sum_i p_i \log \frac{1}{p_i} = - \sum_i p_i \log p_i \quad (\text{II.10})$$

La première expression montre bien que plus un élément est rare, plus il a de signification, si une image est constituée de pixels de plusieurs tons de gris, l'image transporte une information plus importante qu'une image d'un ton unique, la définition de Shannon de l'entropie indique l'information moyenne que l'on peut s'attendre de chaque élément de l'image.

II.4.2 Information mutuelle

L'information mutuelle $IM(A, B)$ de deux images A, B, possède 3 définitions équivalentes, chacune d'elles permet d'expliquer différemment l'information mutuelle.

La première utilise la différence de l'entropie d'une image A et de l'entropie de la même image A sachant une autre image B :

$$IM(A, B) = H(A) - H\left(\frac{A}{B}\right) = H(B) - H\left(\frac{B}{A}\right) \quad (\text{II.11})$$

Ici, $H(A)$ mesure l'information contenu dans l'image A, tandis que $H(A/B)$ mesure la quantité d'information contenu dans l'image A lorsque l'image B est connue, l'information mutuelle correspond donc à la quantité d'information que l'image B possède sur l'image A, similairement, la quantité d'information que l'image A possède sur l'image B.

La seconde définition est basée sur deux distributions p_a et p_b :

$$IM(A, B) = \sum_{a,b} p_{ab} \log \frac{p_{ab}}{p_a p_b} \quad (\text{II.12})$$

Soit la mesure entre la distribution p_{ab} des images A et B et la distribution $p_a p_b$ où les images A et B sont indépendantes, cette définition de l'information mutuelle mesure donc la dépendance des images A et B. Il y aura recalage lorsque les images A et B sont le plus semblables [33].

La troisième définition de l'information mutuelle est une combinaison des entropies de deux images, séparées et jointes :

$$IM(A, B) = H(A) + H(B) - H(A, B) \quad (\text{II.13})$$

Les entropies séparées $H(A)$ et $H(B)$ mesurent la complexité des images A et B, l'entropie jointe $H(A, B)$ mesure la quantité d'information que les images A et B apportent en même temps, si les images A et B sont proches, la première image explique bien la seconde, et l'entropie jointe est minimale, l'entropie jointe est plus précisément l'entropie de l'histogramme joint des images A et B, cet histogramme répertorie la correspondance des intensités des pixels entre deux images, maximiser l'information mutuelle selon cette troisième définition revient donc à dire que le plus d'information est recherchée dans chaque image, tout en cherchant à faire ressembler les images A et B.

Une normalisation de l'information mutuelle utilisant une fraction de deux termes dépendant de la surface commune des deux images :

$$IMN(A, B) = \frac{H(A)+H(B)}{H(A,B)} \quad (\text{II.14})$$

Le recalage par maximisation de l'information mutuelle en utilisant la définition de Shannon pour l'entropie ne tient pas compte de l'information spatiale des images, en effet en réorganisant aléatoirement des paires de pixels dans deux images, la valeur de l'information mutuelle est la même que celle des deux images originales, chercher à maximiser l'information mutuelle des gradients des images permettrait de tenir compte de l'information spatiale, par contre, le maximum de l'information mutuelle survient lorsque les gradients des

deux images sont recalés, les maximums à rechercher sont donc plus étroits, et par conséquent plus difficiles à rechercher en pratique.

Ce problème à amener l'introduction de l'information des gradients des images dans la fonction à maximiser [34]. Il est en effet attendu que les gradients des images représentant un même objet soient similaires, du moins dans les mêmes directions, ainsi pour tout point x de l'image A et sa correspondance $x' = T(x)$ dans l'image B, on cherche à ce que les gradients $\nabla A(x)$ et $\nabla B(x')$, aient les mêmes directions, pour un angle α , l'angle entre les gradients $\nabla A(x)$ et $\nabla B(x')$, la fonction $\cos(2\alpha)$ favorise des gradients de même orientation.

Cette fonction est en effet maximale lorsque l'angle α est proche de 0 ou de α , ainsi, pour un même point (x, x') dans deux images (A, B), les gradients de même orientation sont obtenus en maximisant la fonction suivante :

$$W(\alpha) = \frac{1}{2} (\cos(2\alpha) + 1) \quad (\text{II.15})$$

En outre, afin d'améliorer les gradients qui apparaissent dans toutes les images, et de pénaliser les cas où le gradient est fort que dans une image, il sera possible de multiplier la fonction $W(\alpha)$ par le minimum des normes des deux gradients, la sommation de cette fonction sur chaque pixel de l'image donne le terme de l'information du gradient :

$$G(A, B) = \sum W(\alpha) \min(|\nabla A(x)|, |\nabla B(x')|) \quad (\text{II.16})$$

En introduisant l'information spatiale des images A et B, la mesure du recalage est améliorée, maximiser ce terme favorisera le recalage des contours des images, il est à noter que dans cette expression, le terme min rend cette fonction discontinue.

L'information du gradient telle que définie ici ne possède donc pas de dérivée, pour maximiser ce terme, il utilisera des méthodes numériques, en combinant l'information du gradient $G(A, B)$ l'information mutuelle $IM(A, B)$, maximiser la vraisemblance T est donnée par :

$$T = \operatorname{argmax} G(A, B) IM(A, B) \quad (\text{II.17})$$

Cette expression, non continue, ne peut être résolue théoriquement en annulant sa dérivée, la recherche du maximum de vraisemblance T se fera donc en utilisant une méthode numérique, telle que celle de Powell.

L'utilisation de l'information mutuelle n'est pas affectée par l'utilisation d'intensités différentes dans le cadre d'un recalage multimodal, en effet si deux images représentent une même structure anatomique, une image contiendra forcément de l'information sur la seconde, il y aura de l'information mutuelle entre les deux images, l'utilisation d'intensités différentes dans les deux images se traduira dans une transformation de la distribution de l'entropie jointe, la valeur de l'entropie restera semblable, l'utilisation d'intensités différentes n'augmentera, ou ne diminuera pas la quantité d'information, la maximisation de l'information mutuelle est donc bien adaptée au recalage multimodal.

Après ce premier alignement considéré comme préliminaire, il est fortement conseillé d'appliquer à la série de projections un deuxième alignement encore plus précis, l'idée est d'aligner la série de projections en considérant toujours les mêmes repères tout au long de la série qui soient bien définis et identifiables, pour faire ceci.

II.5 Conclusion

Nous avons défini et détaillé le problème d'alignement sous tous ses aspects, nous avons, dans un premier temps, consacré toute une partie à définir ce qu'est l'alignement, quel en est le principe mathématique de base ainsi qu'à la description détaillée des deux grandes classes de méthodes de l'alignement à partir de données : les méthodes basées sur des mesures statistiques et les méthodes basées sur les Landmark, nous avons constaté que les mesures statistiques sont largement exploitées pour résoudre le problème d'alignement, nous avons également mis en lumière les avantages et les inconvénients des deux méthodes d'alignement.

Cependant, le choix de l'une de ces deux méthodes, doit être effectué en tenant compte de ses avantages et inconvénients, au regard des objectifs souhaités, pour conclure, aucune de ces méthodes ne peut être parfaite pour tout type d'images.

III.1 Introduction

L'objectif de ce chapitre est de présenter les résultats expérimentaux obtenus dans le présent travail et de les commenter tout en menant une étude comparative avec les résultats des méthodes d'alignement bien connus selon les critères d'évaluation adoptés, nous expliquer l'intérêt de la technique développée pour l'alignement des images, les travaux de ce mémoire ont essentiellement consisté à étudier les méthodes d'alignement des images, l'accent est mis sur les méthodes d'alignement basées sur des mesures statistiques.

Le but de ce chapitre est d'illustrer les performances des méthodes présentées dans ce manuscrit, à cet effet nous traitons plusieurs jeux de données synthétiques par différentes méthodes, dans ce chapitre nous avons d'abord traité les images synthétiques tirées de la bibliothèque du Matlab lorsqu'elles permettent une appréciation quantitative de l'alignement, avant de procéder à ces simulations, nous définissons les jeux de données sur lesquels nous évaluons l'ensemble de ces méthodes, nous avons travaillé sur les deux types d'images, images niveaux de gris tirées de la bibliothèque du Matlab et des images réelles microscopique EM (Electron Microscopy) selon les deux modes STEM et EFTEM, puis nous formalisons les critères de qualité de l'alignement, deux critères ont été calculés pour justifier la validité de nos approches, le premier critère est l'erreur quadratique moyenne (MSE) et le deuxième est la racine carrée de l'erreur quadratique moyenne (RMSE), nous discuterons les résultats de deux classes de méthodes d'alignement pour différents cas possibles.

III.2 Nature Des Données

Avant toute, nous devons nous rappeler que la tomographie électronique, parfois appelé le microscope électronique s'inscrit dans le type de la tomographie à transmission qui permet de résoudre les caractéristiques des nano-objets et de nanostructures dans les trois dimensions de l'espace, il s'agit des données de la microscopie électronique en deux modes STEM et EFTEM, les deux séries de tilt sont les projections acquises, c'est-à-dire des images qui n'ont subi aucun prétraitement ni transformation et sont fournies directement par le microscope électronique, ces images sont utilisées comme des images de test, des images en niveaux de gris tirées de la bibliothèque Toolbox Matlab sont également traitées.

III.2.1 Images Réelles Microscopiques EM (Electron Microscopy)

Nous avons utilisé deux séries de tilt d'images microscopiques en deux modes EFTEM et STEM.

•Images EFTEM

L'image EFTEM, en fait, est une série de 76 images 2D (appelée stack), sous format tif, de taille 256×256 pixels chacune, prises à des angles d'inclinaison allant de - 60° à +60° avec un pas d'incrément de 2°. Les images sont prises à différentes énergies : à 244ev, 270ev, 300ev, 470ev, 513ev et 558ev, le signal est considéré à 300ev, nous ouvrons ici une parenthèse pour dire que le choix de l'énergie du signal se base sur le tableau périodique des éléments chimiques, la Figure III.1 représente l'image EFTEM.

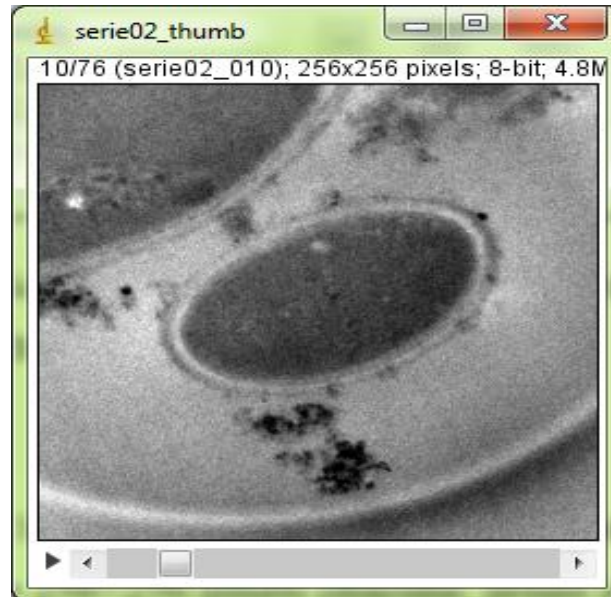


Figure III.1 d'image d'une série de tilt de 76 images de taille 256×256 pixels chacune en mode EFTEM

•Images STEM

L'image STEM représente la cellule pyrodictium comme c'est illustré dans la Figure III.2, cette stack est constituée de 91 images 512×512 pixels chacune, sous format tif prises à des angles d'inclinaison allant de -60° à $+60^\circ$ avec un pas d'incrément de 2° .



Figure III.2d'image d'une série de tilt de 91 images de taille 512 × 512 pixels chacune, en mode STEM

III 2.2 Images Niveaux De Gris De La Bibliothèque Toolbox Matlab

Nous avons choisi des images niveaux de gris tirées de la bibliothèque Toolbox du Matlab, version 7.11.0.(R 2010b) a): House (format png) de taille 256×256 pixels, b):Boat (format png) de taille 512x512 pixels et c): Cameraman (format tif) de taille 256x256 pixels, la Figure III.3 illustre ces images originales, pour ce type d'images, et pour illustrer le problème d'alignement, nous générons d'abord les images désalignées, pour appliquer enfin les différentes procédures d'alignement.



(a) Image House format PNG de taille 256 × 256 pixels



(b) Image Boat format png de taille 512×512 pixels



(c) Image Cameraman format tif de taille 256×256 pixels

Figure III.3 Images test originales tirées de la bibliothèque Toolbox Matlab

III.2.3 Critères D'évaluations

Il nous reste encore à estimer la validité, ou la qualité extrinsèque de ces méthodes, cette section est consacrée à la présentation de deux méthodes de validation des résultats, certaines méthodes permettent d'obtenir un résultat chiffré, d'autres sont basées sur une validation visuelle d'alignement, étant donné la grande diversité des algorithmes d'alignement, il est souvent difficile de les comparer quantitativement, enfin notons bien sûr que le meilleur moyen de comparer deux techniques.

• Erreur Quadratique Moyenne (Mean Squared Error)

Cette définition dépend du paramètre inconnu, et le MSE dans ce sens est une propriété d'un estimateur. Depuis un MSE est une attente, il est techniquement une variable aléatoire, cela étant dit, le MSE peut être une fonction de paramètres inconnus, dans ce cas, tout estimateur de l'EQM en fonction des estimations de ces paramètres serait une fonction des données et donc une variable aléatoire. Si l'estimateur est dérivé d'un échantillon statistique et est utilisé pour estimer certaines statistiques de la population, l'attente est par rapport à la distribution d'échantillonnage de l'échantillon statistique.

Le MSE peut être écrit comme la somme de la variance de l'estimateur et le biais quadratique de l'estimateur, fournissant un moyen utile pour calculer le MSE et ce qui implique que dans le cas des estimateurs sans le MSE et la variance sont équivalentes.

$$MSE = \frac{1}{M} \sum (\hat{f} - f)^2 \quad (\text{III.1})$$

Où f est l'image originale, \hat{f} est l'image alignée et M la taille de l'image.

• Racine Carrée De l'Erreur Quadratique Moyenne (Root Mean Squared Error)

La déviation racine carrée moyenne (RMSD) ou une erreur racine carrée moyenne (RMSE) est une mesure fréquemment utilisée des différences entre les valeurs prédite par un modèle ou d'un estimateur et les valeurs réellement observées, le RMSD représente l'écart type des différences entre les valeurs prédites et les valeurs observées, ces différences individuelles sont appelés résidus lorsque les calculs sont effectués sur l'échantillon de données qui a été utilisé pour l'estimation, et sont appelées erreurs de prédiction lorsque calculé hors échantillon, le RMSD sert à agréger les valeurs des erreurs dans les prévisions pour plusieurs reprises en une seule mesure de la puissance prédictive, RMSD est une bonne mesure de précision, mais seulement de comparer les erreurs de prévision de différents

modèles pour une variable particulière et non pas entre les variables, car il est dépendant de l'échelle.

Ce critère d'évaluation est donné par la relation suivante:

$$RMSE = \sqrt{\frac{1}{M} (\hat{f} - f)^2} \quad (\text{III.2})$$

Où f est l'image originale, \hat{f} est l'image alignée et M la taille de l'image.

III.3 Discussions Des Résultats

III.3.1 Méthodes d'Alignements Simulées

Dans cette section, nous présentons les résultats d'alignements par la méthode statistique: Méthodes basée sur la Corrélacion Croisée notée (CC), et celle techniques d'alignement basées sur les marqueurs (Landmark), des codes Matlab ont été écrit aux fins d'implémenter les algorithmes étudiés.

Les expériences ont été menées selon les paramètres suivants: pour les images Matlab, le désalignement a été d'abord provoqué par un déplacement de l'image originale selon l'axe des x par une quantité dx et un déplacement de l'image originale selon l'axe des y par une quantité dy.

Pour les images microscopiques, EFTEM ou STEM, le désalignement est déjà présent le long de la série de tilt, une étude comparative a été établie entre les résultats d'alignement obtenus par implémentation Matlab et le logiciel de tomographie électronique que nous avons adopté TomoJ.

A) Méthode d'Alignement de Corrélacion Croisée

La figure III.4 c'est un organigramme de programme sur Matlab de méthode cross corrélation (CC).

Les réponses visuelles de l'alignement sont illustrées sur les figures III.5 et III.6, ces figures représentent l'image désalignée et l'image alignée respectivement de l'image originale III.3(b).

Nous avons appliqué la méthode CC, développée sous **Matlab**, pour aligner l'image qui est décalée de l'image originale, sur l'axe x et l'axe y par les valeurs 15.00 et 20.00 respectivement, nous avons pris d'autres exemples de Toolbox Matlab illustrés dans les figures III.6-III.9.

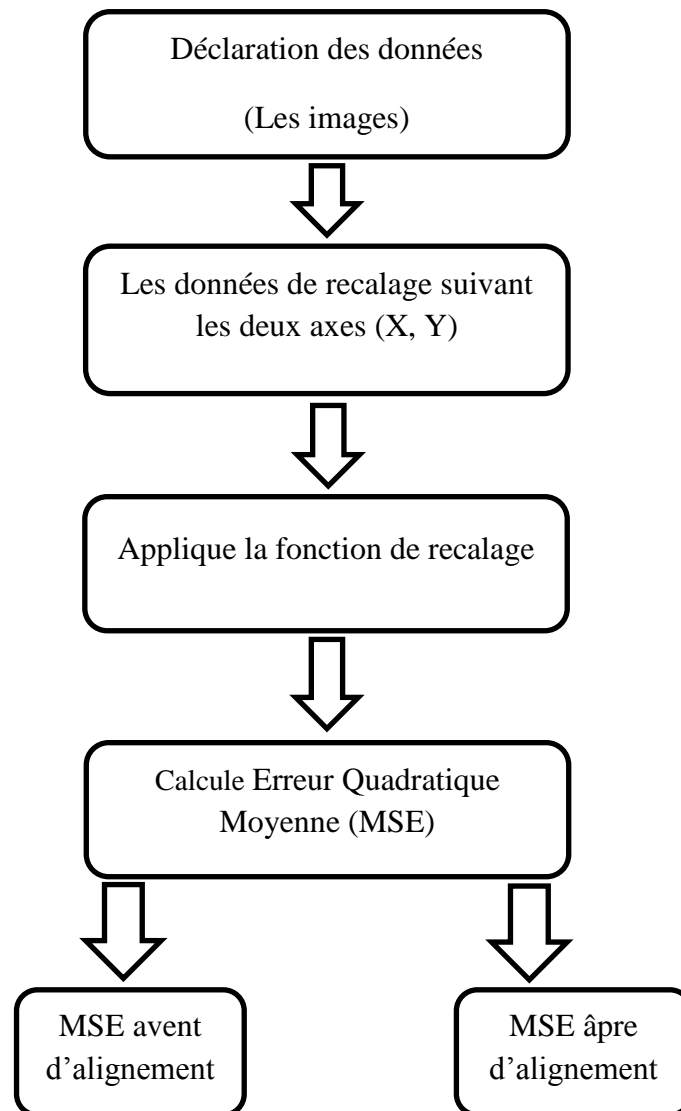


Figure III.4 Organigramme de méthode CC sur Matlab



Figure III.5 Image Boat désalignée ($d_x = 15.00, d_y = 20.00$)



Figure III.6 Image Boat alignée par CC

Shifted image, $g(x,y)$



Figure III.7 Image Cameraman désalignée ($d_x = 15.00, d_y = 20.00$)

Registered image, $gr(x,y)$



Figure III.8 Image Cameraman alignée par CC

Shifted image, $g(x,y)$

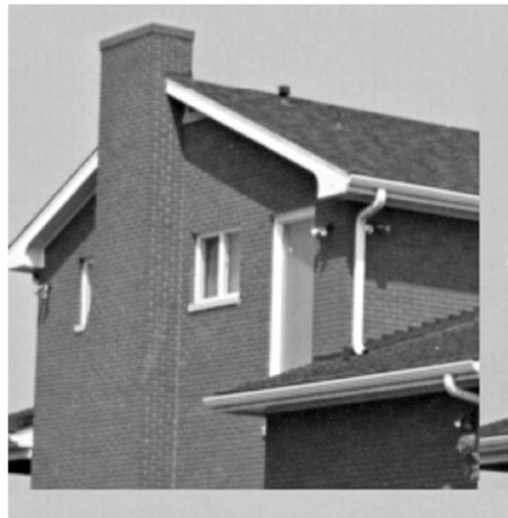


Figure III.9 Image House désalignée ($d_x = 15.00, d_y = 20.00$)

Registered image, $gr(x,y)$



Figure III.10 Image House alignée par CC

Nous avons aussi appliquée cette méthode sur les images réelles microscopiques, la Figure III.11 représente l'image n°1 d'une Stack de 91 images en mode STEM, nous avons alignée l'image n°1 avec l'image n°20 de la stack comme présenté dans la Figure III.12, Le choix de cette paire est effectué pour mieux distinguer le désalignement entre les deux

images, le résultat d'alignement par la méthode CC est illustré dans la Figure III.13, les Figures III.14-III.16 représentent les images référence, désalignée et le résultat de l'alignement par CC respectivement, rappelons que les images EM sont déjà désalignées c.-à-d, n'ont pas besoin pas de l'étape de désalignement.

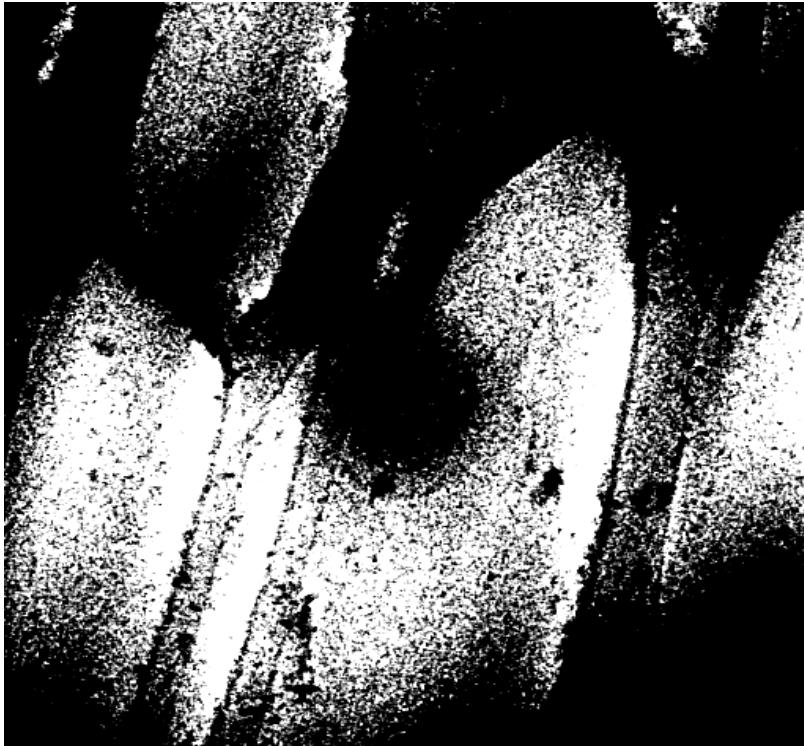


Figure III.11 Image STEM n°1 de la Stack



Figure III.12 Image STEM n°57 de la Stack



Figure III.13 Image STEM alignée par CC

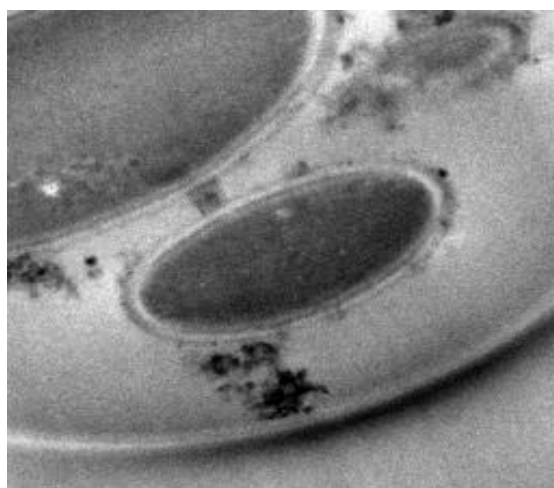


Figure III.14 Image référence serie02_002.tif

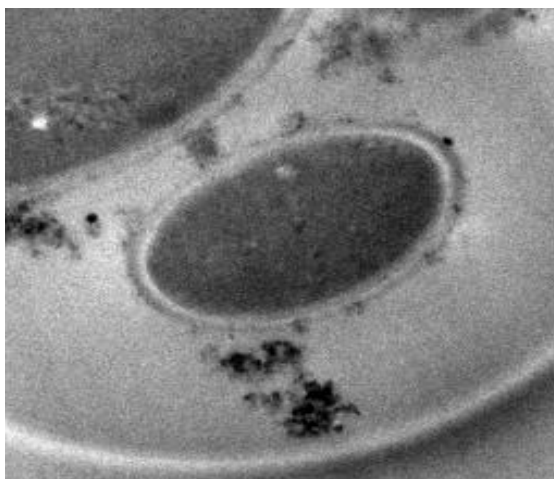


Figure III.15 Image désalignée serie02_011.tif

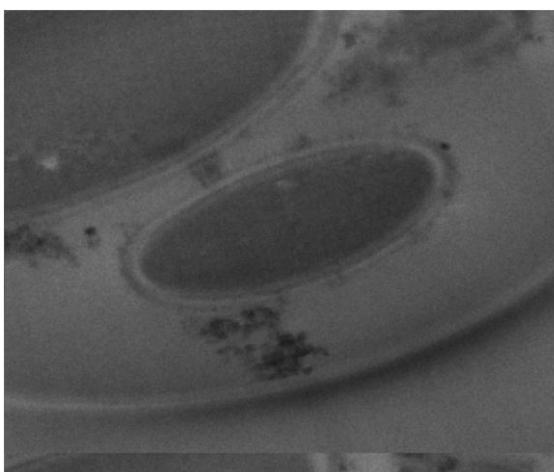


Figure III.16 Image alignée par CC

❖ **Appréciations Visuelles**

A l'œil nu, nous ne distinguons aucune différence entre l'image originale House et l'image alignée, ces remarques ont tendance à se reproduire avec les images Boat et Cameraman, pour les images EM, le résultat est obtenu sans prendre en considération le désalignement dû à la rotation, pour observer le résultat final, il faut prendre toute la série de tilt et observer le résultat de la reconstruction tomographique 3D ce qui dépasse le cadre de ce mémoire.

❖ **Appréciations Mathématiques**

Pour justifier nos observations visuelles, nous avons calculé le critère d'évaluation qui est le MSE pour les données synthétiques, les tableaux III.1 et III.2 illustrent la variation de MSE.

• **Boat.png :**

MSE Avant l'alignement	MSE Après l'alignement
MSEa =0.26924	MSEap =

• **Cameraman. Tif :**

MSE Avant l'alignement	MSE Après l'alignement
MSEa = 0.52381	MSEap = 0.2029

• **House.png :**

MSE Avant l'alignement	MSE Après l'alignement
MSEa = 0.56819	MSEap = 0.1617

Tableau III.1 Valeurs d'erreur quadratique MSE pour différentes images synthétiques alignées correspondantes à la méthode CC

Images réelles microscopiques	MSE	
	Avant l'alignement	Après l'alignement
STEM (Pyrodictium)	MSEa=0.00190	MSEap=0.00193
EFTEM (serie02_thumb)	MSEa=0.00045	MSEap= 0.00019

Tableau III.2 Valeurs d'erreur quadratique MSE pour différentes images microscopiques alignées correspondantes à la méthode de CC

Dans cette étape, nous avons également appliqué la même méthode d'alignement (Corrélation Croisée) sur l'image STEM en utilisant le logiciel TOMOJ sous ImageJ, les Figure III.17 et III.18 montrent les résultats obtenus.

L'alignement se fait sur deux images successives de la stack, avec une image n ° 1 en tant que l'image de référence et ainsi de suite tout au long de la stack 91 copies ou 76 copies, ce résultat d'alignement permet une reconstruction tomographique 3D acceptable.



Figure III.17 Série d'Images en mode STEM en TOMOJ

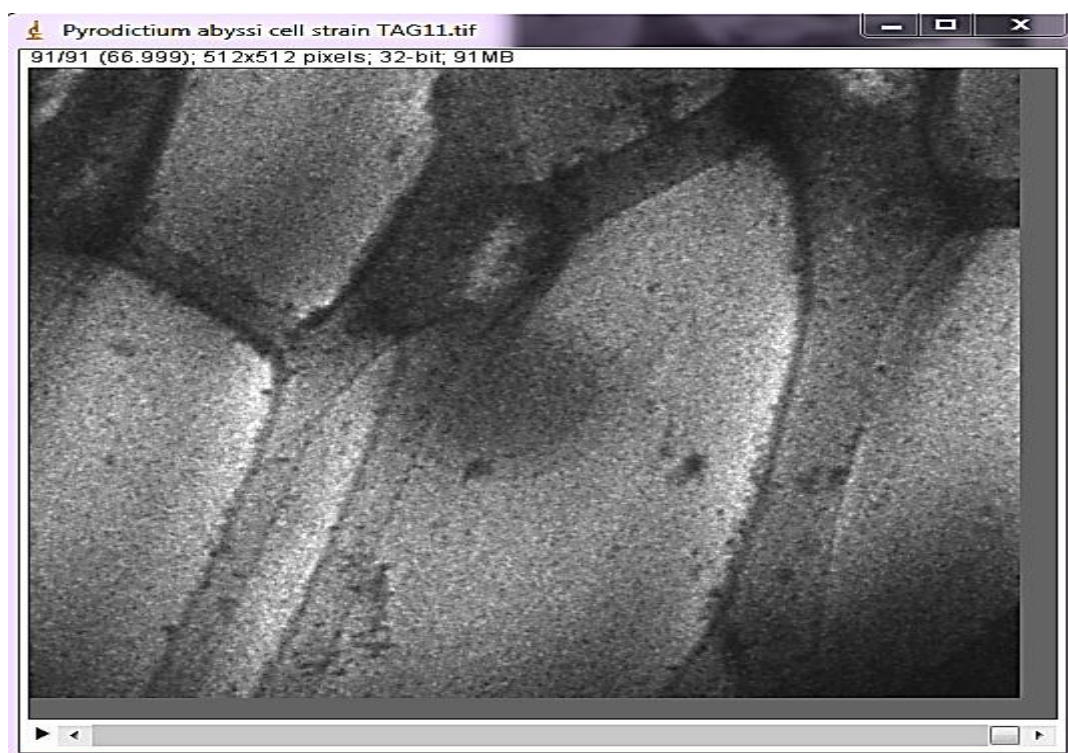


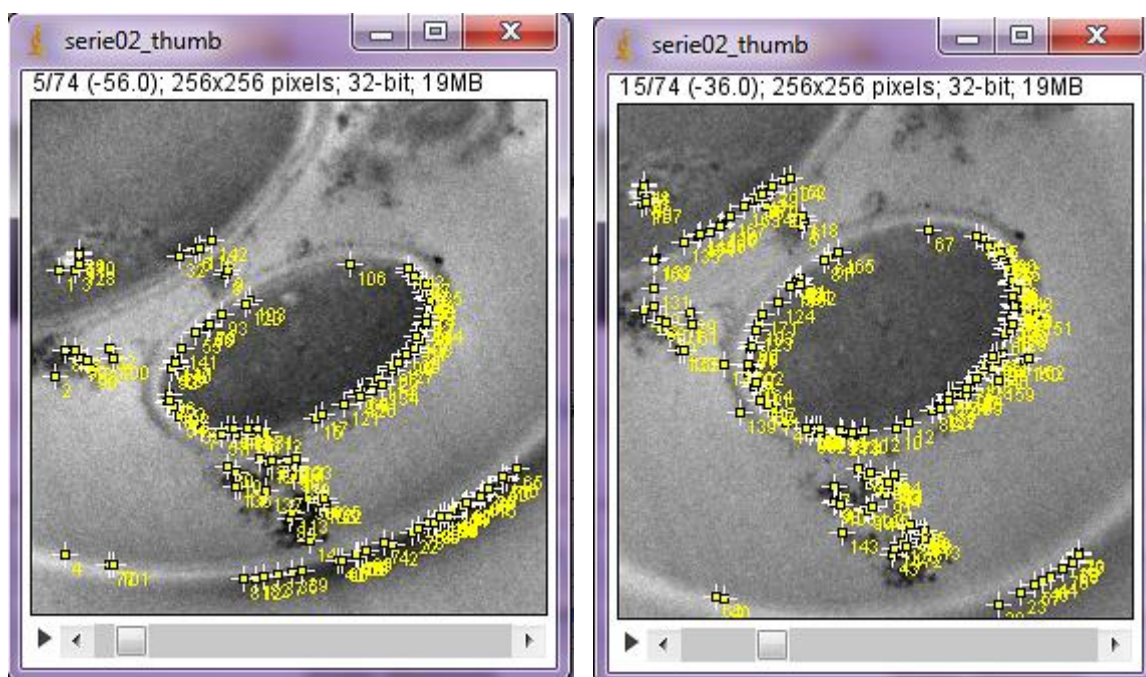
Figure III.18 Résultat d'alignement par la méthode de CC sur l'image STEM en TOMOJ, appliquée sur 91 copies

Dans le paragraphe suivant, est proposée une méthode basée sur les marqueurs (Land marks) pour l'alignement des images EM, cette méthode sa propriété en détection des points contours qui sont les maxima locaux , dans le but d'apporter une amélioration significative à l'emplacement des marqueurs et par conséquent l'amélioration de l'étape d'alignement, puis les résultats des images contours finales sont expliqués, enfin les résultats expérimentaux d'alignement obtenus sont présentés et commentés.

B) l'emplacement du land marks dans les images EM

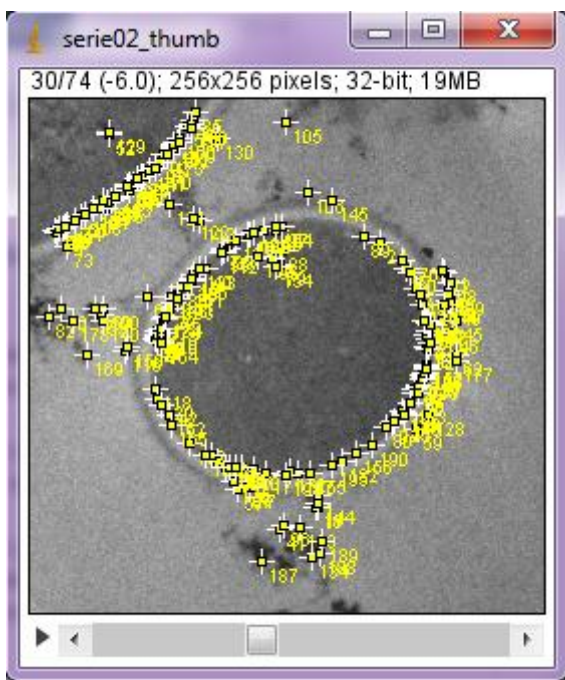
Nous illustrons les résultats d'application de méthode à base les marquer sur les images EM en mode STEM et en mode EFTEM, qui vont être utilisés pour l'alignement sous TomoJ.

Les Figures III.19-III.20 montrent les résultats d'alignement des deux séries, la fenêtre montre plusieurs images alignées avec Landmarks, cependant, l'alignement des séries est loin d'être jugés visuellement ou par le calcul de l'erreur quadratique moyenne, le seul moyen d'appréciation des résultats d'alignement pour les images EM était de reconstruire le volume 3D

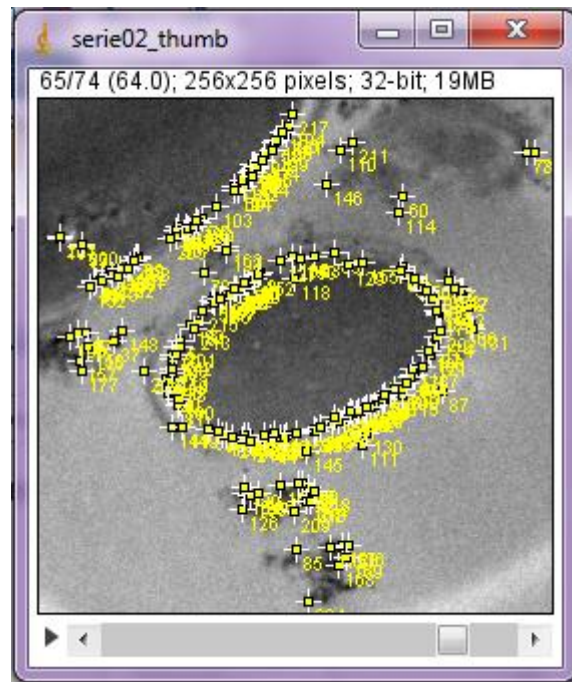


(a)

(b)

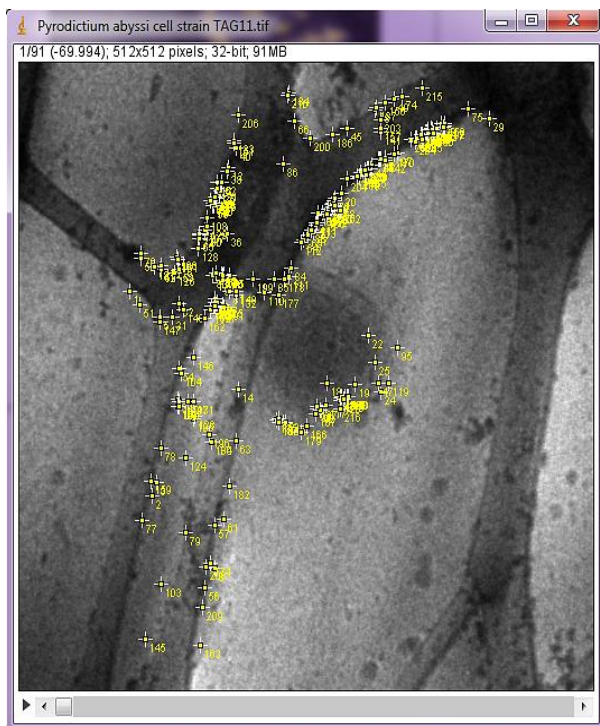


(c)

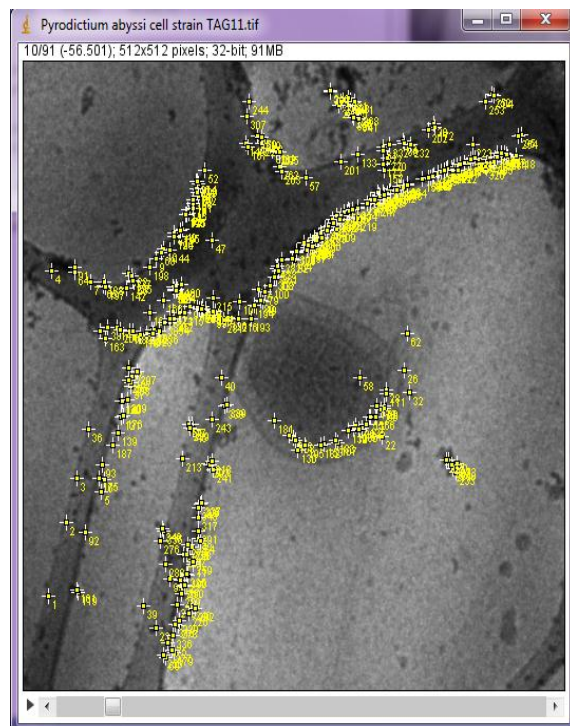


(d)

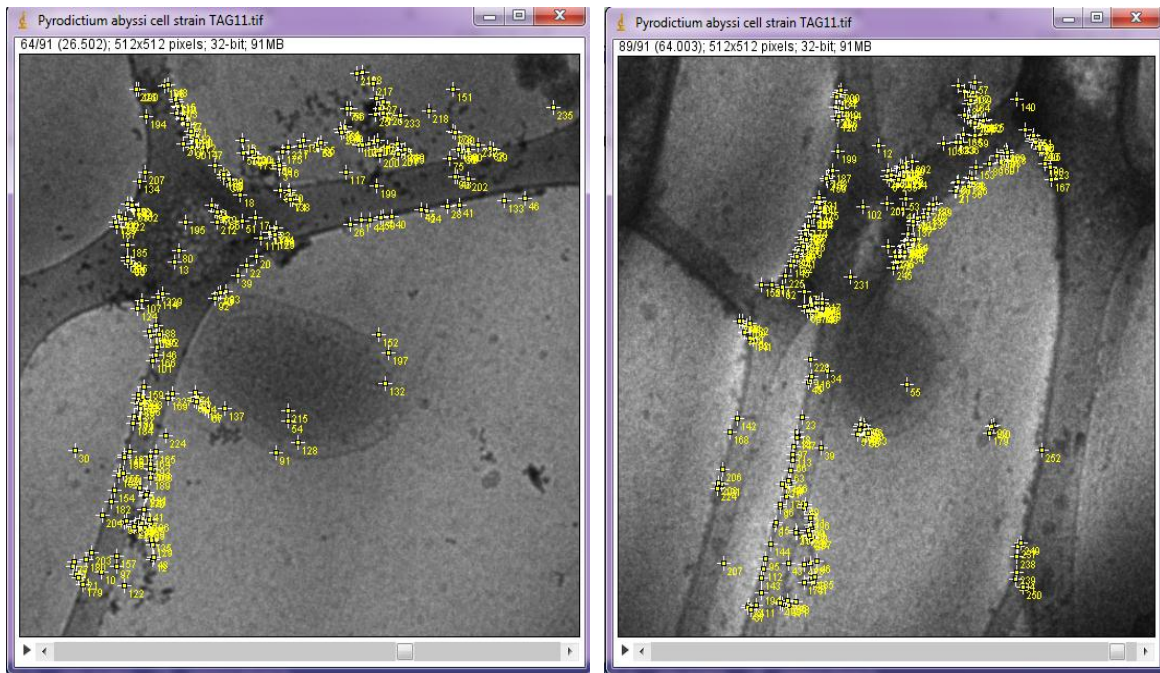
Figure III.19 Emplacement et suivi des Landmarks sur différentes copies de la série EFTEM



(a)



(b)



(c)

(d)

Figure III.20 Emplacement et suivi des landmarks sur l'image STEM

Afin de savoir comment utiliser cette méthode(Landmarks) en utilisant TOMOJ, afin de savoir comment utiliser cette méthode en utilisant TOMOJ, nous ouvrons le logiciel, quand nous rendre à « Aligner Tilt Séries », un menu apparaît dans le panneau supérieur Figure III.21.

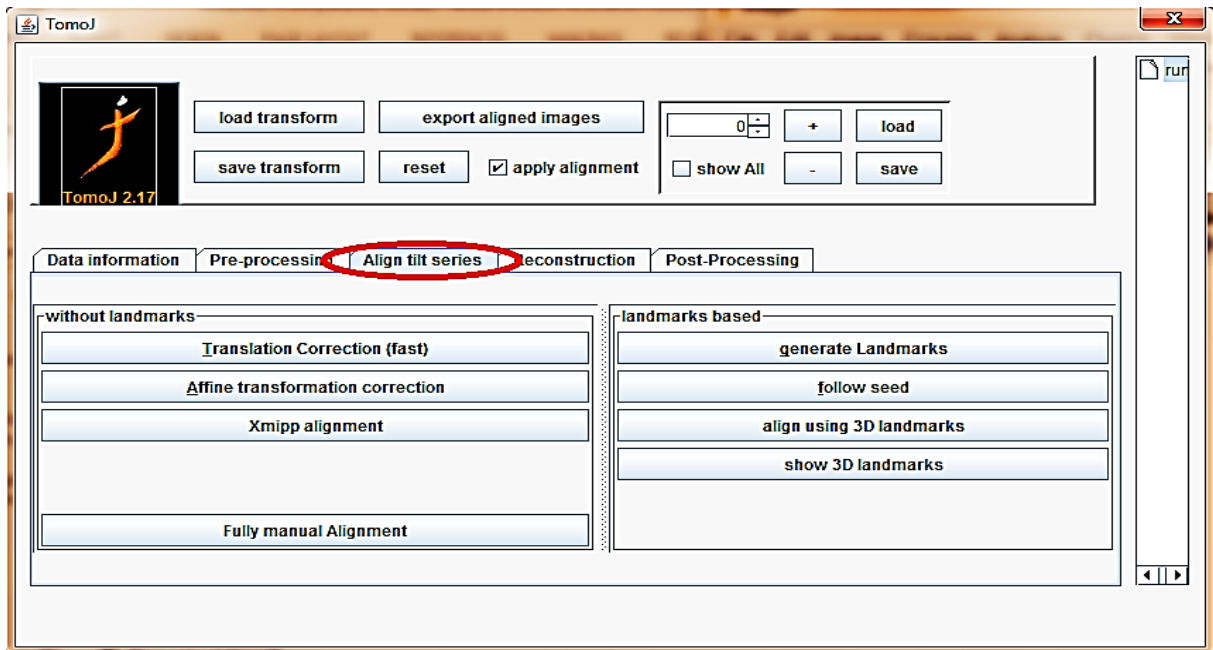


Figure III.21 Interface De l'Align Tilt Séries

Est l'étape suivante, appuyez sur "generate Landmarks", fenêtre apparaîtra Figure III.22, et puis nous allons voir comment le positionnement les points de marquer comme la Figure III.19 et Figure III.20.

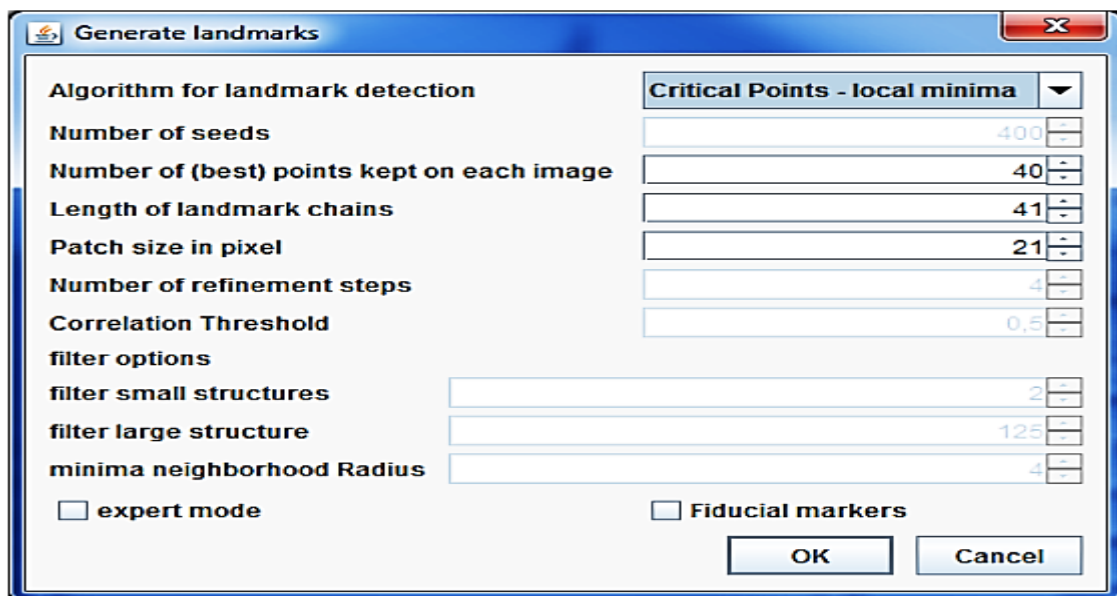


Figure III.22 Fenêtre d'exécution

III.4 Conclusion

Dans ce Chapitre, nous avons présenté les résultats de simulations obtenus pour les méthodes d'alignement, un algorithme d'alignement des séries d'images EM est présenté dans ce chapitre, cette techniques exploite les méthodes d'alignement basées sur des mesures statistiques et la méthode de marqueurs (Landmarks) d'une autre part pour l'alignement de toute la série qui sera utilisée pour l'étape de reconstruction du volume, l'image est utilisée comme emplacement des Landmarks sous le logiciel TomoJ pour achever l'étape d'alignement, l'évaluation comparative contre deux méthodes bien connus, la corrélation croisée et la maximisation de l'information mutuelle, indique clairement l'amélioration apportée par la méthode proposée en termes de reconstruction du volume, l'amélioration du volume est appréciée sur la projection du tomogramme, l'application cible de cet algorithme est l'alignement des séries d'images EM.

Conclusion

Dans cette partie du manuscrit, nous allons tenter d'établir une synthèse globale sur le travail qui a été réalisé dans ce mémoire, l'objectif principal consistait à établir, dès le début à la fin, une étude comparative des différentes méthodes d'alignement des images réelles microscopiques dont le double but de souligner les avantages et les inconvénients de chaque méthode et de pouvoir proposer des perspectives progrès.

Dans ce modeste travail nous avons tout d'abord rappelé le formalisme général du problème d'alignement, nous avons ensuite balayé les méthodes d'alignement à base de mesures statistiques, à savoir la méthode de corrélation croisée, les marqueurs (billes d'or) et la méthode de maximisation de l'information mutuelle.

Nous nous sommes basé essentiellement sur l'implémentation des méthodes sous Matlab et le logiciel TomoJ qui est développé est destiné pour traiter les séries d'images microscopiques prises à différents angles de projection, nous avons donc utilisé plusieurs jeux de données, commençant par les images niveaux de gris tirées de la bibliothèque Toolbox Matlab, jusqu'aux séries d'images réelles, il s'agit de deux séries d'images microscopiques sous deux modes différents : mode STEM et mode EFTEM.

En général, il existe plusieurs logiciels spécialisés dédiés essentiellement grâce à d'équipes des chercheurs s'intéressent aujourd'hui au développement ou à l'adaptation des logiciels spécialisés, à titre d'exemple nous pouvons mentionner «TomoJ, IMOD, TOM Toolbox, INSPECT 3D, etc.. », nous avons utilisé le TOMOJ (un logiciel développé en java, par l'Institut Curie à Paris) il permet d'aligner les séries d'images avec une correction automatique des translations par corrélation croisée, il est possible de choisir d'appliquer le calcul sur toute l'image ou sur une région d'intérêt, mais les résultats de quelques essais restent non satisfaisants par rapport à la méthode de suivi de marqueurs Ce logiciel qui permet d'affiner les corrections manuellement en suivant des détails le long de la série.

Perspectives

Des principaux objectifs à atteindre dans une perspective à court terme, est d'automatiser tout le processus d'alignement qui se fait en deux étapes séparables, l'objectif de cette perspective est de faciliter l'utilisation de l'algorithme qui est destiné à des biologistes,

ensuite parmi les perspectives à plus long terme, une première expérience consiste à développer des méthodes d'alignement à base d'autres techniques telle que: l'information mutuelle.

INTRODUCTION GENERALE

Résumé

Dans ce Chapitre, nous détaillerons le principe de la microscopie électronique, en exposant ses différents modes de travail, à savoir, le mode à balayage (MEB ou STEM), à transmission (MET ou TEM) et à énergie filtrée (EFTEM). Nous introduirons également le principe de base de la tomographie électronique, le logiciel destiné à la tomographie électronique sera exposé à la fin de ce Chapitre.

SOMMAIRE

I.1 Introduction

I.2 Tomographie Electronique

I.3 Microscopie Electronique

I.4 Les Types De La Microscopie Electronique

I.5 Logiciel TomoJ Sous ImageJ

I.6 Conclusion

Résumé

Dans ce chapitre, nous étudierons le principe d'alignement. Nous détaillerons les deux grandes classes d'alignement. À savoir: les méthodes d'alignement basées sur des mesures statistiques et la méthode des marqueurs. Une étude comparative entre les différentes procédures sera établie à la fin de ce chapitre.

SOMMAIRE

II.1 Introduction**II.2 Principe D'alignement****II.3 Techniques D'alignement****II.3.1. Méthodes d'Alignement Basées sur des Mesures Statistiques****II.3.2. Technique d'Alignement Basée sur Les Marqueurs****II.4 Techniques Développées****II.4.1 Entropie****II.4.2 Information mutuelle****II.5 Conclusion**

Résumé

Ce chapitre est consacré entièrement à la présentation des différents résultats de simulation, que nous avons obtenus en appliquant les méthodes d'alignement des images.

SOMMAIRE

III.1 Introduction

III.2 Nature Des Données

III.3 Résultats Et Discussions

III.4 Conclusion

CONCLUSION GENERAL

Résumé

La tomographie électronique ou électron tomographie est une technique qui permet de reconstruire en 3D un objet observé, en utilisant des projections 2D obtenues par un microscope électronique à balayage (MEB) ou à transmission (MET). Ces projections sont obtenues en utilisant différentes inclinaisons angulaires autour d'un axe. Un des problèmes et connexes à la problématique de la tomographie électronique est celui de **l'alignement** des images inclinées, appelé aussi problème synchronisation ou recalage. L'alignement est défini comme la manière de faire concorder deux ou plusieurs images montrant une même scène à des instants distincts, depuis des points de vue différents (série de tilt), ainsi les images observées doivent être utilisées dans un repère commun si on veut pouvoir utiliser les informations non redondantes contenues dans chacune d'elles. Pour avoir une bonne reconstruction, il est indispensable de bien aligner la série d'images inclinées.

Plus précisément, nous nous intéressant dans ce travail de faire une étude comparative entre les méthodes d'alignement classiques comme la corrélation croisée, les marqueurs et l'information mutuelles, attacherons à traiter les deux types d'images EFTEM à énergie filtrée et STEM en mode balayage, afin de proposer un nouvel algorithme ou une nouvelle approche probabiliste.

Mots Clés : Microscopie Electronique A Transmission, Tomographie Electronique, Cross Corrélation, Landmark, Information Mutuelle

BIBLIOGRAPHIE

- [1]. [Koster2000] Koster A, Ziese U, Verkleij A, Janssen A, de Jong K. Three-Dimensional Transmission Electron Microscopy: A Novel Imaging and Characterization Technique with Nanometer Scale Resolution for Materials Science. *Journal of Physical Chemistry B* (2000) 104: pp. 9368-9370.
- [2]. [Maire2001] Maire E, Buffière J, Salvo L, Blandin J, Ludwig W, Létang J. On the Application of X-ray Microtomography in the Field of Materials Science. *Advanced Engineering Materials* (2001) 3: pp. 539-546.
- [3]. [Deconihout2007] B Deconihout, F Vurpillot, B Gault, G Da Costa, M Bouet, A Bostel, D Blavette, A Hideur, G Martel, M Brunel. Toward a laser assisted wide-angle tomographic atom-probe. *Surface and Interface Analysis* (2007) 39: pp. 278-282.
- [4]. [Weyland2004] Weyland M, Midgley PA. Electron tomography. *Materials Today* (2004) 7(12): pp. 32-40.
- [5]. Bracewell R. N, Strip Integration in radio Astronomy, *Aust.J. Physics*, 1956, 9, 297-314.
- [6]. MAINTZ J.B.A., VIERGEVER M.A., «A survey of medical image registration: Medical Image Analysis», Vol. 2, n° 1, pp. 1-36, 1998.
- [7]. RUI W., MINGLU LI, «An overview of medical image registration», Fifth International Conference on Computational Intelligence and Multimedia Applications (ICCIMA'03), 2003.
- [8]. Kaczmarz, S. (1937). Angenäherte auösung von systemen linearer gleichungen. *Bulletin International de l'Académie Polonaise des Sciences et des Lettres*, 35:355357.
- [9]. Gordon, R., Bender, R. et Herman, G. T. (1970). Algebraic reconstruction techniques (ART) for three-dimensional electron microscopy and X-ray photography. *Journal of theoretical Biology*, 29(3):471481.
- [10]. Gilbert, P. (1972). Iterative methods for the three-dimensional reconstruction of an object from projections. *Journal of Theoretical Biology*, 36(1):105117.

- [11]. Idier, J. (2001). Reconstruction tomographique pour un faible nombre de projections. In Approche bayésienne pour les problèmes inverses, page 311. Traité IC2, Série traitement du signal et de l'image, Hermès, Paris.
- [12]. Sorzano, C. O. S., Marabini, R., Pascual-Montano, A., Scheres, S. H. et Carazo, J. M. (2006). Optimization problems in electron microscopy of single particles. *Annals of Operations Research*, 148(1):133165.
- [13]. Gregor, J. et Benson, T. (2008). Computational analysis and improvement of SIRT. *IEEE Transactions on Medical Imaging*, 27(7):918924.
- [14]. Herman, G. T. (2009). *Fundamentals of computerized tomography : image reconstruction from projections*. Springer.
- [15]. JOACHIM FRANK «Electron tomography Methods for three-dimensional visualization of structures in the cell».Springer. 2008. pp, 417-439.
- [16]. LUCIAN ROIBAN «Tomographie électronique analytique : développement de la cartographie chimique 3D à l'échelle du nanomètre et applications aux catalyseurs hétérogènes », Thèse de doctorat, Strasbourg 2010.
- [17]. LUCIAN ROIBAN «Tomographie électronique analytique : développement de la cartographie chimique 3D à l'échelle du nanomètre et applications aux catalyseurs hétérogènes », Thèse de doctorat, Strasbourg 2010.
- [18]. Lenu ta Iliana FLOREA « Tomographie Electronique de Nano-objets » Thèse de doctorat, Strasbourg 23/03/2011
- [19]. R. Woods, S. Cherry, and J. Mazziotta, «Rapid automated algorithm for aligning and reslicing pet images» *Journal of Computer Assisted Tomography*, vol. 16, pp. 620–633, July-August 1992.
- [20]. D. Hill, D. Hawkes, N. Harrison, and C. Ruff, «A strategy for automated multimodality registration incorporating anatomical knowledge and imager characteristics» *Information Processing in Medical Imaging*, pp. 182–196, 1993.
- [21]. A.Collignon, D. Vandermeulen, P. Suetens, and G. Marchal, «3d multimodality medical image registration» *Computer Vision, Virtual Reality, and Robotics in Medicine*, vol. 905, pp. 195–204, 1995.

- [22]. P. A. V. den Elsen, J. A. Mints, E.-J. D. Pol, and M. A. Viergever, «Automatic registration using correlation of CT and MR brain images», *IEEE Transactions on Medical Imaging*, vol. 14, June 1995.
- [23]. A. Collignon, D. Vandermeulen, P. Suetens, and G. Marchal, «3d multimodality medical image registration» *Computer Vision, Virtual Reality, and Robotics in Medicine*, vol. 905, pp. 195–204, 1995.
- [24]. C. Studholme, D. Hill, and D. Hawkes, «Multiresolution voxel similarity measures for mr-pet registration» *Information Processing in Medical Imaging*, pp. 287–298, 1995
- [25]. P. Viola and W. M.W. III, «Alignment by maximization of mutual information» in *International Conference on Computer Vision*, pp. 16–23, June 1995.
- [26]. F. Maes, A. Collignon, D. Vandermeulen, G. Marchal, and P. Suetens, «Multimodality image registration by maximization of mutual informationI » *IEEE Transactions on Medical Imaging*, vol. 16, no. 2, pp. 187–198, 1997.
- [27]. Zemouri Nehed, Université de Bordj Bou Arreridj, Chapitre2, page13.
- [28]. Zemouri Nehed, Université de Bordj Bou Arreridj, Chapitre2, page13.
- [29]. Zemouri Nehed, Université de Bordj Bou Arreridj, Chapitre2, page27.
- [30]. J. Frank « Electron tomography Three-dimensional Imaging with the Transmission Electron Microscope ». Ed. New York : Plenum Press, 1992, 416 p.
- [31]. C. Messaoudi. « Développements en tomographie électronique et application à l'étude du centrosome ». Université de Paris 6. 2006.
- [32]. M. Lawrence « Least-Squares Method of Alignment Using Markers ». In *Electron tomography: three-dimensional imaging with the transmission electron microscope*. Frank J. (Ed.). Plenum Press, New York, 1992, pp. 197-204.
- [33] CH. Barillot, *Fusion de Données et Imagerie 3D en Médecine*, thèse de doctorat, université de Rennes 1, institut de formation supérieur en informatique et en communication ,1999.

[34] Pluim et al , “ Image Registration by maximization of combined mutual information and gradient information ,” IEEE Transaction on Medical Imaging, Vol 19, No 8, pp 809-814 August 2000.