

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

UNIVERSITE MOHAMED BOUDIAF - M'SILA

FACULTE DE Technologie
DEPARTEMENT Electronique
N° :



FILIÈRE : Electronique
OPTION : instrumentation

Mémoire présenté pour l'obtention
Du diplôme de Master Académique

Par:

ZOUBIRI Marwa et LAKEHAL Malika

THÈME

Etude et adaptation des méthodes d'alignement
en tomographie électronique, application aux
images microscopiques

Soutenu devant le jury composé de :

Dr. ATTALLAH Bilal	Université M ^{ed} Boudiaf –M'sila	Président
Dr. KETFI Mohammed Elamin	Université M ^{ed} Boudiaf –M'sila	Rapporteur
Dr. KHALFA Ali	Université M ^{ed} Boudiaf –M'sila	Examineur

Année universitaire : 2021 /2022

Remerciements

La réalisation de ce mémoire a été possible grâce au concours de plusieurs personnes à qui nous voudrions témoigner toute ma gratitude.

Nous voudrions tout d'abord adresser toute notre reconnaissance à l'encadrant de ce mémoire, Monsieur Mohammed elamin KETFI, pour sa patience, sa disponibilité et surtout ses judicieux conseils, qui ont contribué à alimenter nous réflexion.

Nous désirons aussi remercier les professeurs de la faculté de technologie d'université de M'sila, qui nous ont fourni les outils nécessaires à la réussite de mes études universitaires.

Nous remercions nos chers parents, qui ont toujours été là pour nous .et aussi toute la famille pour leurs encouragements.

Enfin, nous voudrions exprimer nous reconnaissance envers les amis et collègues qui nous ont apporté leur soutien moral et intellectuel tout au long de notre démarche.

Dédicace

A mes chers parents, pour tous leurs sacrifices, leur amour, leur tendresse, leur soutien et leurs prières tout au long de mes études,

A mes chères sœurs pour leurs encouragements permanents, et leur soutien moral,

A mon cher frère, pour leur appui et leur encouragement,

A pour mes meilleur amis et cousines pour leur encouragement morale et leur soutien

A toute ma famille pour leur soutien tout au long de mon parcours universitaire,

Que ce travail soit l'accomplissement de vos vœux tant allégués, et le fruit de votre soutien infailible,

Merci d'être toujours là pour moi

Résumé

La tomographie électronique ou (Electron Tomography) 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. Plus précisément, nous nous intéressons dans ce sujet de réaliser un tour d'horizon de la tomographie électronique et de son application aux sciences biologiques. Le travail vise l'amélioration de l'alignement des projections en mode STEM en particulier. Notre objectif sera de faire une étude et simulation évolutive sur l'algorithme *Scale Invariant Feature Transform* (SIFT) qui permet de traiter les données obtenues directement après l'acquisition au microscope pour réaliser l'étape nécessaire pour l'obtention d'un alignement plus précis avant une reconstruction 3D avec peu de bruit.

Mots clés : SIFT, Microscopie Electronique à Transmission, Tomographie Electronique, Matlab.

Abstract

Electron tomography (Electron Tomography) is a technique that allows to reconstruct in 3D an observed object, using 2D projections obtained by a scanning electron microscope (SEM) or transmission electron microscope (MET). These projections are obtained by using different angular inclinations around an axis. One of the problems and related to the problem of electronic tomography is that of the registration of tilted images, also called synchronization or registration problem. More specifically, we are interested in this topic to conduct an overview of electronic tomography and its application to the biological sciences. the work is aimed at improving the alignment of projections in STEM mode in particular. Our goal will be to do a scalable study and simulation on the Scale Invariant Feature Transform (SIFT) algorithm This allows you to process the data obtained directly after the microscope acquisition to perform the step necessary to obtain a more accurate alignment before a low-noise 3D reconstruction.

Keywords: SIFT, Transmission Electron Microscopy, Electronic Tomography, MATLAB.

ملخص

التصوير المقطعي الإلكتروني (بالإنجليزية Electron Tomography) هي تقنية تسمح بإعادة بناء جسم مرصود ثلاثي الأبعاد باستخدام إسقاطات ثنائية الأبعاد يتم الحصول عليها بواسطة مجهر الكترون (SEM) أو مجهر الكتروني (MET) يتم الحصول على هذه الإسقاطات باستخدام ميول زاوية مختلفة حول المحور تتمثل إحدى المشاكل المتصلة بمشكلة التزامن أو التسجيل و بشكل أكثر تحديدا نحن مهتمون بهذا الموضوع للإجراء لمحة عامة عن التصوير المقطعي الإلكتروني و تطبيقه على العلوم البيولوجية يهدف العمل الى تحسين مواءمة الإسقاطات في وضع العلوم و التكنولوجيا و الهندسة و الرياضيات على وجه الخصوص سيكون هدفنا إجراء دراسة و محاكاة قابلة للتطوير على خوارزمية تحويل الميزة الثابتة للمقياس (SIFT) و التي تسمح بمعالجة البيانات التي تم الحصول عليها مباشرة بعد اكتساب المجهر للتنفيذ الخطوة اللازمة للحصول على محاذاة أكثر دقة قبل إعادة بناء ثلاثية الأبعاد منخفضة الضوضاء

الكلمات الرئيسية: SIFT، المجهر الإلكتروني للإرسال، التصوير المقطعي الإلكتروني، MATLAB.

Sommaire

Remerciements

Dédicace

Résumé

Sommaire

Liste de figures

INTRODUCTION GENERALE 1

CHAPITRE I TOMOGRAPHIE ELECTRONIQUE

I.1 Introduction 5

I.2 Imagerie médicale 5

I.3 Tomographie 6

I.5 Tomographie électronique 9

I.6 Historique de la microscopie électronique 14

I.7 La microscopie électronique 16

I.7.1 Microscopie Electronique à Balayage (MEB) 16

I.7.2 Microscopie électronique en transmission (MET) 19

I.8 Les avantages de la microscopie électronique 22

I.9 Conclusion 22

BIBLIOGRAPHIE 23

CHAPITRE II ALIGNEMENT

II.1 Introduction 26

II.2 Alignement 26

II.3 Principe d'alignement 27

II.4 Techniques de détection et d'alignement 29

II.4.1- Corrélation croisée 29

II.4.2- Marqueurs fiduciaires

31

II.4.3- Algorithme basé sur l'Information Mutuelle 33

II.5 Techniques Développées 34

II.5.1- SIFT (Scale Invariant Feature Transform) 34

II.5.2- DOG (Difference of Gaussian kernel)	
38	
II.6 La mise en correspondance des images	48
II.7 Sift et ses algorithmes	49
II.8 Conclusion	49
BIBLIOGRAPHIE	50
CHAPITRE III RESULTATS ET DISCUSSION	
III.1 Introduction	54
III.2 Algorithme SIFT (Scale Invariant Feature Transform)	54
III.2.1 Détection	54
III.2.2 Recherche de correspondance entre les images	58
III.2.3 Alignement	58
III.2.4 Adaptation pour la tomographie	59
III.3 Résultats et discussions	60
III.3.1 Nature de données	60
III.3.2 Méthodes d'alignements simulées	63
III.3.2 Résultats obtenus	65
CONCLUSION GENERALE	

Liste de figures

- Figure I.1** Scanner _____ **Error! Bookmark not defined.**
- Figure I.2** Cas d'un objet 3D de silicium poreux. Plusieurs projections obtenues en microscopie électronique à transmission (Titan Ultimate - PFNC Grenoble) tout autour de cet objet ne sont pas suffisantes pour obtenir les informations sur la structure des pores telles que leur taille, leur interconnexion ou encore la porosité. Dans ce cas une reconstruction 3D de l'échantillon est indispensable. Des coupes dans cette reconstruction 3D permettent de distinguer les pores du silicium. _____ **Error! Bookmark not defined.**
- Figure I.3** (a) Acquisition : Obtention de projections d'un objet, (b) Reconstruction : de l'objet à partir de ses projections, (c) Visualisation : des différents plans de l'objet lors d'une reconstruction (vue XZ). **Error! Bookmark not defined.**
- Figure I.4** cellule 3D. _____ **Error! Bookmark not defined.**
- Figure I.5** - étapes successives du processus de reconstruction 3D tomographie. _____ **Error! Bookmark not defined.**
- Figure I.6** Principe de reconstruction 3D à partir de projections 2D. (A) Les projections générées à différents angles de l'objet d'intérêt peuvent être combinées (B) pour reconstruire le volume de l'objet. Pour cela, il est nécessaire de connaître les angles utilisés pour chaque projection. _____ **Error! Bookmark not defined.**
- Figure I.7** - premier microscopie électronique _____ **Error! Bookmark not defined.**
- Figure I.8** microscopie électronique en transmission. _____ **Error! Bookmark not defined.**
- Figure I.9** Schéma de construction d'un Microscope Electronique à Balayage. _____ **Error! Bookmark not defined.**
- Figure I.10** Interaction électron-matière. _____ **Error! Bookmark not defined.**
- Figure I.11** schéma de construction de la microscopie à balayage. _____ **Error! Bookmark not defined.**
- Figure I.12** – Schéma des signaux résultant d'interactions entre les électrons et les échantillons ainsi que leurs relations avec les différents modes d'imagerie en microscopie électronique en transmission. **Error! Bookmark not defined.**
- Figure I.13** Schéma simplifié du parcours optique d'un microscope électronique à transmission **Error! Bookmark not defined.**
- Figure I.14** microscopie électronique en transmission. _____ **Error! Bookmark not defined.**
- Figure II.1** processus d'alignement d'images. _____ **Error! Bookmark not defined.**
- Figure II.2** Le processus de l'alignement par corrélation croisée. _____ **Error! Bookmark not defined.**
- Figure II.3** Une série des images de projections en utilisant des marqueurs repères (leurs positions sont représentées par les points verts). _____ **Error! Bookmark not defined.**
- Figure II.4** Schéma des étapes détaillées de SIFT _____ **Error! Bookmark not defined.**
- Figure II.5** Pyramides avec un gradient de facteur d'échelle σ . _____ **Error! Bookmark not defined.**
- Figure II.6** Filtrage gaussien et différences de deux images gaussiennes consécutives DoG. **Error! Bookmark not defined.**
- Figure II.7** Exemple d'une pyramide de différences de gaussiennes (DoG) obtenue à partir d'une pyramide de gradients. La pyramide de gradients a été réalisée sur un échantillon en résine de Trypanosoma brucei, elle se compose de 3 octaves (tailles d'images de 2048, 1024 et 512 pixels). Chaque octave est composée d'une image ($\sigma = 0$) sur laquelle a été appliqué différentes valeurs de flou gaussien ($\sigma = 0, \sigma = 6, \sigma = 12, \sigma = 24$ et $\sigma = 36$). **Error! Bookmark not defined.**
- Figure II.8** Détection d'extrema locaux : le pixel X est comparé à ses 26 voisins sur 3 échelles mais dans la même octave. _____ **Error! Bookmark not defined.**
- Figure II.9** Image montre un grand nombre de point clé. _____ **Error! Bookmark not defined.**
- Figure II.10** localisation des points d'intérêt : décalage entre les points détectés et le point réel d'extrémum _ **Error! Bookmark not defined.**

Figure II.11 une image montre application de supprimer le faible contraste et les bords.**Error! Bookmark not defined.**

Figure II.12 Histogramme d'orientation. **Error! Bookmark not defined.**

Figure II.13 fenêtre gaussienne 16x16, à droit blocs 4x4x8 direction. **Error! Bookmark not defined.**

Figure II.14 Angle direction 360° degrés. **Error! Bookmark not defined.**

Figure II.15 une fenêtre 16x16 et à droite 4x4x8 direction avec histogramme. **Error! Bookmark not defined.**

Figure III.1 Les différentes variables composant une feature 54

Figure III.2 Réduction de l'image et application d'un flou gaussien. 55

Figure III.3 Recherche d'extrema sur différents gradients d'une même image. 56

Figure III.4 Gradient en chaque point du voisinage du point d'intérêt 57

Figure III.5 Exemple d'un descripteur D d'une taille de 36. 57

Figure III.6 Exemple de comparaison possible des orientations contenues dans le descripteur de différents points d'intérêt (features) 58

Figure III.7 Image d'une série de tilts de 76 images de taille 256×256 pixels chacune en mode EFTEM. 60

Figure III.8 D Image d'une série de tilt de 91 images de taille 512×512 pixels chacune, en mode STEM. **Error! Bookmark not defined.** 61

Figure III.9 Images de test originales tirées de la bibliothèque Toolbox-Matlab 61

Figure III.10 Images satellitaires en couleur décalés entre eux par 135m. **Error! Bookmark not defined.**

Figure III.11 L'organigramme de procédures de SIFT. **Error! Bookmark not defined.**

Figure III.12 L'organigramme de procédures d'algorithme cross corrélation. **Error! Bookmark not defined.**

Figure III.13 Pyramide avec un gradient de facteur d'échelle 'Sigma' $\sigma = \sqrt{2}$ **Error! Bookmark not defined.**

Figure III.14 Différences de gaussiennes pour l'octave 1. 65

Figure III.15 Différences de gaussiennes pour toutes les octaves. 66

Figure III.16 Détection des points d'intérêts candidats pour l'octave 1. 66

Figure III.17 Détection des points d'intérêts candidats pour toutes les octaves. 67

Figure III.18 Deux angles de vu de la matrice de (l'image 3/l'octave 1) dans l'espace de détection des points d'intérêts candidats, et dans un repère 3D ; 67

Figure III.19 Application des résultats trouvés sur l'image traité ou les point blancs sont les PI utilisé pour la reconnaissance des objets mené par des dicripteurs **Error! Bookmark not defined.** 68

Figure III.20 Chaque point d'intéret mené par un vecteur gradient rouge 68

Figure III.21 Les deux images à aligner, pole 1 et pole 2 après une transformation aux images niveau de gris, et de redimensionner à 256x256 pixels 70

Figure III.22 Application de l'algorithme SIFT et extraire les points d'intérêts (Les points blancs dans les deux images) 70

Figure III.23 Les images des vecteurs gradients en rouge caracterisant chaque point d'interet. 71

Figure III.24 Image de sortie de l'algorithme SIFT dont les PI en colour blanc, elles sont prêt pour une comparaisons entre les vecteurs gradients des PI de l'image pole1 avec celles de l'image pole2.Angle direction 360° degrés. 71

Figure III.25 Alignement des deux images pole1 et pole2, les flèches rouges représente les PI dont les vecteurs gradients sont égaux 72

Figure III.26 Images tem désalignée (à gauche) et image tem alignée par CC (à droite). 73

Figure III.27 Images bird désalignée (à gauche) et image bird alignée par CC (à droite) 73

Introduction générale

INTRODUCTION GENERALE

Le monde a toujours été un mystère pour les humains, mais la compréhension de ce mystère a été facilitée par nos organes sensoriels, y compris nos yeux. Le mécanisme derrière la vue est incroyablement complexe, il a donc toujours semblé impossible de reproduire cette merveilleuse capacité. Au cours des dernières décennies, cependant, les scientifiques et les ingénieurs ont développé des façons de donner le don de la vue aux machines ! C'est ce qu'on appelle la vision par ordinateur (CV), qui est devenue l'un des domaines de recherche les plus populaires en informatique. Ces programmes ont effectué des tâches relativement simples comme classer une image comme un chien ou un chat ou détecter un objet, mais maintenant, les gens trouvent des utilisations plus complexes de cette technologie. Un des défis majeurs dans la conception de des matériaux à l'échelle nanométrique caractérisation de complexes tridimensionnels structures sur de petites échelles de longueur. Une solution est d'utiliser la tomographie électronique.

La tomographie électronique (ET) est une technique de tomographie permettant d'obtenir des structures 3D détaillées d'échantillons ou de matériaux, cette technique est basée à la microscopie électronique (MET et MEB), cette technique se compose en quatre étapes principales : acquisition, alignement, reconstruction, segmentation. Dans cette technique l'un des problèmes fondamentaux est l'alignement d'images appelé aussi problème de synchronisation ou de recalage.

L'alignement est défini comme une méthode de mise en correspondances de deux images ou plus, représentant le même objet acquis à sous différents angles, qui est une série d'inclinaisons dans le cas d'images microscopiques. Par conséquent, si l'on veut pouvoir utiliser les informations non redondantes contenues dans chaque image, les images observées doivent être utilisées dans une cadre commune. Pour avoir une bonne reconstruction, il est indispensable de bien aligner la série d'images inclinées.

Nous décrivons également les problèmes rencontrés pour chaque mode, de l'étape de prétraitement à l'alignement, une comparaison entre les méthodes d'alignements y compris les techniques classiques telles que la corrélation croisée, les billes des marqueurs d'or (Landmark) et les techniques développées dont lesquelles nous avons bien détaillé l'algorithme SIFT dont nous avons faire seulement le programmer sous Matlab.

Plus spécifiquement, nous intéressons à ce qui vise à donner un aperçu de la tomographie électronique et de ses applications dans les sciences biologiques. Ce travail vise à améliorer l'alignement des projections en mode STEM. Notre objectif est de réaliser des études évolutives et des simulations d'algorithmes scale invariant feature transform (SIFT) capables de traiter les données acquises directement après l'acquisition au microscope pour effectuer les étapes nécessaires à l'obtention d'un meilleur alignement. Précis avant une reconstruction 3D presque sans bruit.

Dans ce mémoire nous divisons notre thème en trois chapitres organisés comme suit :

Le premier chapitre, présente le cadre général la tomographie électronique et l'interprétation de l'objet reconstruit, la microscopie électronique.

Le deuxième chapitre est dédié pour les méthodes d'alignement et de reconstruction existantes ainsi qu'un bilan qui dégage leurs avantages et leurs limites.

Dans le troisième chapitre : nous présenterons la partie expérimentale de notre travail. Nous détaillerons les principales étapes d'implémentation des algorithmes d'alignement considérés. Les différents algorithmes d'alignement sont testés sur plusieurs jeux de données. C'est une base très utilisée en apprentissage automatique.

Enfin nous terminerons ce manuscrit par une conclusion générale.



TOMOGRAPHIE ELECTRONIQUE

Sommaire

I.1 Introduction	5
I.2 Imagerie médicale	5
I.3 Tomographie	6
I.4 Les techniques.....	9
I.5 Tomographie électronique	9
I.6 Historique de la microscopie électronique	14
I.7 La microscopie électronique	15
I.7.1 Microscopie Electronique à Balayage (MEB).....	16
I.7.2 Microscopie électronique en transmission (MET).....	18
I.8 Les avantages de la microscopie électronique.....	21
I.9 Conclusion	21
<i>BIBLIOGRAPHIE</i>	22

I.1 Introduction

La tomographie électronique (ET) est une technique émergente de microscopie électronique (EM) pour la visualisation tridimensionnelle (3D) de l'architecture cellulaire et de l'organisation moléculaire dans les cellules indigènes à l'échelle nanométrique. L'ET comble ainsi l'écart entre les techniques d'imagerie à basse résolution et les techniques structurales à haute résolution. Dans ET, une série d'images est prise à partir d'un seul spécimen à différentes orientations de projection. La carte 3D calculée à partir de ces images est ensuite soumise à la visualisation et à l'interprétation. Grâce à plusieurs innovations récentes en EM, y compris des techniques améliorées de préparation des échantillons, du matériel et des logiciels EM innovants, des approches d'étiquetage génétique et moléculaire fiables, L'ET devient rapidement un puissant outil de bio imagerie pour disséquer précisément les organisations macromoléculaires et les événements cellulaires capturés à partir de cellules vivantes dans la santé et la maladie. Ainsi, de nombreux mécanismes moléculaires précédemment non résolus responsables des fonctions cellulaires spécifiques pourraient être clairement élucidés par la technologie ET.[1]

I.2 Imagerie médicale

L'imagerie médicale regroupe l'ensemble des techniques permettant de visualiser une partie du corps humain ou d'un organe sans avoir à opérer le patient ; cela, en créant une image visuelle compréhensible d'une information à caractère médical dans le but d'établir un diagnostic et de faire un suivi approprié du traitement. De la trépanation à la robotique chirurgicale, la pratique médicale a connu une véritable révolution. De nos jours, grâce aux nouvelles techniques d'imagerie, les procédés de traitement se sont modernisés, le diagnostic est devenu plus précis et la qualité des soins est désormais meilleure. Loin des pratiques traditionnelles, où « voir » passait par « ouvrir », aujourd'hui, les radiologues, à l'aide des techniques tomographiques, peuvent diagnostiquer et traiter de façon quasiment non-invasive. Le recours à la chirurgie invasive est devenu la solution de dernier recours.

Parmi les méthodes d'imagerie structurales les plus couramment employées en médecine, on peut citer d'une part les méthodes basées soit sur les rayons X (radiologie conventionnelle, radiologie digitale, tomodensitomètre ou CT-scan, angiographie, etc.) soit sur

la résonance magnétique nucléaire (IRM), les méthodes échographiques (qui utilisent les ultrasons), et enfin les méthodes optiques (qui utilisent les rayons lumineux).[2]



Figure I.1 Scanner [3]

I.3 Tomographie

La tomographie (racine grecque *tomê*, *coupe*, et ainsi représentation en coupes) est une technique qui consiste à reconstruire le volume d'un objet (le corps humain dans le cas de l'imagerie médicale, une structure géologique dans le cas de la géophysique) à partir d'une série de mesures déportées à l'extérieur de l'objet. Ces mesures peuvent être effectuées à la surface même ou à une certaine distance. Le résultat est une reconstruction de certaines propriétés de l'intérieur de l'objet, selon le type d'information que fournissent les capteurs (capture d'une particule, pression acoustique, atténuation d'un faisceau lumineux, différence de vitesse ou de polarisation d'ondes sismique...).

La tomographie peut être utilisée dans de nombreux domaines. Dans le domaine de la santé, avec l'imagerie médicale¹, ou en biologie. En microscopie, la tomographie permet par exemple de mieux comprendre comment fonctionne le « *moteur biologique* » flagellaire qui permet aux bactéries motiles de se déplacer rapidement dans les liquides ou fluides visqueux (c'est le cas des bactéries hélicoïdales spirochètes²). Par ailleurs, le P^r Rubén Fernández-Busnadiego et son équipe ont réussi à reconstruire le modèle d'une synapse en fonctionnement, le tout en 3D.

En dehors du domaine de la santé, la tomographie est utilisée en paléontologie et en archéologie. Appliquée à la paléoanthropologie, la tomodensitométrie permet d'étudier les structures internes des hominidés fossiles et de compenser les altérations subies au cours de la fossilisation (fossile d'homo erectus de Yunxian en Chine).

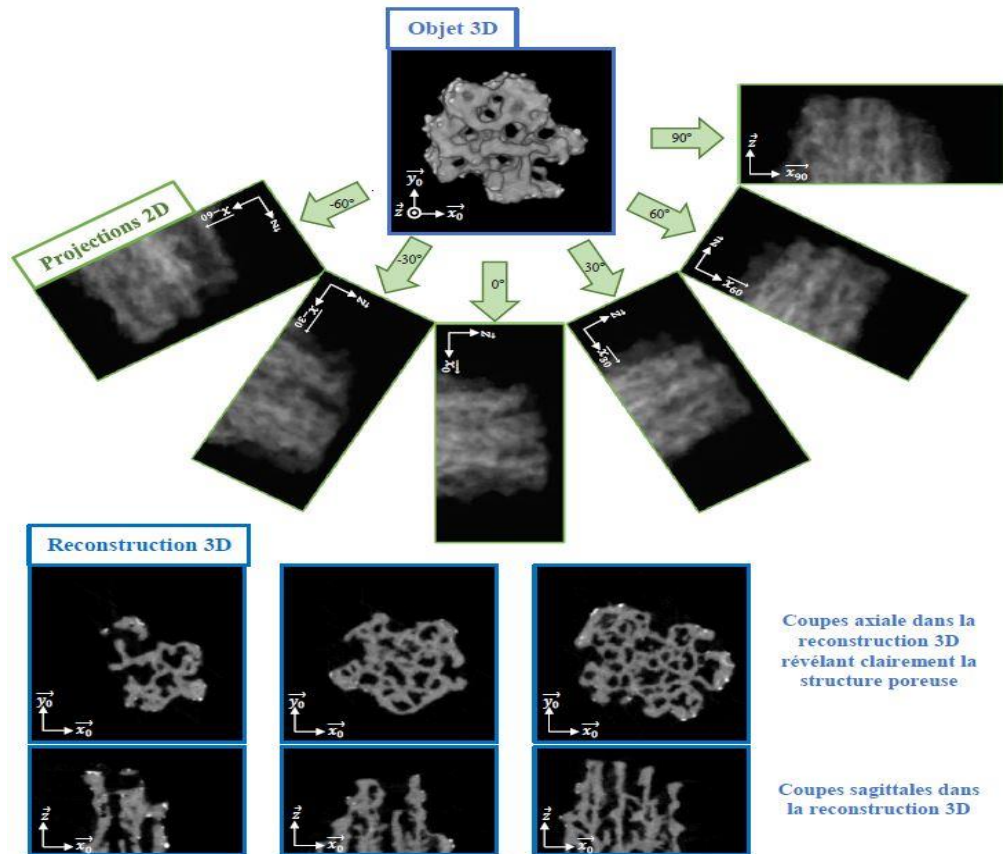


Figure I.2 Reconstruction tomographique[5]

Cas d'un objet 3D de silicium poreux. Plusieurs projections obtenues en microscopie électronique à transmission (Titan Ultimate - PFNC Grenoble) tout autour de cet objet ne sont pas suffisantes pour obtenir les informations sur la structure des pores telles que leur taille, leur interconnexion ou encore la porosité. Dans ce cas une reconstruction 3D de l'échantillon est indispensable. Des coupes dans cette reconstruction 3D permettent de distinguer les pores du silicium.[5]

Enfin, cette technique est aussi utilisée en géophysique, prospection pétrolière, physique et science des matériaux ainsi que pour le contrôle de production de pièces et le contrôle de bagages.

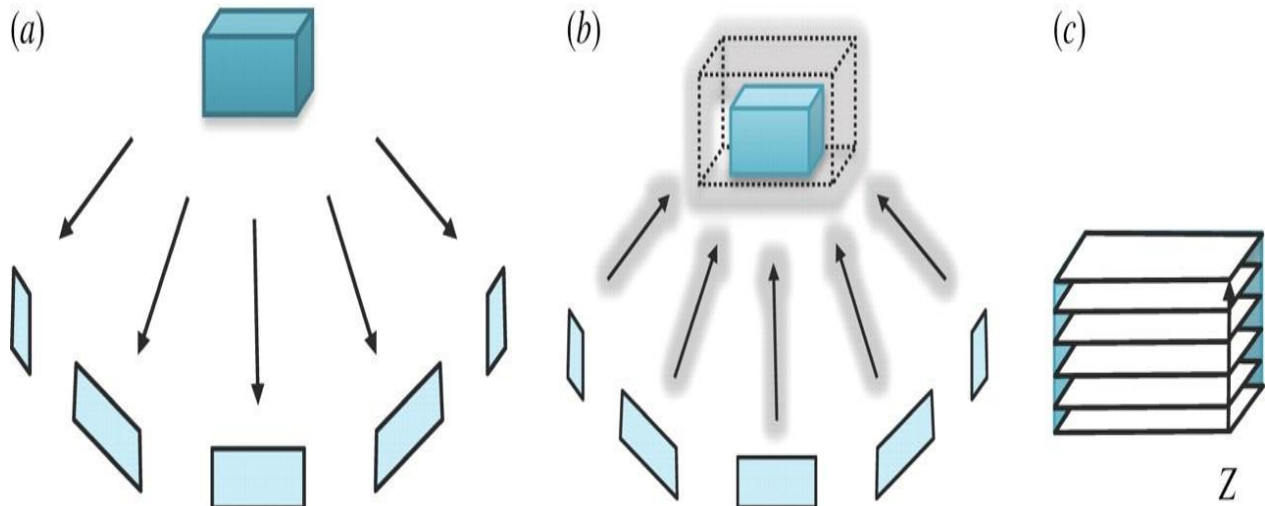


Figure I.3 (a) Acquisition : Obtention de projections d'un objet, (b) Reconstruction : de l'objet à partir de ses projections, (c) Visualisation : des différents plans de l'objet lors d'une reconstruction (vue XZ).[6]

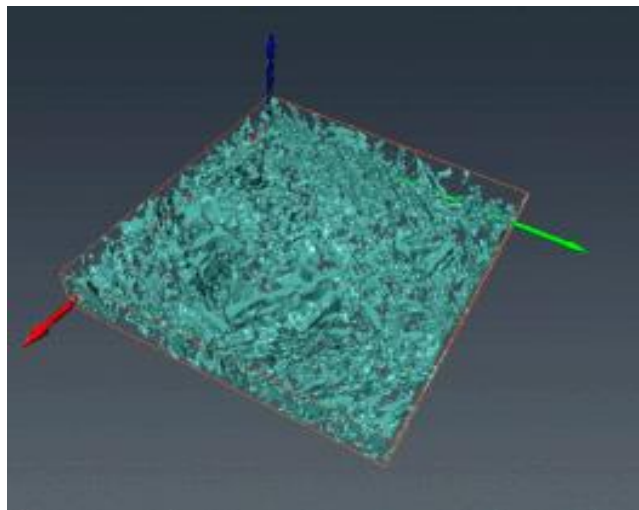


Figure I.4 cellule 3D. [7]

I.4 Les techniques :

Les principales techniques tomographiques tels que :

- la tomographie axiale calculée aux rayons X (scanner ou CT ou tomographie, dont un cas particulier est le Cone beam, qui utilise un faisceau conique et peut permettre une reconstitution 3D de la partie du corps observée).
- la tomographie en cohérence optique (OCT).
- La tomographie par découpage optique (OST).
- La tomographie par émission de positon (TEP).
- La tomographie par émission nanophotonique (SPECT, pour *single photon emission computed tomography*).
- La tomographie optique diffuse (TOD).
- Le microscope à effet de champ est parfois appelé sonde tomographique atomique ;
- la tomographie électronique (**en**) et la Cryo tomographie électronique permettent d'obtenir une représentation tridimensionnelle d'un objet à la résolution de quelques nanomètres (milliardième de mètre) à l'aide d'un microscope électronique en transmission spécialement équipé .

I.5 Tomographie électronique

Une image du MET représente une projection 2D d'une structure 3D. En appliquant la tomographie d'électrons, nous pouvons obtenir la structure 3D de l'objet en se basant sur une série d'images de projection 2D. La tomographie électronique se compose de quatre étapes principales, représentées par la figure 1.9. Dans la première étape, une série d'images d'inclinaison est établie à partir de la même région d'intérêt sur une plage d'inclinaison par incréments angulaires de 1 ou 2 degrés. La série d'images obtenue est alignée sur un axe d'inclinaison commun afin d'éliminer les décalages et les rotations relatives entre les images successives. Une reconstruction est calculée en appliquant un algorithme sur la série d'images alignées. Dans la dernière étape, une segmentation du tomogrammes reconstruit est effectuée afin de faciliter une analyse ultérieure.

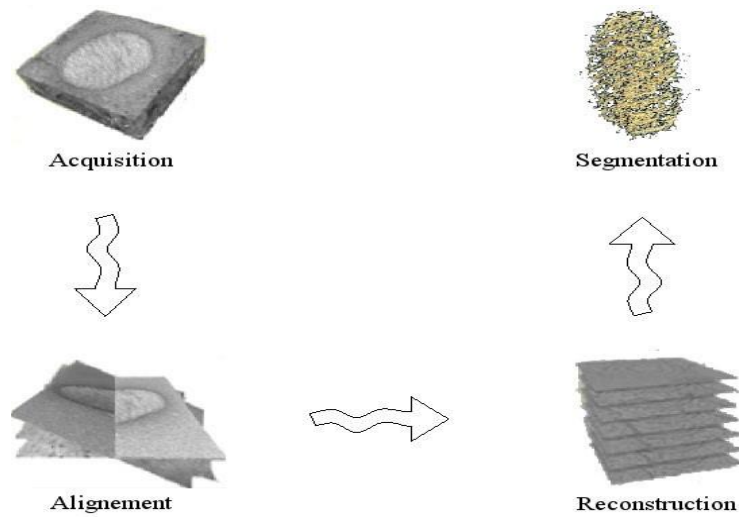


Figure I.5 Etapes successives du processus de reconstruction 3D tomographie.[8]

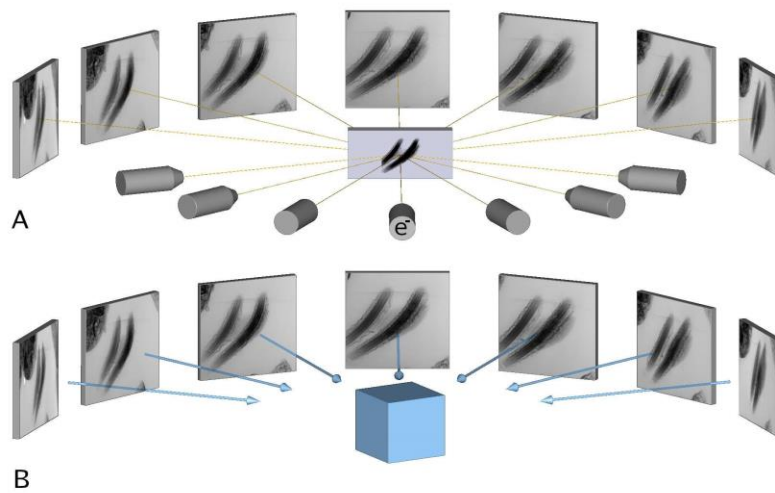


Figure I.6 Principe de reconstruction 3D à partir de projections 2D. (A) Les projections générées à différents angles de l'objet d'intérêt peuvent être combinées (B) pour reconstruire le volume de l'objet. Pour cela, il est nécessaire de connaître les angles utilisés pour chaque projection.[2]

I.5.1 L'acquisition

L'acquisition avec un seul axe est le système d'acquisition le plus général. Elle est basée sur l'inclinaison de l'échantillon autour de l'axe excentrique du porte objet du microscope avec un minimum d'inclinaison angulaire constante, qui se déplacerait sur une grande et large plage d'inclinaison possible. A ce stade, il faut surtout prendre en considération l'épaisseur de l'échantillon. En effet, l'épaisseur augmente selon l'angle d'inclinaison. Afin de corriger cette variation au niveau de l'épaisseur, faite tout au long de la série d'inclinaisons, le pas d'incrément de Saxton peut être utilisé. Le schéma de Saxton utilise des pas d'incrément de taille plus petite lorsque les angles d'inclinaison sont plus élevés pour compenser la perte en échantillonnage de l'objet. Les angles d'inclinaison pour le schéma de Saxton sont donnés par :

$$\theta_{n+1} = \theta_n + \sin^{-1}(\sin\theta_0 \cos\theta_0) \quad (\text{I. 1})$$

Où θ_0 est l'angle initial d'incrément.

Lors de l'inclinaison du porte-objet avec un angle θ , l'épaisseur effective, où les électrons traversent, augmente avec un facteur $1/\cos\theta$. Ce type de géométrie produit deux principaux types d'artefact d'imagerie, à savoir l'allongement des structures dans la direction de l'axe Z et une diminution de contraste dans la direction de l'axe X [GBKC13]. Le développement de la microscopie à deux axes pourrait compenser partiellement ce problème. En effet, cette technique requiert une rotation du spécimen autour d'un deuxième axe perpendiculaire au premier et réduit ainsi le problème du prisme triangulaire manquant à un problème de pyramide manquante [DKBB10]. L'effet de cette technique est illustré dans la figure 1.11. La tomographie à deux axes est capable de corriger de manière efficace le second type d'artefact (la diminution de contraste) [GBKC13]. Cependant, l'application de ce type de cette technique est difficile, car l'effet de radiation augmente dans la deuxième série d'acquisitions. Pour cette raison, Guesdon et al. [GBKC13] suggèrent de propager la dose d'électrons sur les deux séries d'axes d'inclinaison par l'acquisition alternant entre les deux axes (en changeant l'axe après chaque image capturée).

I.5.2 Alignement

Nous commençons par mentionner le problème d'incertitude des angles d'acquisition dû à l'impression d'inclinaison mécanique du microscope. L'incertitude angulaire est considérée comme un facteur négligeable dans la tomographie électronique [Col98], par conséquent la majorité des approches de l'alignement proposées pour corriger la transformation géométrique d'acquisition ne traitent pas l'incertitude. En fait, la résolution de la reconstruction a été médiocre lors de publication de [Col98], donc la correction de l'incertitude angulaire n'a aucun effet sur la résolution de l'objet reconstruit. De nos jours, et en raison de l'amélioration des techniques d'acquisition et de reconstruction, la résolution devient un facteur important, surtout quand nous cherchons à reconstruire et localiser de petites particules telles que ribosome et nucléosomes. Traiter l'incertitude angulaire permettra une meilleure résolution de reconstruction.

De plus, lors de l'acquisition des images de projection à différents angles d'inclinaison, tout mouvement de l'échantillon se traduit notamment par des changements locaux entre les différentes images acquises. Afin d'obtenir une reconstruction 3D de la série d'inclinaison, ces changements locaux doivent être compensés. En réalité, ces derniers ne peuvent être complètement soustraits, mais sont réduits. Aussi, pour compenser ces décalages, nous recherchons un axe de basculement commun pour toutes les images obtenues. Généralement, la procédure d'alignement est introduite par plusieurs méthodes tels que à base (bille d'or ...) ou bien développée (sift, surf.....)

I.5.3 Reconstruction

Le but de la reconstruction tomographique consiste à obtenir la structure en 3D de l'échantillon dans la série d'inclinaisons alignées proposées. La structure en 3D peut être reconstruite soit par les méthodes analytiques soit par les méthodes algébriques. Les méthodes analytiques sont fondées sur la transformée de Radon. La reconstruction peut être également effectuée par une technique algébrique itérative, qui traduit le problème de la reconstruction en un ensemble d'équations linéaires : $Ax = b$ (1.5) où A est la matrice de projection, x est l'objet d'origine et b est l'ensemble des données de projection. La solution au problème de reconstruction est alors établie sur la base d'un procédé itératif.

I.5.4 Segmentation

Le tomogramme 3D est une image volumique en niveaux de gris qui est difficile à exploiter directement. Il est donc nécessaire de segmenter les objets d'intérêt pour étudier le tomogramme. Nous rappelons que la segmentation est un processus de traitement d'images permettant de décomposer une image en des régions cohérentes et de localiser les objets d'intérêt. Généralement, cette segmentation est manuelle. La segmentation peut se faire à l'aide des logiciels comme l'IMOD [KMM96], où l'utilisateur trace manuellement les bordures des particules d'intérêt dans chaque coupe du tomogramme. Ensuite, le logiciel fait la liaison entre les bordures tracées dans chaque coupe, et donne une couleur différente pour chaque structure trouvée. Plusieurs logiciels sont utilisables pour visualiser des tomogrammes segmentés.

L'objectif de la segmentation est de grouper les pixels ou voxels en sous-ensembles qui correspondent à des régions ou des objets significatifs pour rendre la visualisation plus sémantique et l'interprétation plus facile. Pour l'œil humain, le limite des objets et des régions significatives intuitive. Cependant, il est difficile pour l'ordinateur de trouver des critères quantitatifs qui définissent des zones significatives sur la base des propriétés de pixels tels que les contours, la luminosité, la couleur, la texture, etc. En microscopie électronique, la caractéristique d'intérêt correspond généralement à des pixels possédant des intensités différentes par rapport à l'arrière-plan, au moins localement, ou celles regroupées dans certains modèles. Donc, l'interprétation de ces données nécessite la discrimination des caractéristiques structurelles significatives de ces régions sur l'arrière-plan de l'image qui présente des artefacts et un rapport de signal-bruit très faible. L'objectif est de localiser ces régions dans l'image, puis effectuer la segmentation. La nécessité d'une segmentation devient plus importante pour les images 3D. En plus de l'augmentation de la complexité, la compréhension d'une image 3D est beaucoup plus difficile, en raison des capacités limitées de visualisation. La perception des certains objets est entravée de manière significative, lorsqu'ils sont occultés par d'autres objets ou bruités. Pour ces raisons, la segmentation assistée par ordinateur est une tâche importante dans le cadre de la tomographie électronique.

I.6 Historique de la microscopie électronique

L'histoire de la microscopie électronique remonte aux travaux de Louis De Broglie en 1929 [Bro29], qui a découvert que les électrons peuvent être traités comme une onde, d'où l'idée de les utiliser sous forme de faisceau lumineux dans un microscope. C'est à l'aide de ses travaux qu'Ernst Ruska mit en œuvre les premières lentilles électromagnétiques, qui ont été utilisées par la suite pour la mise en place du premier microscope électronique en 1931. En 1986, Ernst Ruska a reçu le prix Nobel suite à cette découverte [WC0]. Par la suite, plusieurs chercheurs de l'Université de Cambridge ont développé la théorie du contraste de diffraction électronique pour déterminer les structures de cristal des matériaux cristallins (HHW60. Et c'est depuis les années 1970 que de nombreux METS ont été développés pour identifier, par imagerie à haute résolution, chaque atome d'une structure cristalline [WC09].[9]

1932 **Ernst Ruska** étudiant en thèse chez Knoll à Berlin construit le premier microscope électronique dont la résolution au début était moins bonne qu'un microscope optique.

- 1938 **Ruska et von Borries** atteignent **10 nm** de résolution Ruska dû attendre 1986 pour se voir attribuer le prix Nobel.

- 1939La société allemande Siemens commercialise le premier microscope électronique à transmission. Grandissement 1.000.000 X. [10]



Figure I.7 Premier microscopie électronique

Le potentiel des électrons est porté à 50kV et la résolution est de l'ordre 5nm autour de 1940. Le nanomètre est atteint en 1958 par Philips et en 1979 la résolution est de 0.5nm pour un potentiel de 200kV.[10]



Figure I.8 Microscopie électronique en transmission.[10]

I.7 La microscopie électronique

Le microscope électronique (EM) fait référence à une méthode qui permet d'analyser et d'observer des images à très haute résolution de divers échantillons vivants et non vivants. Ces types de microscopes sont utilisés la recherche biomédicale afin d'examiner la forme et la structure pour détaillées des tissus, cellules, organites et autres complexes macromoléculaires. Les électrons (qui agissent comme une source de rayonnement lumineux dans ce cas) ont des longueurs d'onde très courtes qui aident à produire une haute résolution d'images de microscopie électronique. Généralement, la microscopie électronique est combinée à un certain nombre de techniques auxiliaires telles que l'immuno- marquage, la coupe mince, la coloration négative, etc. pour examiner certaines structures spécifiques. Les images microscopiques électroniques peuvent fournir des données importantes.[11]

Il y a deux types de microscopie électronique sont :

- A balayage
- A transmission

I.7.1 Microscopie Electronique à Balayage (MEB)

L'étude par Microscopie Electronique à Balayage (MEB) ou SEM (Scanning Electron Microscope) présente un avantage dans l'étude des matériaux utilisant une sonde électronique. La surface ou souvent les couches superficielles sont caractérisées en MEB, des images reflètent l'aspect de la surface explorée.

Le principe de fonctionnement du MEB est basé sur l'irradiation du matériau sous vide (10^{-7} Torr) par un faisceau électronique très fin et très énergétique de l'ordre de 30 à 40 keV délivré par un canon à électrons [12]. Ce faisceau balaye, point par point, la surface du matériau. Son schéma de principe est présenté par la figure 1

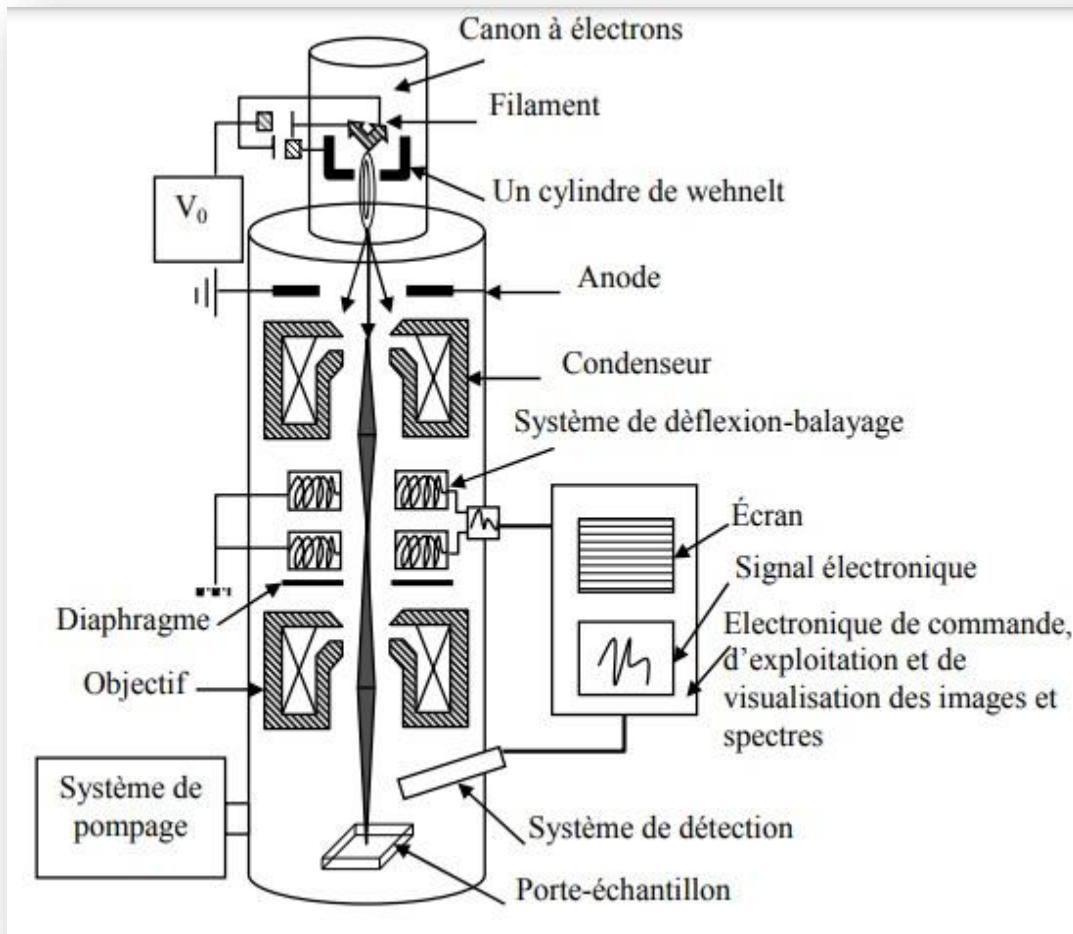


Figure I.9 Schéma de construction d'un Microscopie Electronique à Balayage.[13]

Les électrons primaires sont focalisés et dirigés vers la surface. L'interaction des électrons primaires avec la surface produit diverses émissions (des électrons secondaires vrais et Auger). Ils peuvent être aussi des électrons inélastiques et des électrons élastiques et même des photons. L'intensité de chaque signal relatif à ces émissions est enregistré de façon synchrone avec le balayage du faisceau sur l'échantillon. Un système électronique permet de convertir ces signaux en image.[14,15]

La pénétration des électrons à 40 keV peut atteindre quelques micromètres et constitue une distribution sous forme de poire (figure I.10). Le faisceau primaire excite les électrons de l'échantillon en libérant un nombre important d'électrons secondaires pouvant atteindre différentes énergies. Ce sont les électrons secondaires faiblement énergétiques ($E < 50\text{eV}$) et provenant d'une faible profondeur ($< 10\text{ nm}$) qui sont analysés en MEB et donnent des renseignements sur la topographie de la surface.

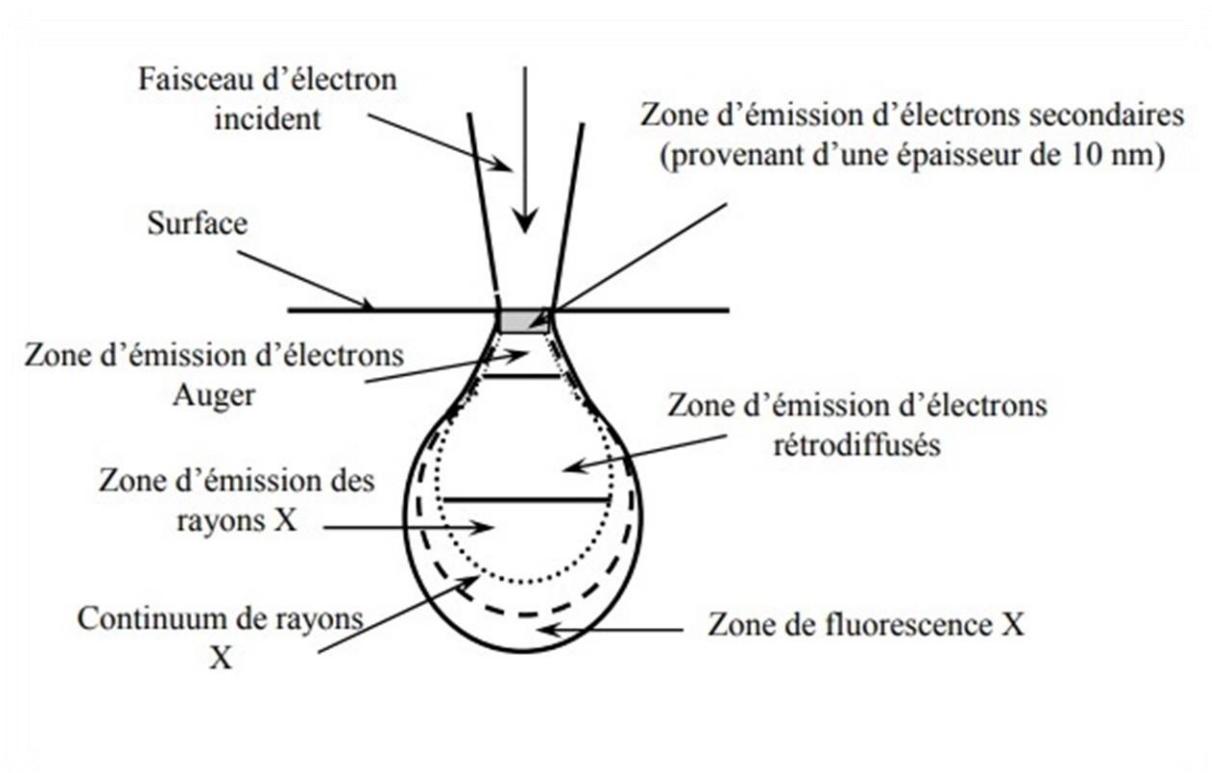


Figure I.10 Interaction électron-matière.[13]

L'évolution de l'image lors d'une croissance peut nous renseigner par exemple : sur la cristallisation ou non, sur la taille des grains, et parfois on peut remonter à la mesure de l'épaisseur de la couche formée.

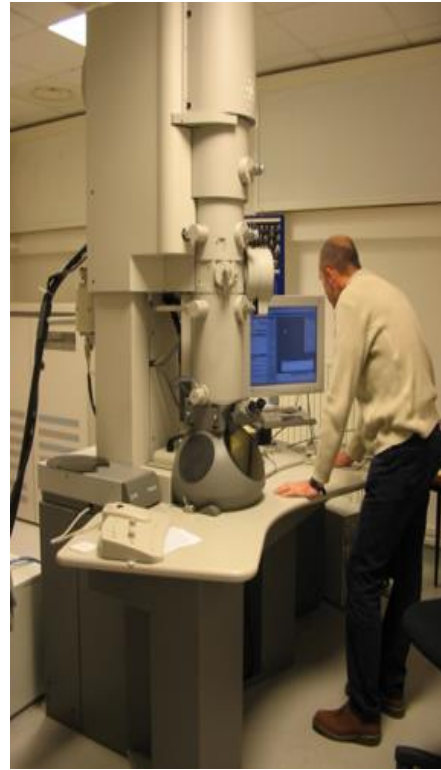
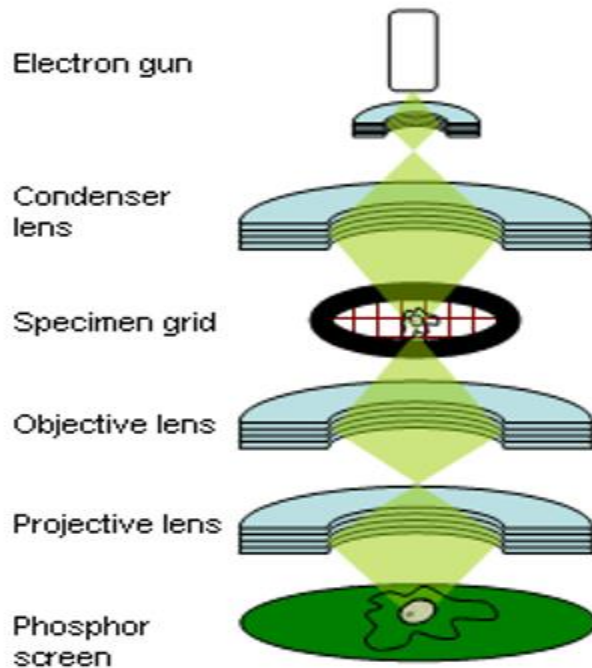


Figure I.11 schéma de construction de la microscopie à balayage.[10]

I.7.2 Microscopie électronique en transmission (MET)

Le microscope électronique en transmission est un microscope électronique permettant de visualiser des objets bien plus petits que des cellules. Le microscope électronique en transmission (MET ou TEM en anglais) utilise un faisceau d'électron à haute tension, émis par un canon à électrons. Des lentilles électromagnétiques sont utilisées pour focaliser le faisceau d'électrons sur l'échantillon. En traversant l'échantillon et les atomes qui le constituent, le faisceau d'électrons produit différentes sortes de rayonnements. En général, seuls les électrons transmis sont alors analysés par le détecteur, qui traduit le signal en image contrastée.

Si la préparation des échantillons est plus longue et plus contraignante que pour une microscopie optique, la résolution offre une vue incomparable des structures. La microscopie électronique en transmission permet de visualiser les organites intracellulaires, des virus, des cristaux..[16]

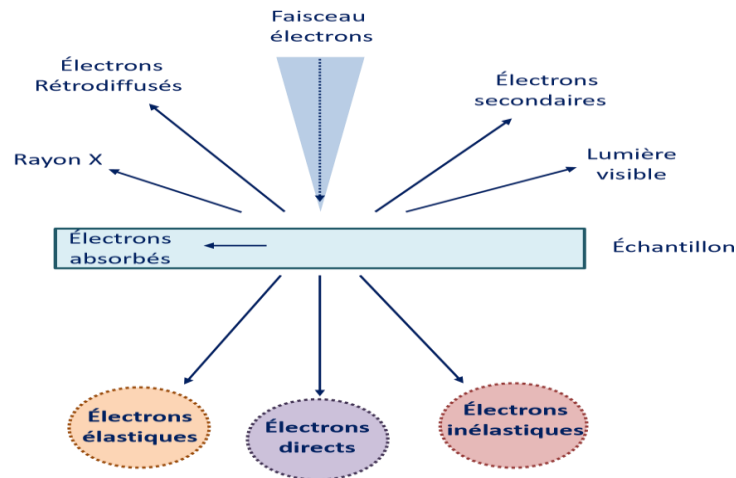


Figure I.12 – Schéma des signaux résultant d'interactions entre les électrons et les échantillons ainsi que leurs relations avec les différents modes d'imagerie en microscopie électronique en transmission.[2]

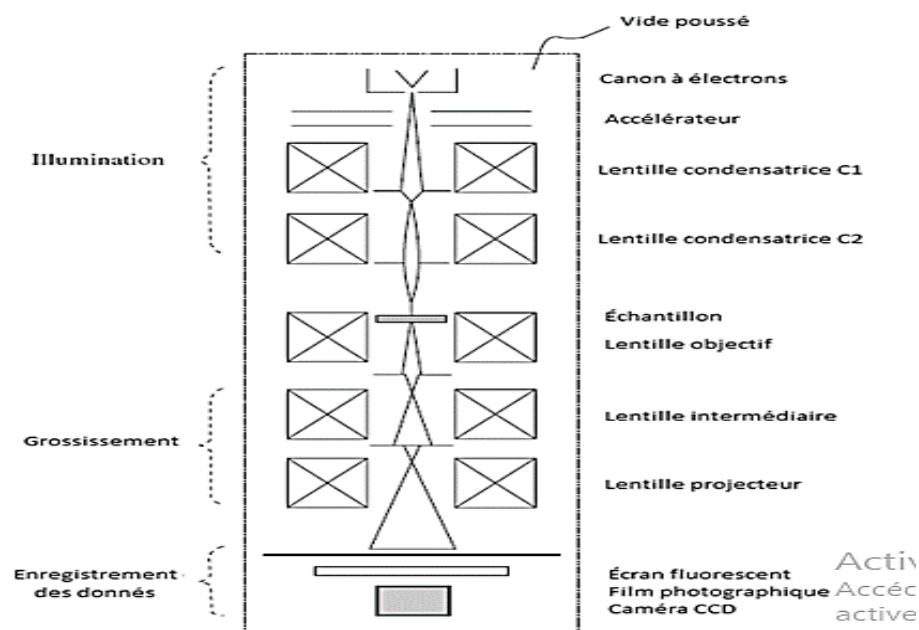


Figure I.13 Schéma simplifié du parcours optique d'un microscope électronique à transmission

Le microscope électronique à transmission utilise une source de lumière monochromatique, le faisceau d'électrons, large dont la longueur d'onde est très petite ($\lambda = 0,014 \text{ \AA}$ pour une tension accélératrice de 300 kv) traversant des échantillons formés par des couches minces contrairement au MEB. Dans ce type de microscopie des images sont formées avec des électrons directs n'ayant subis aucune interaction avec l'échantillon ou n'ayant subis que des interactions élastiques. Une forte interaction inélastique détériore la qualité des images.

Un faisceau d'électrons extrait d'un filament est accéléré par une forte tension (de l'ordre de 50.000 à 3.000.000 V) au niveau du canon. Des lentilles électromagnétiques sont utilisées pour guider le faisceau d'électrons et lui donner ses caractéristiques (faisceau parallèle pour la caractérisation des défauts de réseau ou faisceau convergent pour la microanalyse), le faisceau d'électrons est focalisé sur l'échantillon (focalisé par des champs magnétiques de l'ordre du tesla). En traversant l'échantillon et les atomes qui le constituent, le faisceau d'électrons produit différentes sortes de rayonnements (électrons du faisceau peuvent être traités soit comme des particules, soit comme des ondes). En général, seuls les électrons transmis sont alors analysés par le détecteur, qui traduit le signal en image contrastée. Les échantillons doivent être préparés selon un protocole précis, qui doit à la fois conserver leurs structures et être conducteurs pour laisser passer le faisceau d'électrons.[13]

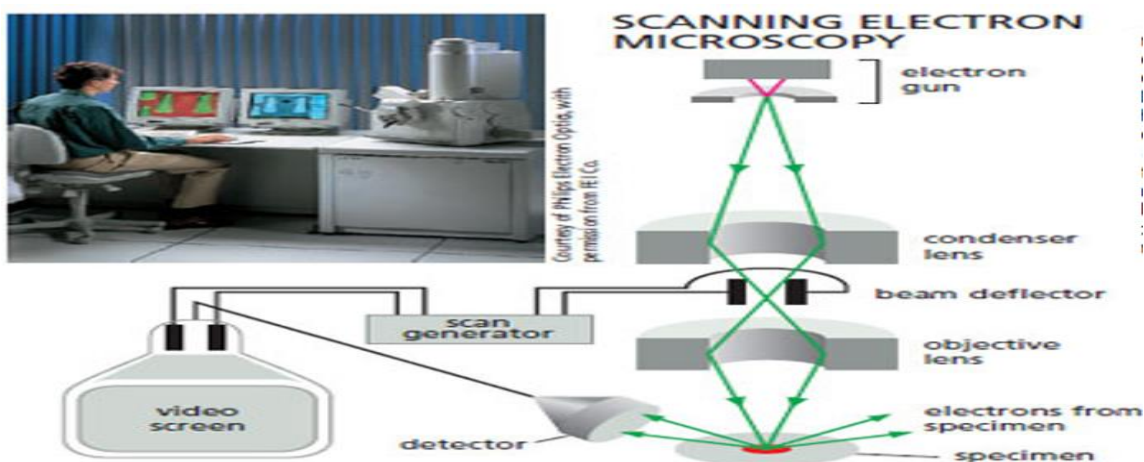


Figure I.14 microscopie électronique en transmission.[10]

I.8 Les avantages de la microscopie électronique

La microscopie électronique présente un ensemble d'avantages tels que :

- La microscopie électronique permet d'analyser et d'observer des images à très haute résolution de divers échantillons vivants et non vivants.
- Les images au microscope électronique peuvent fournir des données importantes sur la base Structurale de la fonction cellulaire / tissulaire et de la maladie cellulaire qui n'est pas résolue d'autres types de correctement par microscopes.
- La microscopie électronique permet l'imagerie de structures biologiques extrêmement délicates sans les endommager.
- La microscopie électronique fournit des images extrêmement précises si elle est correctement config. [15]

I.9 Conclusion

En conclusion, Dans ce chapitre, nous avons détaillée la tomographie électronique et ses étapes essentielle et aussi exposé le principe de la microscopie électronique et ses types puis celui de la tomographie électronique. Cette dernière est très intéressante pour comprendre et caractériser les échantillons biologiques. Dans le chapitre suivant, nous présenterons l'alignement qu'est une étape importante du processus de reconstruction 3D d'un tomogramme.

REFERENCES

- [1] [Wanzhong He](#) et [José-Jesús Fernández](#) janvier 2015 [electron tomography] recherche gate.
- [2] Verguet, Amandine. *Développements méthodologiques et informatiques pour la microscopie électronique en transmission appliqués à des échantillons biologiques*. Diss. Université Paris Saclay (COMUE), 2019.
- [3] Servières, M. (2005). Reconstruction tomographique
- [4] [Tomographie — Wikipédia \(wikipedia.org\)](#)
- [5] Amroune Ilyas [mise en œuvre et évaluation de la méthode SIFT] faculté de technologie, université de M'sila.
- [6] Verguet, Amandine. Rapport de stage 2015[mise en œuvre et évaluation de l'algorithme (scale invariant feature transform)] application a l'alignement d'images de projection en reconstruction tomographique.
- [7] [Tomographie Argilite CDavy 2.gif \(265×225\) \(univ-lille.fr\)](#)
- [8] Rojbani, Hmida. *Alignement-reconstruction simultanée de tomogramme électronique et extraction de volume de ribosome*. Diss. Université de Strasbourg, 2016,1 ère édition, Presses Potviechnioves et Universtaires Romandes 3, 1998.
- [9] Réda BENTATA 2011 [segmentation d'images tomographiques par émission de positions] université Es-Sénia Oran faculté des sciences
- [10] L'état de l'art des méthodes d'alignements du microscope électronique à transmission
- [11] [Microscope électronique | De travail | 2 types importants | Les usages \(lambdageeks.com\)](#)
- [12] JEAN-PIERRE EBERHART "1ère édition DNOD, Paris, 1997
- [13]: Touaa zaza 2019 [caractérisation par microscope à force atomique des nano agrégats d'argent métallique formés sur substrat de silicium et sur des couches minces d'alumine] département de physique faculté des sciences, université ES-Sénia d'Oran.
- [14]: JEAN VASTEL ingénieur de L'Ecole Nationale Supérieure des Axts et Métiers et de l'Ecole Supérieure d'Electricité
- [15]: Joannie Martin [Optimisation des paramètres expérimentaux pour l'analyse des fibres d'amianté par microscopie électronique en transmission] université Montréal s.n 2016

[16] : [Définition | Microscope électronique en transmission - MET - TEM | Futura Santé \(futura-sciences.com\)](#)

.



ALIGNEMENT

Sommaire

II.1 Introduction	26
II.2 Alignement	26
II.3 Principe d'alignement	27
II.4 Techniques de détection et d'alignement	28
II.4.1- <i>Corrélation croisée</i>	28
II.4.2- <i>Marqueurs fiduciaires</i>	30
II.4.3- <i>Algorithme basé sur l'Information Mutuelle</i>	32
II.5 Techniques Développées	34
II.5.1- <i>SIFT (Scale Invariant Feature Transform)</i>	34
II.5.2- <i>DOG (Difference of Gaussian kernel)</i>	37
II.6 La mise en correspondance des images	46
II.8 Sift et ses algorithmes	48
II.9 Conclusion.....	48
BIBLIOGRAPHIE	49

II.1 Introduction

L'alignement est une étape importante dans la reconstruction 3D des images tomographiques, en pratique, l'algorithme de reconstruction nécessite l'utilisation d'images projetées. Ceux-ci doivent être inclinés autour de l'axe sans décalage ni distorsion, les méthodes d'acquisition actuelles, bien qu'efficaces, ne peuvent pas compenser complètement la dérive mécanique induite par l'instrument, dans ce cas, un alignement post-acquisition doit être appliqué pour obtenir une reconstruction précise de l'objet.

II.2 Alignement

L'alignement d'image est le processus de correspondance d'une image appelée modèle (désignons-la comme T) avec une autre image I (voir la figure ci-dessous). Il existe de nombreuses applications pour l'alignement d'images, telles que le *suivi* d'objets sur vidéo, l'analyse de mouvement et de nombreuses autres tâches de vision par ordinateur.[1]

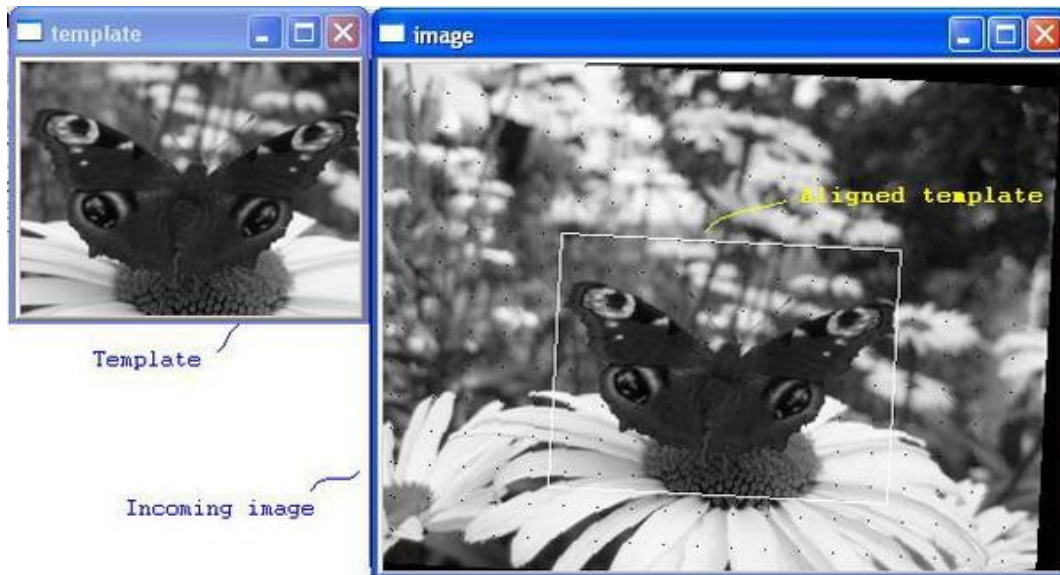


Figure II.1 Processus d'alignement d'images.[1]

Le but de l'alignement est de minimiser l'écart entre les structures similaires d'une scène afin de compenser les différences spatiales entre eux qui sont dues aux systèmes d'acquisition ainsi qu'au sujet étudié. Il s'agit alors de trouver la transformation géométrique qui permette de mieux les

superposer et ainsi d'en faciliter l'interprétation, On fait recours à un algorithme d'alignement pour des nombreuses applications de traitement automatique d'image et à chaque fois qu'on veut combiner les informations fournies par deux images obtenues à différents instants, par différents points de vue .Le résultat du l'alignement peut être donné soit sous la forme d'un vecteur de paramètres caractérisant la transformation qui mettre en commun les informations fournies par une ou plusieurs sources à différents instant soit sous celle d'une image résultante de l'application .

II.3 Principe d'alignement

Le principe d'alignement d'image, soient images I_1 et I_2 . Mais on trouve qu'il y a un problème d'alignement qui consiste à déterminer la transformation qui aligne parfaitement ces deux images. Les étapes importantes d'un algorithme d'alignement s'annoncent tels : quelles informations doivent être utilisées pour guider l'alignement ? Comment pouvez-vous déterminer à quel point deux images sont similaires ? Comment déformer une image ? Quelle est la meilleure façon de trouver la meilleure déformation ?

Ces questions susmentionnées conduisent au formalisme suivant :

L'alignement consiste à déterminer une transformation T comme :

$$T = \arg \max S(f_1(I_1), f_2(T(I_2))) \quad (II.1)$$

$I_1 \approx (I_2)$: La transformation ou déformation doit être la différence entre les fonctions I_1 et (I_2) . Soit la plus faible possible en fonction d'une mesure donnée de dissemblance entre deux signaux. D'autre part, cette transition devrait également être degré maximal de similitude entre les fonctions I_1 et (I_2) .

- T doit être suffisamment régulier pour que les caractéristiques I_2 soient respectées.

Comme nous le verrons dans l'équation, f_1 et f_2 sont des fonctions qui extraient les caractéristiques de l'image

- S est une fonction de similarité définie sur l'espace des caractéristiques extrapolées.

« Arg max » 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.

Notons que comme mesure de dissemblance, cette procédure sera « arg min », recherchant la plus petite valeur dans l'espace de recherche défini par les paramètres de T.

Lors de l'alignement d'un ensemble de m signaux, dans notre cas m images d'une série d'inclinaison ($I_1, I_2, \dots, I_m$), les symboles I_1 et I_2 représentent une paire d'images successives de la série d'inclinaison, I_1 est l'image de référence.

Le but est de trouver m transformations (translation ou rotation) suffisamment régulières pour que les fonctions déformées (images alignées : $T(I_1)$ et $T(I_2)$) soient alignées de manière optimale par rapport à une quantité particulière de données. Dans les prochains paragraphes, nous passerons en revue les différentes méthodes. [2],[3],[4]

II.4 Techniques de détection et d'alignement

Il existe différentes techniques pour l'alignement d'images. Cette section va présenter les techniques d'alignement d'images qui sont applicables dans le domaine de la tomographie.

II.4.1 Corrélation croisée

La méthode d'alignement par corrélation croisée consiste à superposer deux images consécutives provenant d'une même série tomographique. On teste ainsi différentes possibilités de translations pour ne conserver que celles qui maximisent le coefficient de corrélation obtenu entre deux ensembles de pixels X et Y, correspondant aux deux images considérées. L'équation suivante permet de définir la valeur observée du coefficient de corrélation entre deux variables aléatoires X et Y :

$$Corr(x, y) = Cov(x, y) / \sigma_x \sigma_y \quad (II.2)$$

Avec $cov(x, y)$ la covariance observée des variables X, Y dans les images, et σ_x, σ_y leurs écarts types associés.

On aligne ensuite la série entière en combinant les transformations obtenues pour chaque paire d'images. L'avantage de cette technique est sa vitesse d'exécution puisqu'elle peut être optimisée en utilisant la transformée de Fourier.[5]

$$Pos Max \left(FT^{-1}(FT(imgn) * (FT) * (imgn + 1)) \right) \quad (II.3)$$

Il s'agit de réaliser une transformée de Fourier (FT) sur l'image n , que l'on multiplie par la conjuguée de la transformée de Fourier de l'image $n+1$, comme indiqué dans l'équation (1.7). En appliquant ensuite une transformée inverse, on peut obtenir la carte de corrélation recherchée. Un bon alignement peut être déterminé en utilisant les coordonnées du maximum de corrélation présent dans cette carte. L'ajustement d'une gaussienne sur le pic de corrélation permet d'extraire une position encore plus précise du maximum.

Néanmoins, cette approche en tomographie présente une limitation. En effet lors de l'acquisition, plus l'échantillon est incliné par rapport au faisceau, plus les bords de l'image se rapprochent du centre, en passant soit au-dessus, soit en-dessous du centre de l'image. Un effet d'aplatissement selon un axe apparaît, ce qui rend impossible une corrélation parfaite entre les images. Une amélioration des résultats peut être obtenue en divisant la largeur de l'image $i + 1$ par le cosinus de l'angle entre les images i et $i + 1$, dans la direction perpendiculaire à l'axe d'inclinaison. Cependant, il faut pour ce faire avoir une connaissance préalable de l'orientation de l'axe d'inclinaison. Par conséquent, cette méthode d'alignement est connue pour donner des résultats trop approximatifs. L'alignement ne cherchant pas de cohérence sur l'ensemble des images de la série. De plus, l'accumulation d'imperfections dans le calcul du coefficient de corrélation entre plusieurs images successives peut entraîner l'apparition d'une légère dérive. Enfin, cette méthode n'est pas capable de reconnaître des similitudes entre deux images ayant subi une déformation.

En réalité, cette approche ne fonctionne bien que dans le cas d'images ayant subi une translation car elle est assimilable à des comparaisons directes des images pixel par pixel. En effet, pour des images de $n \times n$ pixels, c'est l'équivalent d'une convolution dont la complexité algorithmique initiale de $O(n^4)$ est réduite par rapport à la méthode directe, en passant par l'espace de Fourier. Une telle approche de recherche directe de corrélation serait trop coûteuse en temps de calcul si d'autres types de transformations devaient être pris en compte. Ainsi, si en plus de la translation, des rotations selon différents angles devaient être corrigées, le temps de calcul augmenterait encore.

Pour d'autres types de transformations l'optimisation basée sur la transformée de Fourier ne serait plus applicable.[5],[6]

La figure (II.2) résume la démarche décrite ci-dessus. Cependant, la recherche exhaustive de la corrélation maximale reste coûteuse. Dengler propose dans [Den89] une approche de multi-résolution pour affiner les paramètres d'alignement en couplant chaque image de projection avec l'image reprojctée de l'objet reconstruit. Il est à noter que plusieurs extensions de cette approche ont été proposées dans la littérature. En outre, à chaque itération, seules deux images de projection successives sont en considération dans le calcul du paramètre de décalage. Comme cette procédure se fait de manière séquentielle pour toutes les images de projection, l'erreur s'accumule pour chaque paire d'images de projection ; ce phénomène est appelé la propagation de l'erreur [SBH84]. De plus, la corrélation croisée se concentre sur l'alignement du plan 2D et non sur un mouvement en 3D qui peut survenir dans la pratique.[7]

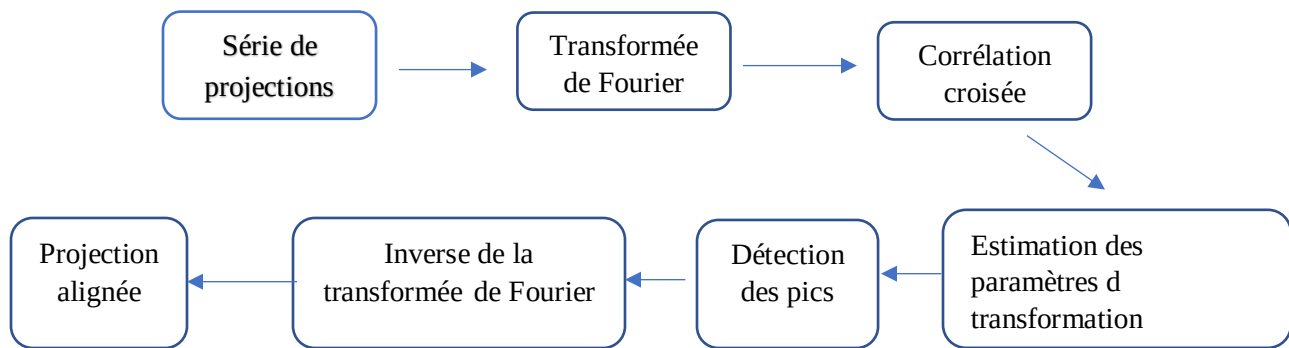


Figure II.2 Le processus de l'alignement par corrélation croisée.[7]

II.4.2- Marqueurs fiduciaux

La présence de marqueurs facilement reconnaissables sur l'image, et dont on peut mesurer précisément la position, aide à l'alignement d'une série d'images. Cette méthode nécessite généralement l'ajout de marqueurs externes dans la préparation de l'échantillon, avant l'acquisition de la série d'inclinaisons. Le choix de marqueurs fiduciaux varie selon le système d'imagerie utilisé et dépend de la taille de l'échantillon. En microscopie électronique en transmission, les marqueurs fréquemment utilisés sont les billes d'or. Grâce à son numéro atomique élevé, l'or ne laisse traverser que peu d'électrons ce qui en fait un marqueur particulièrement contrasté et donc facilement détectable. Un autre avantage de la bille d'or est

sa sphéricité, elle apparaît sur les différentes images de la série d’inclinaisons sous la forme d’un disque de taille constante, et ce quel que soit l’angle. De plus, la maîtrise de la taille de ce marqueur (qui est disponible entre 5 et 25 nm) permet de sélectionner celle qui est visible sans pour autant masquer l’échantillon. Il existe différentes approches pour la détection et le suivi de marqueurs fiduciaires :[5]

— La détection manuelle qui est une approche peu précise et longue à exécuter, car l’utilisateur doit sélectionner les marqueurs présents sur chaque image de la série.

— La détection semi-automatique qui nécessite que l’utilisateur effectue la sélection des marqueurs sur une seule image de la série, pour ensuite réaliser un suivi automatique des marqueurs. De ce fait, chaque alignement dépend de la sélection initiale, ce qui peut introduire un biais lié à une mauvaise répartition des marqueurs sélectionnés sur l’image.

— La détection automatique qui ne nécessite que l’ajustement des paramètres de détection. On considère toujours cependant un biais potentiel qui sera néanmoins, inférieur à celui des deux méthodes précédentes, car la sélection est réalisée sur un plus grand nombre de points. Les coordonnées de billes obtenues sont ensuite utilisées pour créer un modèle 3D de points fiduciaires. Le modèle va ensuite être affiné en minimisant les distances entre les projections du modèle 3D et les coordonnées des billes. Cette minimisation est possible en appliquant aux images des translations, rotations et éventuellement en prenant en compte des déformations. [10,17].

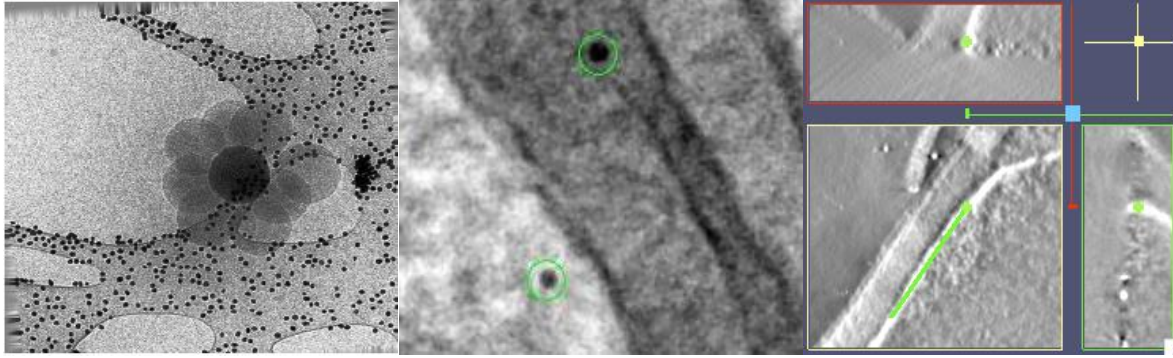


Figure II.0.3 Une série des images de projections en utilisant des marqueurs repères (leurs positions sont représentées par les points verts).[10]

II.4.3 Algorithme basé sur l'Information Mutuelle

L'information mutuelle qui est un outil de la théorie de l'information mesure la quantité d'information qu'une image donne de l'autre. En fait, on appelle information mutuelle entre deux événements I et J la quantité mentionnée par la formule suivante :

$$IM(I; J) = h(1) - h\left(\frac{I}{J}\right) \quad (\text{II. 4})$$

Où h est la mesure de l'incertitude d'un événement que s'exprime par :

$$h(E) = -\log P\{E\} \quad (\text{II. 5})$$

Avec $P\{E\}$ et la probabilité de l'évènement

Selon l'équation (2.4) l'information apportée par J sur I est la diminution de l'incertitude sur I lorsque J est réalisé on peut déduire que :

$$IM(I; J) = h(I) + h(J) - h(I \cap J) \quad (\text{II. 6})$$

Cette expression nous permet de dire que :

$$IM(I; J) = IM(J; I) \quad (\text{II. 7})$$

Notons que si I et J Independent donc :

$$M(I;J) = 0 \quad (\text{II.8})$$

Plus concrètement, pour une image de référence I et une image flottante J, l'information mutuelles' exprime par :

$$IM(I;J) = H(I) + H(J) - H(I,J) \quad (\text{II.9})$$

Avec H(X) l'entropie de X elle est donne par :

$$H(X) = -\sum P(x) \log P(x) \quad (\text{II.10})$$

Et on peut exprimer l'information mutuelle par :

$$I(I;J) = \sum P_{ij} \cdot \log \frac{P_{ij}}{P_i P_j} \quad (\text{II.11})$$

Où p_i (respectivement p_j) est la probabilité de trouver un point de l'image I (respectivement l'image J) ayant l'intensité i (respectivement l'intensité j), tandis que p_{ij} est la probabilité trouver un point de l'image I ayant l'intensité i et que son homologue dans l'image J à l'intensité j . On appelle aussi p_{ij} l'histogramme conjoint

Pour avoir la loi de probabilités, deux grandes méthodes existent :

- La méthode basée sur une loi de probabilité discrète.
- La méthode avec estimation des fonctions de densité de probabilité

La première méthode s'appuie sur l'histogramme conjoint normalisé. Ainsi pour chercher une solution, il faut une optimisation stochastique. En effet, toute la formulation du problème de recalage se trouve principalement dans le domaine discret, ainsi on est en présence d'une fonction objective non dérivable.

Cette méthode est très lente mais beaucoup plus précise. Par exemple, si deux photos représentent la même structure anatomique, une image contiendra plus d'informations que l'autre. Il y aura une information mutuelle entre les deux images, ainsi que l'utilisation d'intensités différentes. Les deux images seront transformées en une transformation de distribution d'entropie. Lorsqu'elles sont combinées, la valeur d'entropie reste la même et différentes intensités sont utilisées. Maximisation de l'information n'augmentera, ni diminuera la quantité d'information. De ce fait, l'information mutuelle est bien adaptée au recalage multimodal.

II.5 Techniques Développées

II.5.1 SIFT (Scale Invariant Feature Transform)

La scale-invariant feature transform (SIFT), que l'on peut traduire par « transformation de caractéristiques visuelles invariante à l'échelle », est un algorithme utilisé dans le domaine de la vision par ordinateur pour détecter et identifier les éléments similaires entre différentes images numériques (éléments de paysages, objets, personnes, etc.). Il a été développé en 1999 par le chercheur David Lowe.

L'étape fondamentale de la méthode proposée par Lowe consiste à calculer ce que l'on appelle les « descripteurs SIFT » des images à étudier. Il s'agit d'informations numériques dérivées de l'analyse locale d'une image et qui caractérisent le contenu visuel de cette image de la façon la plus indépendante possible de l'échelle (« zoom » et résolution du capteur), du cadrage, de l'angle d'observation et de l'exposition (luminosité). Ainsi, deux photographies d'un même objet auront toutes les chances d'avoir des descripteurs SIFT similaires, et ceci d'autant plus si les instants de prise de vue et les angles de vue sont proches. D'un autre côté, deux photographies de sujets très différents produiront selon toute vraisemblance des descripteurs SIFT très différents eux aussi (pouvoir discriminant). Cette robustesse, vérifiée dans la pratique, est une exigence fondamentale de la plupart des applications et explique en grande partie la popularité de la méthode SIFT.[15]

La méthode proposée par Lowe comprend deux étapes principales sont :

- Détection de caractéristiques et de calcul de descripteurs
- Mise en correspondance d'images

Les étapes détaillées pour l'algorithme SIFT :

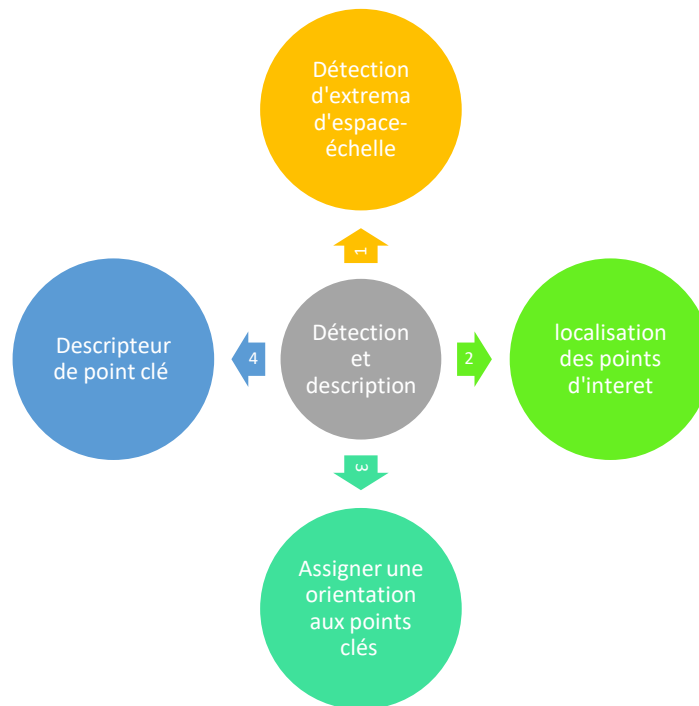


Figure II.4 Schéma des étapes détaillées de SIFT.

II.5.1.1 Détection d'extrema d'espace-échelle

L'espace d'échelle d'une image est une fonction $L(x, y, \sigma)$ qui est produite à partir de la convolution d'un noyau gaussien (Flou) à différentes échelles avec l'image d'entrée. L'espace d'échelle est séparé en octaves et le nombre d'octaves et d'échelle dépend de la taille de l'image originale. Ainsi, nous générons plusieurs octaves de l'image originale. La taille de chaque octave est la moitié de la précédente.

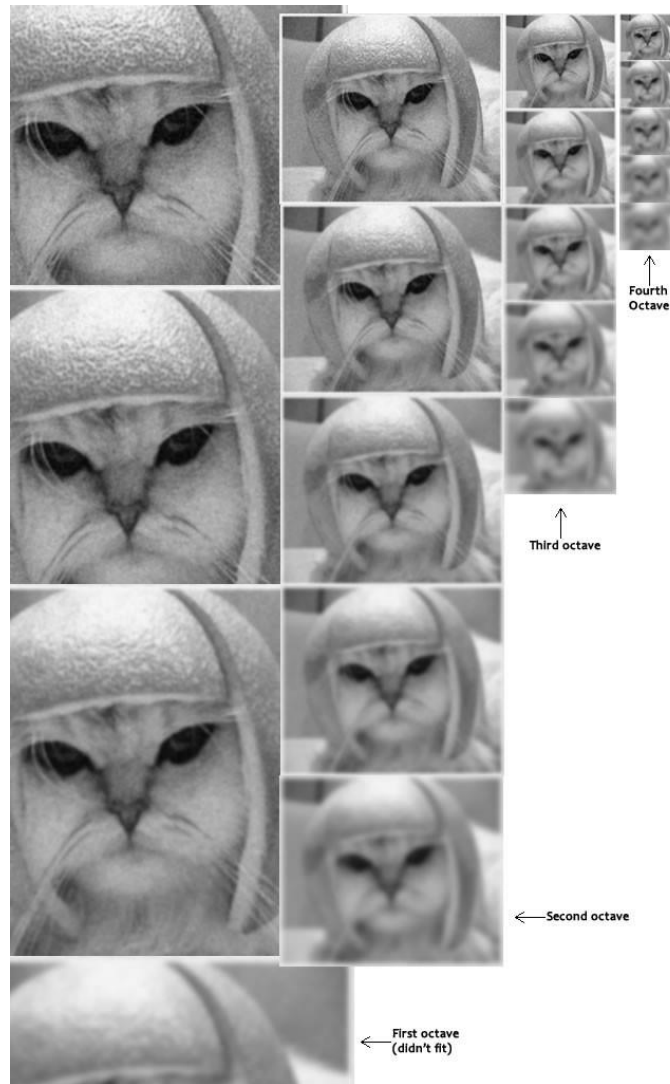


Figure II.5 Pyramides avec un gradient de facteur d'échelle σ . [16]

II.5.1.1.1 Floue vision

En une octave, les images sont progressivement floues à l'aide de l'opérateur Gaussien Blur. Mathématiquement, le « flou » est appelé la convolution de l'opérateur gaussien et de l'image. Le flou gaussien a une expression particulière ou un « opérateur » qui est appliqué à chaque pixel. Le résultat est l'image floue

$$L(x, y, \sigma) = I(x, y) * G(x, y, \sigma) \quad (\text{II. 12})$$

L : image floue

x, y : les coordonnées de localisation

σ : Facteur d'échelle

I : image

G : operateur de flou gaussien

$$G = G(x, y, \sigma) = \frac{1}{2\pi\sigma^2} \exp\left[-\frac{x^2+y^2}{2\sigma^2}\right] \quad (\text{II.13})$$

G est l'opérateur de flou gaussien et I est une image. Alors que x, y sont les coordonnées de localisation et σ est le paramètre « échelle ». Pensez-y comme la quantité de flou. Plus la valeur est grande, plus le flou est grand.

II.5.1.1.2 DOG (Difference of Gaussian kernel)

Maintenant, nous utilisons ces images floues pour générer un autre ensemble d'images, la différence des Gaussiens (DoG). Ces images de DoG sont excellentes pour trouver des points clés intéressants dans l'image. La différence de Gaussien est obtenue comme la différence de flou gaussien d'une image avec deux σ différents, soit σ et $k\sigma$. Ce processus est fait pour différentes octaves de l'image dans la pyramide gaussienne. Il est représenté dans l'image ci-dessous

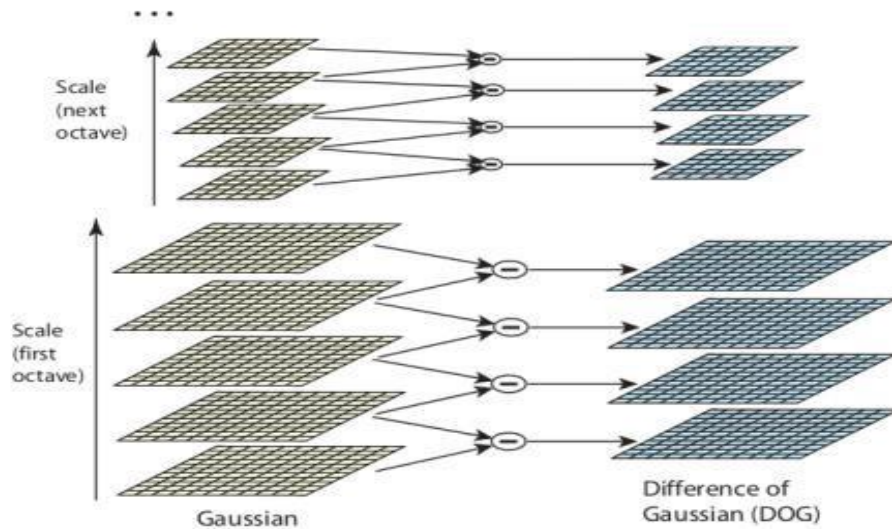


Figure II.6 Filtrage gaussien et différences de deux images gaussiennes consécutives DoG.[6]

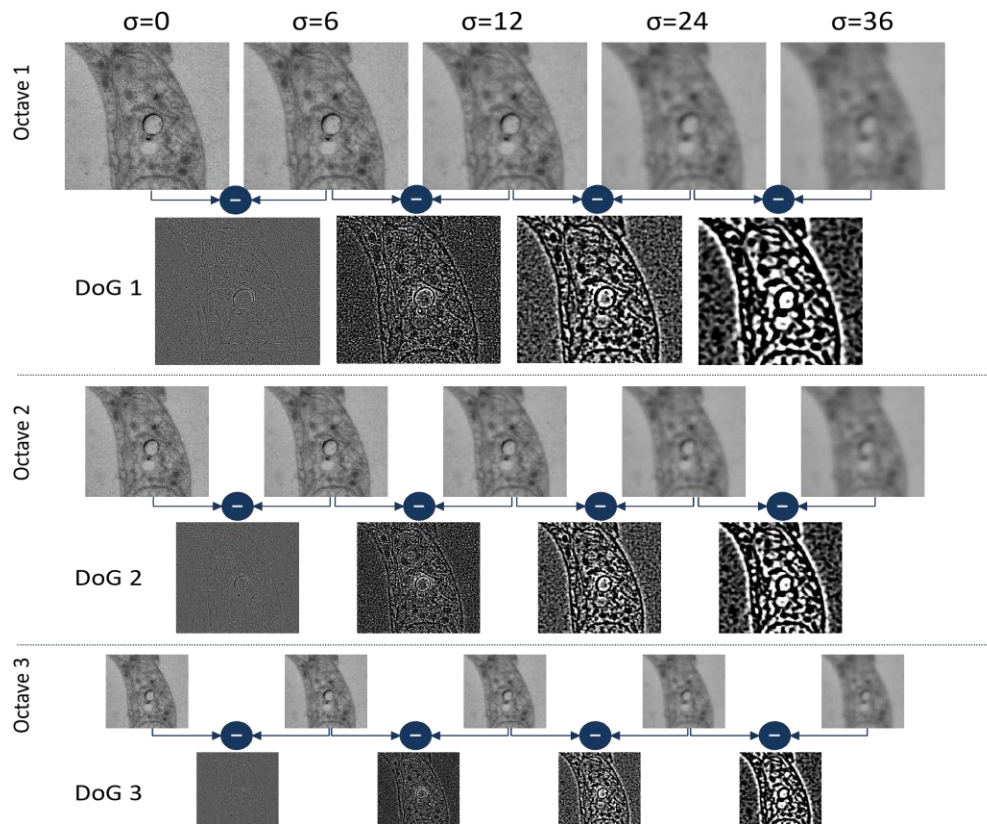


Figure II.7 Exemple d'une pyramide de différences de gaussiennes (DoG) obtenue à partir d'une pyramide de gradients. La pyramide de gradients a été réalisée sur un échantillon en résine de *Trypanosoma brucei*, elle se compose de 3 octaves (tailles d'images de 2048, 1024 et 512 pixels). Chaque octave est composée d'une image ($\sigma = 0$) sur laquelle a été appliqué différentes valeurs de flou gaussien ($\sigma = 0, \sigma = 6, \sigma = 12, \sigma = 24$ et $\sigma = 36$).[17]

Sur chaque image on applique ensuite un flou gaussien de plus en plus prononcé. Les différents flous et octaves peuvent être représentés par une pyramide d'images comme illustré par la figure 1.21. On réalise ensuite un calcul de différences de gaussiennes (DoG) entre deux images consécutives pour une octave donnée. Pour cela, on soustrait les valeurs des pixels entre deux images, afin d'extraire les extrema locaux qui correspondront aux coordonnées des points d'intérêt.

Cette étape est ensuite effectuée pour chaque octave, ce qui permet d'identifier l'emplacement de l'ensemble des points d'intérêt présents dans l'image. Ils sont ensuite stockés avec les informations

d'octave et de niveau de convolution qui ont conduit à leur détection. Toutefois, les points avec un faible contraste ou détectés sur un bord sont éliminés.

II.5.2 Localisation point d'intérêts

Trouver un point clé est un processus en deux étapes :

- Localiser les maxima/minima dans l'image du DOG
- Localisation des points de fonction et Éliminer les bords et les zones à faible contraste (localisation sous-pixel)

II.5.2.1- Localiser les maxima/minima dans l'image du DOG

Nous avons généré un espace d'échelle et utilisé l'espace d'échelle pour calculer la différence des Gaussiens. Ceux-ci sont ensuite utilisés pour calculer laplacien des approximations gaussiennes qui sont l'échelle invariante

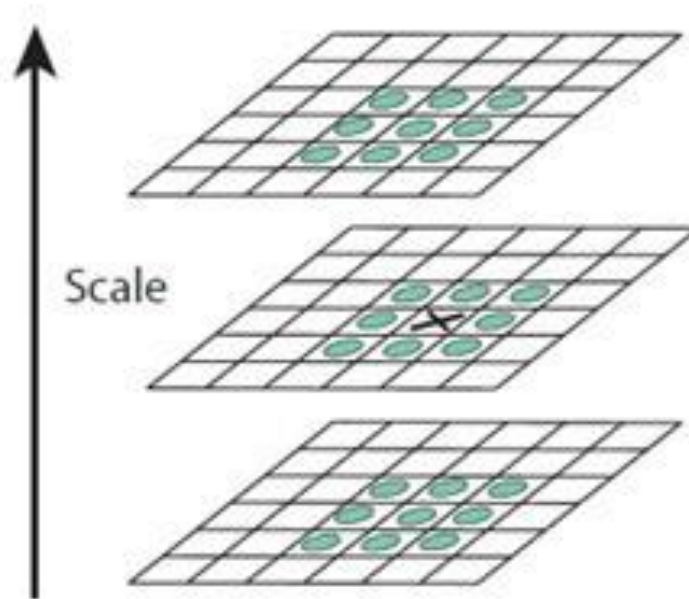


Figure II.8 Détection d'extrema locaux : le pixel X est comparé à ses 26 voisins sur 3 échelles mais dans la même octave.[16]

Un pixel dans une image est comparé avec ses 8 voisins ainsi que 9 pixels dans l'échelle suivante et 9 pixels dans les échelles précédentes. De cette façon, un total de 26 vérifications sont effectuées.

S'il s'agit d'un extrema local, c'est un point clé potentiel. Cela signifie essentiellement que le point clé est mieux représenté dans cette échelle.

Ce pixel est un point clé si sa valeur de couleur est plus grande que tout autour de lui, ou plus petite que tout autour de lui que les pixels

Mais cette méthode nous donne un très grand nombre de point clé comme dans l'image suivantes :

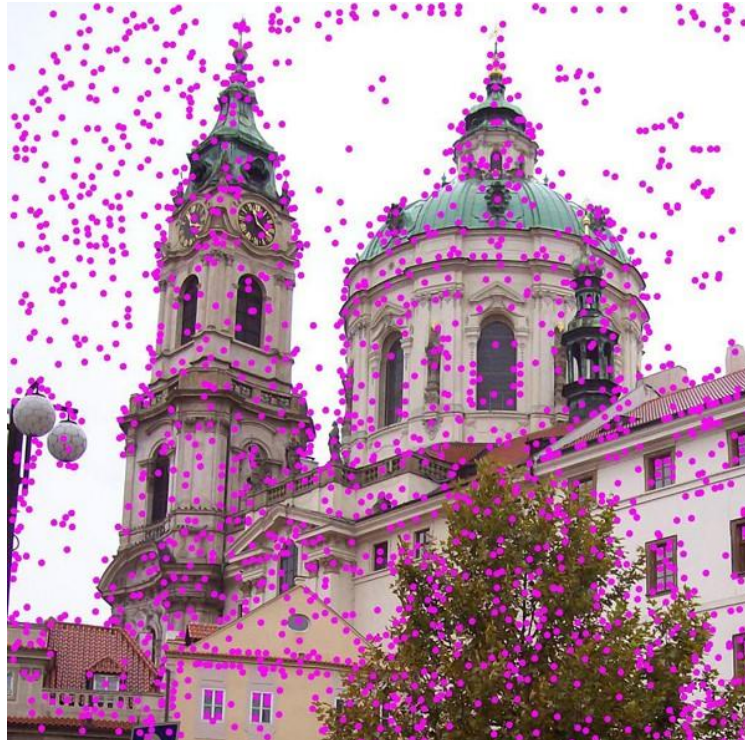


Figure II.9 Image montre un grand nombre de point clé.[20]

Pour cela, nous passons à l'étape suivante :

II.5.2.2 - Localisation des points de fonction et éliminer les bords et les zones à faible contraste (localisation sous-pixel)

Après l'étape 1, nous détectons certains points clés qui sont grossièrement localisés, au mieux au pixel le plus proche, en fonction de l'endroit où les caractéristiques ont été trouvées dans l'échelle. Ils sont également peu localisés dans l'échelle puisque σ est quantifié en relativement peu d'étapes dans l'espace d'échelle. La deuxième étape de l'algorithme SIFT affine

l'emplacement de ces caractéristiques indique une précision de sous-pixel tout en supprimant les mauvaises caractéristiques. La localisation de sous-pixel procède en ajustant une extension Taylor pour adapter une surface quadratique 3D (en x , y et σ) à la zone locale pour interpoler les maxima ou minima. En négligeant les termes au-dessus du terme quadratique, l'expansion du DoG est donnée ci-dessous lorsque les dérivés sont évalués au point $z_0 = [x_0, y_0, \sigma_0]^T$ et $z = [\delta x, \delta y, \delta \sigma]^T$ proposé est le décalage à partir de ce point

$$D(z_0+z) \approx D(z_0) + \left(\frac{\partial D}{\partial z}\right)_{z_0}^T z + \frac{1}{2} z^T \left(\frac{\partial^2 D}{\partial z^2}\right)_{z_0} z \quad (\text{II. 14})$$

L'emplacement de l'extremum $\hat{z}$ est alors déterminé en fixant la dérivée par rapport à z égale à zéro :

$$\hat{z} = \left(\frac{\partial^2 D}{\partial z^2}\right)_{z_0}^{-1} \left(\frac{\partial D}{\partial z}\right)_{z_0} \quad (\text{II. 15})$$

Les paramètres peuvent être estimés à l'aide d'approximations de différence standard par rapport aux points d'échantillonnage voisins du DoG, ce qui donne un système linéaire de 3 3 qui peut être résolu efficacement. Le processus peut devoir être exécuté de manière itérative car si l'une des valeurs de décalage calculées se déplace de plus d'un demi-pixel, il devient nécessaire de réévaluer z car le voisinage approprié pour l'approximation aura changé. Les points qui ne convergent pas rapidement sont rejetés comme instables.

La valeur à l'extrémité localisée peut être interpolée,

$$D(\hat{x}, \hat{y}, \hat{\sigma}) = D(z_0 + \hat{z}) \approx D(z_0) + (1 \cdot) / 2 \left(\frac{\partial D}{\partial z}\right)_{z_0}^T \hat{z} \quad (\text{II. 16})$$

Dans cette étape, nous rejetons tous les points que la différence de valeur gaussienne a inférieure à 0,03

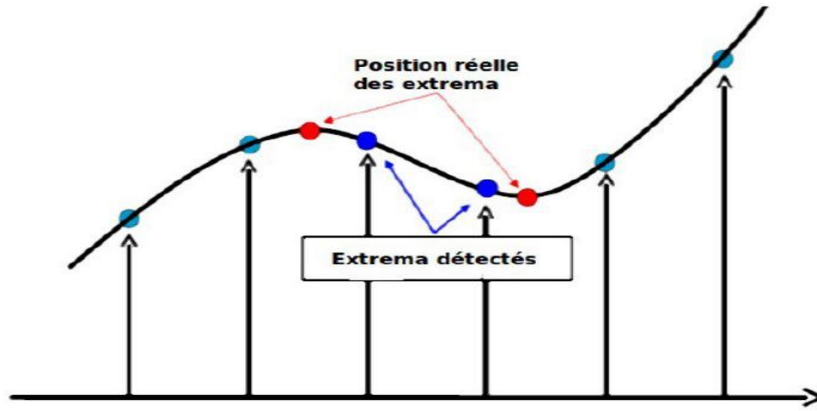


Figure II.10 Localisation des points d'intérêt : décalage entre les points détectés et le point réel d'extrémum.

Un test final est effectué pour supprimer toutes les caractéristiques situées sur les bords de l'image, car elles souffriront d'une ambiguïté si elles sont utilisées à des fins de correspondance. Un pic situé sur une crête dans le DoG (qui correspond à un bord dans l'image) aura un grand principe de courbure à travers la crête et un bas avec elle tandis qu'un pic bien défini (blob) aura un grand principe de courbure dans les deux directions. Le H de Hesse en x et y est évalué pour le point caractéristique, encore une fois en utilisant une approximation de différence locale, et le rapport des valeurs propres λ_1 et λ_2 , qui correspondent aux courbes principales, par rapport à un rapport de seuil r comme dans

$$H = \begin{bmatrix} D_{xx} & D_{xy} \\ D_{xy} & D_{yy} \end{bmatrix} \quad (\text{II. 17})$$

$$\frac{\text{Tr}2(H)}{\text{Det}(H)} = \frac{(\lambda_1 + \lambda_2)^2}{\lambda_1 \lambda_2} < \frac{(r+1)^2}{1} \quad (\text{II. 18})$$

Et les points de ratio élevé sont rejetés. Nous rejetons tous les bords qui ne sont pas des coins (corner) en utilisant le détecteur Harris.

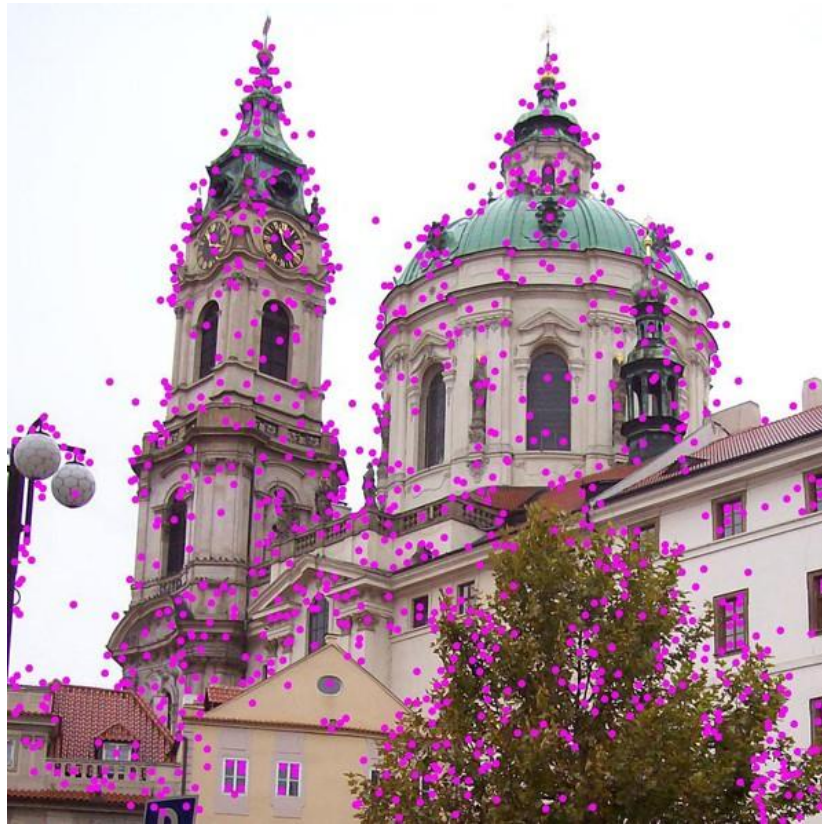


Figure II.11 Une image montre application de supprimer le faible contraste et les bords.[20]

Nous pouvons représenter le détecteur de criblage à travers des parts de points clés avec certaines longueurs et tendances déterminées par les éléments suivants :

La longueur est déterminée pour correspondre à l'échelle à partir de laquelle l'image est venu "nous avons dit que nous avons 4 échelles différentes ou 4 octaves."

Son orientation est déterminée comme la prochaine étape.

II.5.3 Assigner une orientation aux points clés

Une fenêtre (16 x16) est sélectionnée autour du point clé et, pour chaque pixel de cette fenêtre, nous calculons l'orientation du gradient selon les lois suivantes :

$$\text{GardientVector} = \begin{bmatrix} L(x+1, y) - L(x-1, y) \\ L(x, y+1) - L(x, y-1) \end{bmatrix} \quad (\text{II. 19})$$

$$m(x, y) = \sqrt{(L(x+1, y) - L(x-1, y))^2 + (L(x, y+1) - L(x, y-1))^2} \quad (\text{II. 20})$$

$$\theta(x, y) = \tan^{-1} \left(\frac{(L(x, y+1) - L(x, y-1))}{(L(x+1, y) - L(x-1, y))} \right) \quad (\text{II. 21})$$

Ensuite, nous créons un histogramme afin d'assembler les tendances en groupes de manière discrète. Cet Histogramme exprime : (Combien est son pixel d'orientation de 0 à 9 et combien est son pixel d'orientation de 9 à 18, par exemple.)

Et puis je choisis le haut de l'Orientation pour chaque fenêtre et je le sélectionne comme Orientation pour ce point clé

C'est la direction de la flèche du point clé.

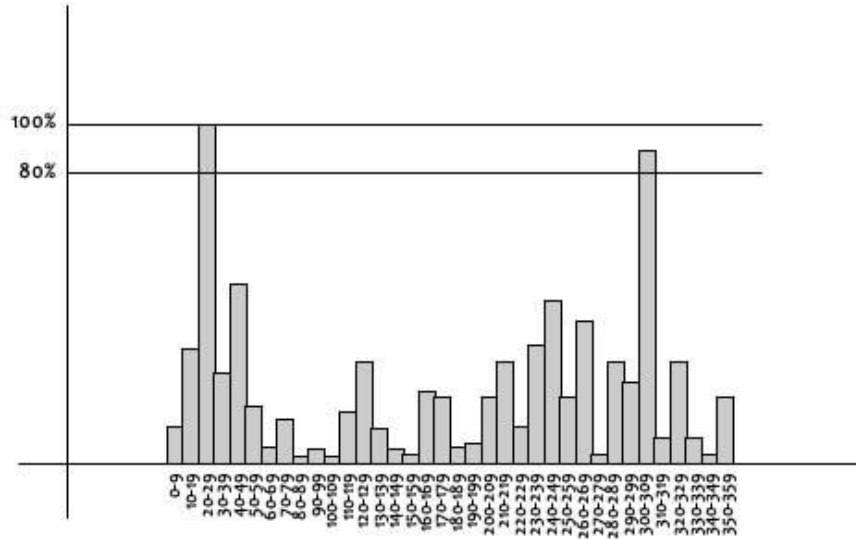


Figure II.12 Histogramme d'orientation.[16]

Le pic le plus élevé de l'histogramme est pris et tout pic supérieur à 80 % est également pris en compte pour calculer l'orientation. Il crée des points clés avec le même emplacement et l'échelle, mais des directions différentes. Il contribue à la stabilité de l'appariement.

II.5.4- Descripteur de point clé

À ce stade, chaque point clé a un emplacement, une échelle, une orientation. Ensuite, il faut calculer un descripteur pour la région d'image locale à propos de chaque point clé qui est très distinctif et invariant autant que possible aux variations telles que les changements de point de vue et d'éclairage.

Ainsi 4 X 4 descripteurs sur 16 X 16 échantillons ont été utilisés en pratique. 4 X 4 X 8 directions donnent 128 valeurs de bin. Il est représenté comme un vecteur de caractéristique pour former le descripteur de point clé. Ce vecteur de caractéristique introduit quelques complications. Nous devons nous en débarrasser avant de finaliser les empreintes digitales

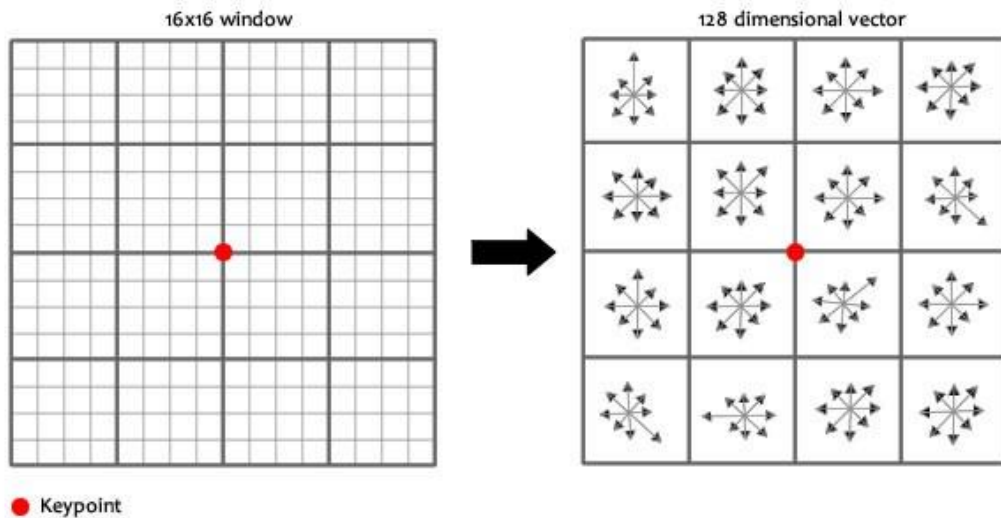


Figure II.13 Fenêtre gaussienne 16x16, à droit blocs 4x4x8 direction.[16]

Nous allons calculer l'orientation du gradient pour chaque point puis faire l'histogramme pour chaque fenêtre mais ses divisions seront les angles de chacun = 45 degrés et 360 degrés sont divisés en 8 divisions comme dans la figure suivante :

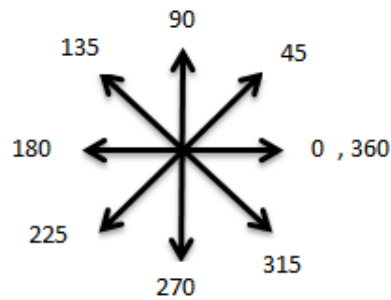


Figure II.14 Angle direction 360° degrés.[18]

Nous avons 8 tendances dans chaque petite fenêtre (4x4) comme dans la figure suivante :

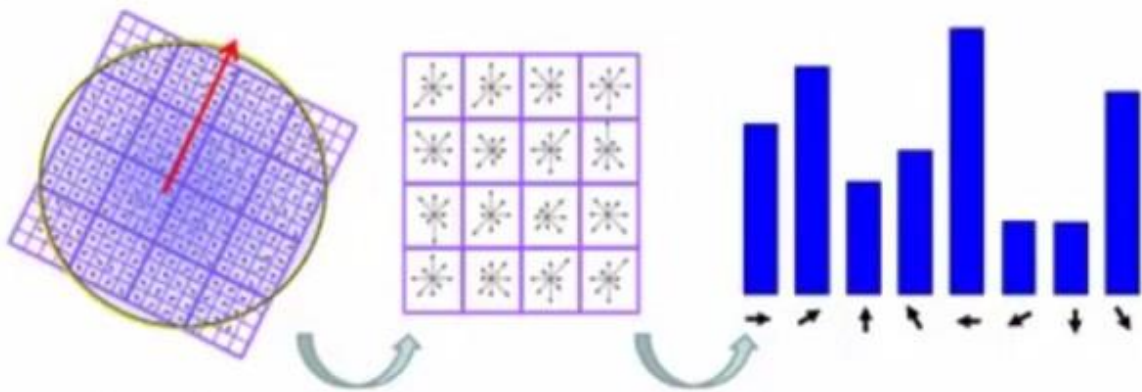


Figure II.15 Une fenêtre 16x16 et à droite 4x4x8 direction avec histogramme.[18]

Nous avons donc $4 \times 4 = 16$ fenêtres et chacune d'elles donnera 8 chiffres ou $4 \times 4 \times 8 = 128$ chiffres pour chaque point clé, ce qui est ce que notre vecteur caractéristique est le faisceau que nous allons utiliser pour faire correspondre pour les photos plus tard.

II.6 La mise en correspondance des images

Cette étape constitue la dernière procédure de la méthode de Lowe. Il s'agit d'appliquer directement, les résultats trouvés à la reconnaissance d'objets ou la mise en correspondance entre deux images.

Nous identifions le point d'intérêt et le décrivons dans l'image que nous voulons lui faire correspondre Et puis nous identifions le point d'intérêt aussi dans l'image de test et nous le faisons par le descripteur de tamis et puis nous mesurons la distance entre les vecteurs de caractéristique que nous avons, Et selon la distance, nous déterminons s'il y a une correspondance ou non. Et si le nombre de points identiques dans chacune des deux images est trop grand, nous concluons que c'est l'objet que nous recherchons.[17]

II.7 Application de l'algorithme SIFT et adaptations

L'algorithme SIFT est utilisé dans différents domaines de l'imagerie allant de la photographie à la biologie en passant par la robotique. On peut citer notamment : la reconstruction de panorama en photographie (Brown and Lowe, 2003, 2007), son application pour l'aide à la localisation d'un robot dans son environnement (Se et al., 2001), la reconnaissance et le suivi d'objet 3D (Gordon and Lowe, 2006), ou encore la détection de mouvement humain dans des vidéos (Laptev and Lindeberg, 2004). En biologie, SIFT a été appliqué pour l'imagerie IRM (Scovanner et al., 2007). Il a aussi été utilisé pour la reconstruction en tomographie électronique (Han et al., 2014) mais également pour la reconstruction de surfaces acquises en microscopie électronique à balayage (SEM, Scanning Electron Microscopy) (Tafti et al., 2018). Depuis 2004, des variantes de SIFT, ainsi que d'autres algorithmes basés sur SIFT ont vu le jour, en voici une liste non exhaustive :

— PCA-SIFT (Ke and Sukthankar, 2004), GSIFT (Lodha and Xiao, 2006),(Abdel-Hakim and Farag, 2006) et ASIFT (Morel and Yu, 2009) qui sont des variants de SIFT.

— Il existe aussi des adaptations de SIFT qui n'utilisent pas la même méthode de détection, telles que FAST (détection de coins) (Rosten and Drummond, 2006) et MSER (segmentation) (Matas et al., 2004).

— Certains utilisent une autre définition du descripteur, tels que SURF (Bay et al., 2008), KAZE (Alcantarilla et al., 2012) et FREAK (Alahi et al., 2012). Ce descripteur peut être binaire, c'est à dire composé d'un vecteur de booléens remplaçant les histogrammes de voisinage comme dans : BRISK, ORB (Rublee et al., 2011) et AKAZE (Alcantarilla et al., 2013).

II.8 Sift et ses algorithmes

Afin d'estimer l'efficacité de reconstruction en tomographie électronique, nous avons sélectionné les algorithmes actuellement implémentés et disponibles dans la bibliothèque OpenCV (Bradski, 2000). Une première évaluation en 2D sur une série d'images acquises à différents angles d'inclinaisons a été réalisée en utilisant différents algorithmes. Le but de l'étude est d'évaluer la qualité des méthodes de détection et d'appariement des points obtenus sur des tomogrammes, ainsi que le temps de calcul associé. Pour cela, les implémentations OpenCV des algorithmes suivants ont été utilisées :

- Sift (Lowe, 2004), détaillé dans le chapitre 1, sera ici considéré comme la référence pour ce type d'algorithme.
 - SURF (Bay et al., 2008), qui a été conçu pour être une approche de SIFT plus rapide, utilise une matrice Hessienne et se base donc sur les gradients pour trouver les points d'intérêt. Il s'agit aussi d'un des algorithmes les plus répandu dans le domaine de la détection de points.
 - BRISK (Leutenegger et al., 2011) utilise un détecteur FAST (Feature from Accelerated Segment Test) (Rosten and Drummond, 2006) puis construit des descripteurs binaires pour chaque point. Les descripteurs binaires sont des vecteurs de booléens simples à comparer.
 - ORB (Rublee et al., 2011) possède des similitudes avec SIFT et BRISK. Il utilise l'algorithme de détection de coins Harris corner et propose un descripteur binaire.
 - KAZE (Alcantarilla et al., 2012) utilise des filtres non-linéaires pour la création de pyramides à différentes échelles lors des étapes de détection de points et lors de la création de son descripteur. Le descripteur est basé sur le mécanisme de SURF

II.9 Conclusion

Dans ce chapitre nous avons détaillée l'alignement et ses méthodes tels que le plus développée Sift et ses étapes principales, nous pouvons dire que l'algorithme sift contribuer à l'amélioration des techniques d'extraction d'information dans une image en apportant un algorithme robuste et satisfaisant les propriétés que requièrent les procédés de vision artificielle. Les descripteurs SIFT sont invariants aux transformations géométriques, affines et à l'illumination.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] **Oleg Krivtsov**. 30 mars 2008. <<Implementing the Lucas-Kanade and Baker-Dellaert-Matthews image alignment algorithms.>>, in Image Alignment Algorithms [<https://www.Codeproject.com/Articles/24809/Image-Alignment-Algo>]
- [2] **Abdelmounaim, M.** (2016). Processus D'alignement des Séries D'image Microscopique à Niveau De Gris (Doctoral dissertation, UNIVERSITE DE MOHAMED BOUDIAF M'SILA FACULTE DE TECHNOLOGIE). [3] **Chaïma, B. C.** (2019). Mise en oeuvre et évaluation des méthodes d'alignement et tomographie électronique (Doctoral dissertation, UNIVERSITE MOHAMED BOUDIAF-M'SILA).
- [4] https://profs.etsmtl.ca/hlombaert/rapport-information_mutuelle.pdf.
- [5] **Verguet, Amandine**. *Développements méthodologiques et informatiques pour la microscopie électronique en transmission appliqués à des échantillons biologiques*. Diss. Université Paris Saclay (COMUE), 2019.
- [6]: **Kapinchev Konstantin, Bradu Adrian, Barnes Frederick, and Podoleanu Adrian**. GPU implementation of cross-correlation for image generation in real time. 2015 9th International Conference on Signal Processing and Communication Systems (ICSPCS), pages 1–6, Dec 2015. doi: 10.1109/ICSPCS.2015.7391783. [Cited on page 21.]
- [7] **Rojbani, Hmida**. *Alignement-reconstruction simultanée de tomogramme électronique et extraction de volume de ribosome*. Diss. Université de Strasbourg, 2016.
- [8] **Mastronarde David N.** *Fiducial Marker and Hybrid Alignment Methods for Single- and Doubleaxis Tomography*. Springer Link, pages 163–185, 2007. Doi: 10.1007/978-0-387-69008-7_6. [Cited on page 22.]
- [9] **Sorzano Carlos Oscar Sanchez, Messaoudi Cédric, Eibauer Matthias, Bilbao-Castro JR, Hegerl R., Nickell S., Marco S., and Carazo JM**. Marker-free image registration of electron tomography tiltseries. BMC Bioinf., 10(1) :124, Dec 2009. ISSN 1471-2105. Doi : 10.1186/1471-2105-10-124. [Cited on pages 22, 39, and 42.]
- [10] L'état de l'art des méthodes d'alignements du microscope électronique à transmission.

[15] : Scale-invariant feature transform. (2022, avril 1). Wikipédia, l'encyclopédie libre. Page consultée le 10 :35, avril 1, 2022 à partir de [[http://fr.wikipedia.org/wiki/Scale invariant_feature_tranform?msclkid=ae86f3c9c1d611ec89c7bb5c371b81f9](http://fr.wikipedia.org/wiki/Scale_invariant_feature_tranform?msclkid=ae86f3c9c1d611ec89c7bb5c371b81f9)].

[16] : Introduction to SIFT(Scale Invariant Feature Transform) | by Deepanshu Tyagi | Data Breach | Medium .[enligne],16mars2019,[<https://medium.com/data-breach/introduction-to-sift-scale-invariant-feature-transform-65d7f3a72d40>] ,(25 mars 2022).

[17] **Philippine Poublang** « Caractérisation des points remarquables dans les images et recalage », Imagerie Numérique, Marseille Université de la Méditerranée 2012.

[18] في الرؤية الحاسوبية - س ج معلوماتي Sift شرح خوارزمية (iteqa.com) ,[enligne],5juin2014, [<https://iteqa.com/1089/شرح-خوارزمية-sift-في-الرؤية-الحاسوبية?show=1089#q1089>].

[19] : SIFT (Scale-invariant feature transform) | by Minghao Ning | Towards Data Science ; [en ligne],9avril2019, [<https://towardsdatascience.com/sift-scale-invariant-feature-transform-c7233dc60f37>], (27mars2022).

[20] : http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/4/44/Sift_keypoints_filtering.jpg.

[11] : **Authesserre, J. B.** (2010). Alignement paramétrique d'images : proposition d'un formalisme unifié et prise en compte du bruit pour le suivi d'objets (Doctoral dissertation, Université Sciences et Technologies-Bordeaux I).

[12] **Etienne, C.** (2019). Apprentissage profond appliqué à la reconnaissance des émotions dans la voix (Doctoral dissertation, Université Paris-Saclay).

[13] **Lamraoui, M., & Boutaouche, F.** [Recalage des paires bilatérales et temporelles dans le cadre de l'analyse des mammographies], (2019).

[14] **Sarifuddin, M., Missaoui, R., Vaillancourt, J., Hamouda, Y., & Zaremba, M.** [Analyse statistique de similarité dans une collection d'images]. Revue des Nouvelles Technologies de l'Information, (2003) ,1(1), 239-250.



RESULTATS ET DISCUSION

Sommaire

III.1 Introduction	54
III.2. Algorithme SIFT (Scale Invariant Transform)	54
III.2.1 Détection	54
III.2.2 Recherche de correspondance entre les images.....	58
III.2.3 Alignement	58
III.2.4 Adaptation pour la tomographie.....	59
III.3 Résultats et discussions	60
III.3.1 Nature de données	60
III.3.2 Méthodes d'alignements simulées	63
III.3.2 Résultats obtenus	65

III.1 Introduction

Pour bien reconstruire l'espace volumique de l'objet en cours de l'étude, les données acquit soit bien alignés. La recherche sur la solution dirigeons nous vert un algorithme appelé SIFT, nous détaillons les déférents étapes de ce dernier dans ce chapitre, et nous comparons leur performance avec les autres techniques.

III.2 Algorithme SIFT (Scale Invariant Feature Transform)

SIFT est un algorithme de détection de points créé par David Lowe [8]. Jusqu'à présent, il a été appliqué à la recherche d'objets dans des images, à la reconstitution de panorama à partir de plusieurs images et également à l'alignement d'images. Ces dernières années d'autres descripteurs basés sur SIFT [16] ou sur une autre méthode de calcul de descripteurs SURF [17] sont apparus. SIFT est capable de choisir seul des points d'intérêt sur l'image et de leur associer un descripteur qui permet de les distinguer. Il a l'avantage d'être peu sensible à la translation, à la rotation et au changement d'échelle de l'image.

III.2.1 Détection

Chaque point d'intérêt est identifié par sa position dans l'image (x, y) , l'orientation de son gradient, le niveau de gaussien et enfin, un descripteur unique D . Ce descripteur est dépendant de l'orientation et de l'amplitude du gradient en chaque point du voisinage. La figure 3.1 est un exemple de la composition d'un point d'intérêt.

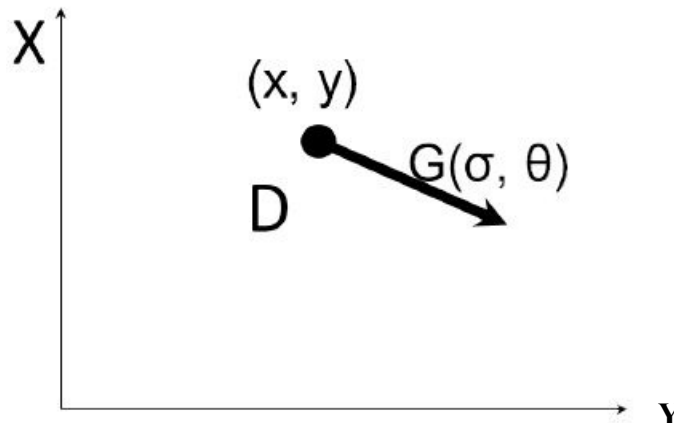


Figure III.1- Les différentes variables composant une feature.

La première étape dans la détection de points d'intérêt est l'identification de leur position et de leur échelle. Dans un premier temps, l'image d'origine est réduite x fois dans le but d'obtenir différents niveaux d'échelle nommés octaves, comme on peut le voir dans la figure III.2.

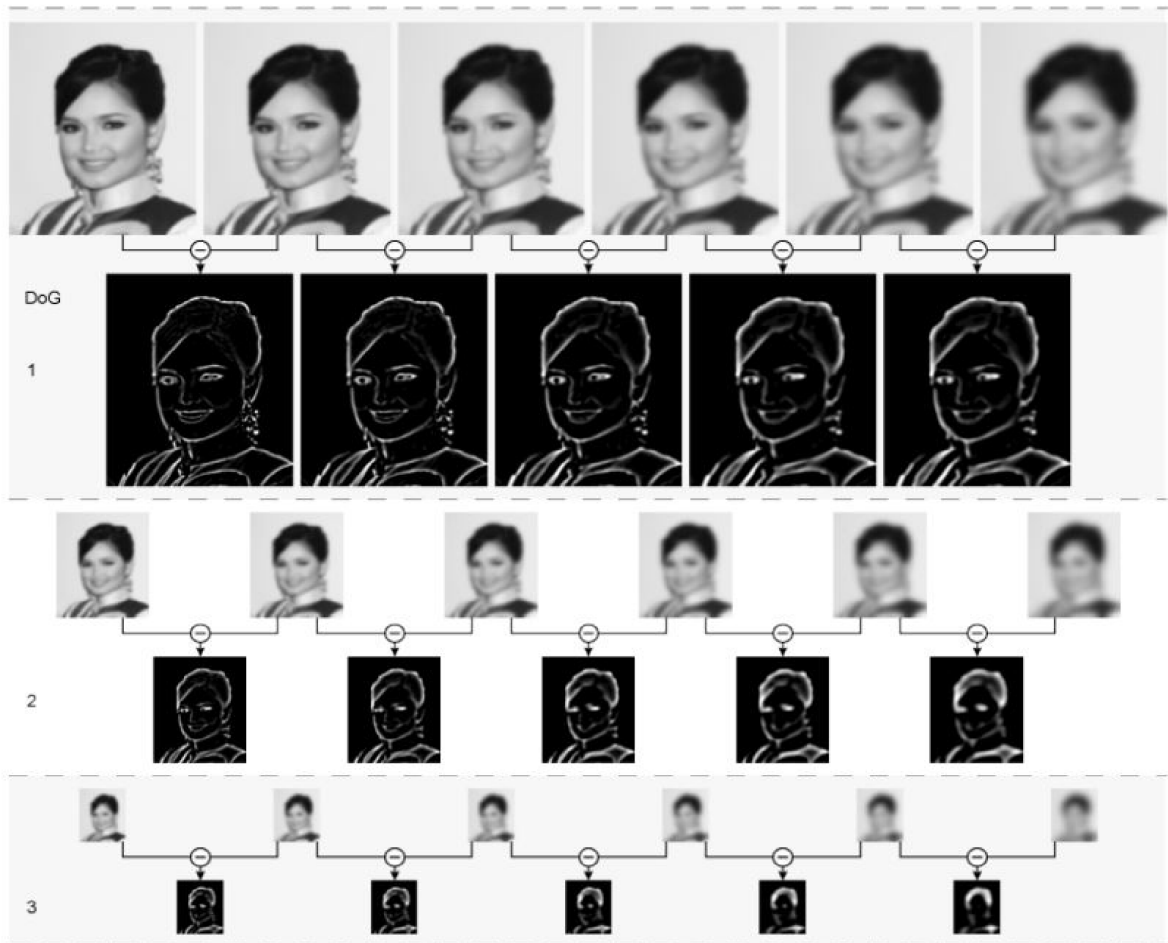


Figure III.2 Réduction de l'image et application d'un flou gaussien.

Pour chacun de ces octaves un calcul de gradient à l'aide d'une différence de gaussiennes (DOG) permet de détecter les extrema locaux (figure III.3).

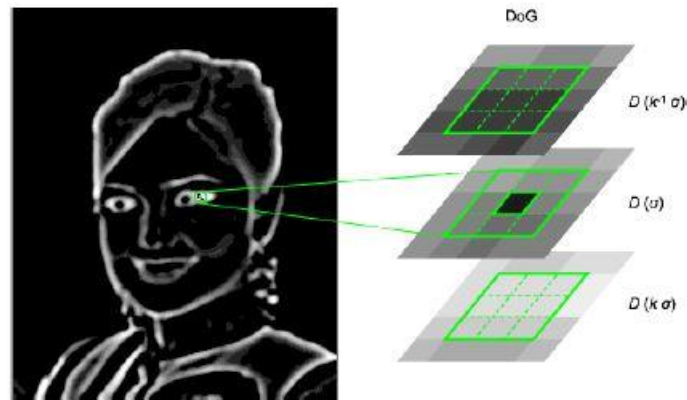


Figure III.3 Recherche d'extrema sur différents gradients d'une même image.

Chaque extrema est ainsi défini par une position entière (x, y) et une taille de convolution gaussienne. Par la suite, l'utilisation d'un modèle de Taylor permet d'avoir une position avec une résolution subpixellaire. Les points ayant un contraste trop faible ou sur un bord sans courbure sont éliminés.

La seconde étape est le calcul du gradient du point d'intérêt, toujours pour chaque octave et en utilisant l'image filtrée par le niveau de gaussien correspondant à chaque point. Ce gradient est défini par une orientation et une amplitude.

En chaque point d'un voisinage, on calcule également des gradients (figure III.4). À partir de tous ces gradients, un histogramme d'orientation est créé. Cet histogramme réduit les orientations en un nombre de classes fixées et pondérées par l'amplitude de chaque gradient. Finalement chaque point d'intérêt se voit attribué une variable orientation correspondant à l'orientation majoritaire établie grâce à l'histogramme. Une variable scale est également associée à chaque point d'intérêt, elle est un indicateur global du niveau de gaussien et de l'octave à partir duquel ce point d'intérêt a été sélectionné.

L'étape finale est la création d'un descripteur dont un exemple schématique est donné par la figure III.5.

Pour cela, on détermine différents sous-environnements (d'une taille de 4×4 pixels) dans le voisinage de notre point d'intérêt. Pour chacun de ces sous-environnements on identifie

l'orientation du gradient en chaque point, et on réalise un histogramme des orientations (voir création de la variable orientation).

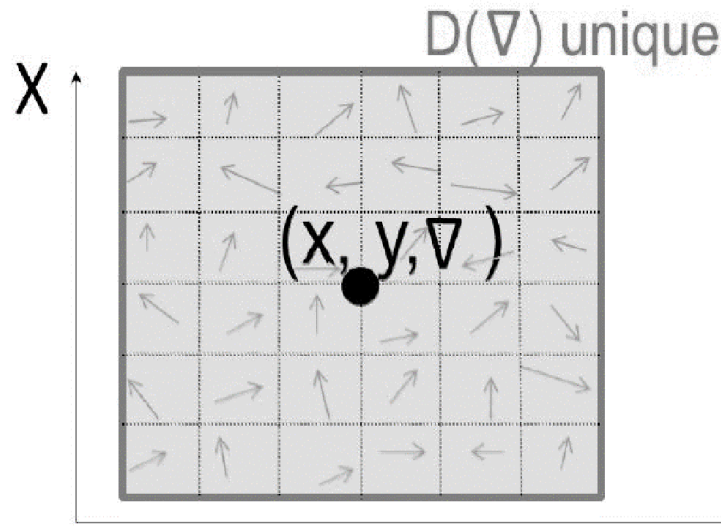


Figure III.4 Gradient en chaque point du voisinage du point d'intérêt.

La taille définitive de notre descripteur est basée sur le choix du nombre de sous-environnements (ex: 4x4) ainsi que le nombre de classes d'orientations dans l'histogramme (ex : 8) ce qui nous donne un vecteur d'information d'une taille définie par l'utilisateur.



Figure III.5 Exemple d'un descripteur D d'une taille de 36.

Les valeurs sont mises dans un vecteur qui correspond aux histogrammes des sous-régions mises bout à bout. Ici les valeurs de chaque histogramme, des 16 sous-regions, sont organisées selon 8 angles (0° , 45° , 90° , 135° , 180° , 225° , 270° et 315°), pour une taille finale de 128 valeurs. Le vecteur est ensuite normalisé pour atténuer les effets de changements d'illumination. Ce descripteur est unique pour chaque point d'intérêt de l'image.

III.2.2 Recherche de correspondance entre les images

Une fois les points d'intérêts des deux images détectés, l'étape suivante consiste à établir des correspondances entre les points d'intérêt d'une image avec ceux de la seconde image. Seuls les points ayant une échelle (scale) similaire sont utilisés.

On détermine pour un point d'intérêt la distance euclidienne entre son descripteur et celui des différents points présents sur l'image à aligner. On conserve les deux points d'intérêt ayant la plus faible distance, on calcule ensuite la différence entre les distances euclidiennes des deux descripteurs des points retenus.

La différence ainsi obtenue est ensuite comparée à un seuil défini arbitrairement. La correspondance est considérée suffisamment forte lorsque la différence est supérieure au seuil. On peut alors considérer que le point d'intérêt de la première image et le meilleur des deux points préalablement sélectionnés de la seconde image, sont le même point.

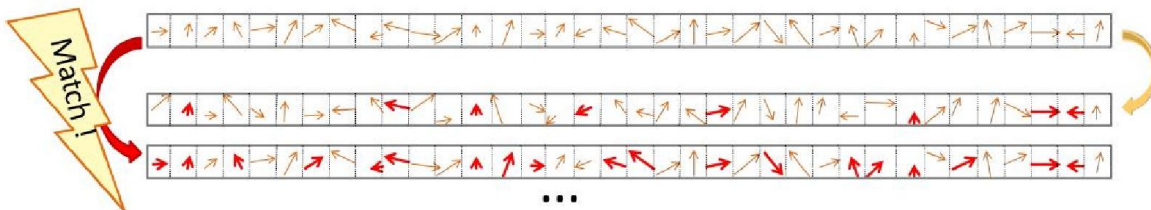


Figure III.6 Exemple de comparaison possible des orientations contenues dans le descripteur de différents point d'intérêt (features).

III.2.3 Alignement

La méthode RANSAC pour **RAN**dom **SA**mple **C**onsensus est utilisée dans l'algorithme SIFT. Il s'agit d'un algorithme itératif proposé par Fischler et Bolles qui sert à déterminer les paramètres d'un modèle.

Sa particularité est qu'il considère initialement un nombre minimum et aléatoire de points pour estimer de multiples jeux de paramètres candidats. Ces candidats sont ensuite évalués en testant le reste des points avec le modèle paramétré.

RANSAC nécessite généralement un nombre important d'itérations pour que la probabilité de trouver un jeu de paramètres valable soit proche de 1.

L'utilisation de cet algorithme dans le cadre de l'algorithme SIFT permet de calculer une matrice de transformation (translation, rotation, changement d'échelle) à partir des descripteurs de chaque point d'intérêt présents dans les deux images.

L'algorithme se déroule en 5 étapes [20] :

- sélection aléatoire d'un nombre minimum de points nécessaires pour déterminer les paramètres du modèle (matrice de transformation),
- calcul des paramètres du modèle,
- déterminer combien de points, parmi ceux restant dans le jeu de données correspondent au modèle ainsi paramétré, sans dépasser un seuil de tolérance,
- si le seuil de tolérance est dépassé, on estime les paramètres du modèle en utilisant tous les points du jeu de données et on termine,
- sinon on répète les étapes dans l'ordre.

III.2.4 Adaptation pour la tomographie

L'algorithme SIFT est essentiellement utilisé pour comparer deux images entre elles. La tomographie impose de devoir aligner non pas deux mais une série d'images acquises selon différentes inclinaisons, de façon cohérentes entre elles.

En employant l'algorithme RANSAC tel qu'il est utilisé conjointement à l'algorithme SIFT (images prises deux à deux), on se risque aux mêmes types de problème qu'en utilisant la corrélation croisée, à savoir d'induire une propagation d'erreur sur l'ensemble de la série. Il est donc nécessaire d'utiliser un algorithme de même type que ceux utilisés pour l'alignement à base de points d'intérêt. Mais un risque demeure, celui de sélectionner aléatoirement un ensemble de marqueurs qui sont tous absents de certaines images. Il faudrait alors ajouter un biais dans la sélection aléatoire pour palier à ce risque.

Le choix a donc été fait d'abandonner RANSAC au profit de l'algorithme d'alignement présent dans TomoJ, tout en intégrant SIFT pour la détection. Notre contribution au projet TomoJ quant à l'intégration de l'algorithme SIFT est présentée dans la section résultat.

III.3 Résultats et discussions

III.3.1 Natures de données

Avant tous, 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.

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

- **Images EFTEM**

L'image EFTEM, en fait, est une série de 76 images 2D (appelée `stac1k`), sous format tif, de taille 256×256 pixels chacune, prises à des angles d'inclinaison allant de -60° à $+60^\circ$ 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.

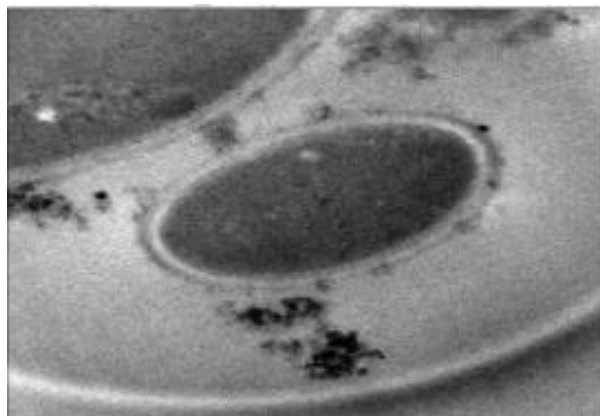


Figure III.7 Image d'une série de tilts de 76 images de taille 256×256 pixels chacune en mode EFTEM

- Images STEM

L'image STEM représente la cellule pyrodictium comme c'est illustré dans la Figure III.8, 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° avec un pas d'incrémentation de 2°.

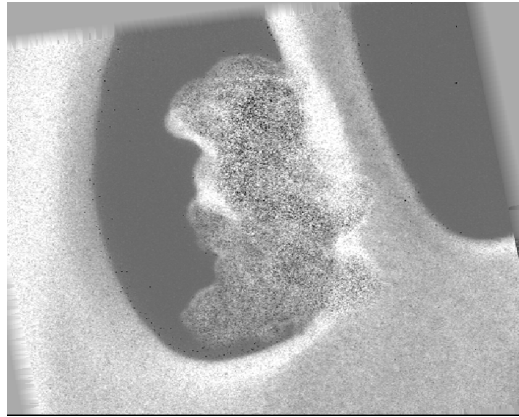
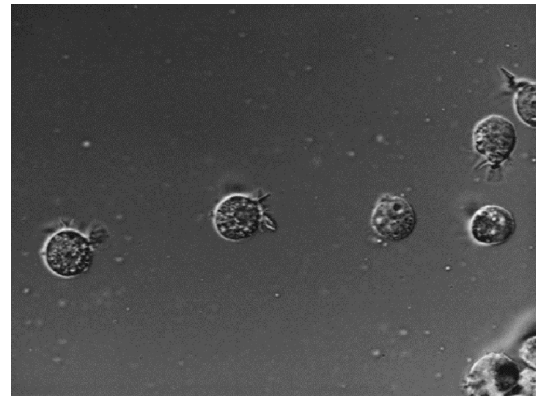


Figure III.8 Image d'une série de tilt de 91 images de taille 512×512 pixels chacune, en mode STEM.

Nous avons choisi des images niveaux de gris tirées de la bibliothèque Toolbox du Matlab (7.11.0.(R 2013b) ; a): Cameraman (format tif) de taille 256×256 pixels, b) : AT3_1m4_01 (format tif) de taille 640×480 pixels, la Figure III.9 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)



(b)

Figure III.9 Images de test originales tirées de la bibliothèque Toolbox-Matlab

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

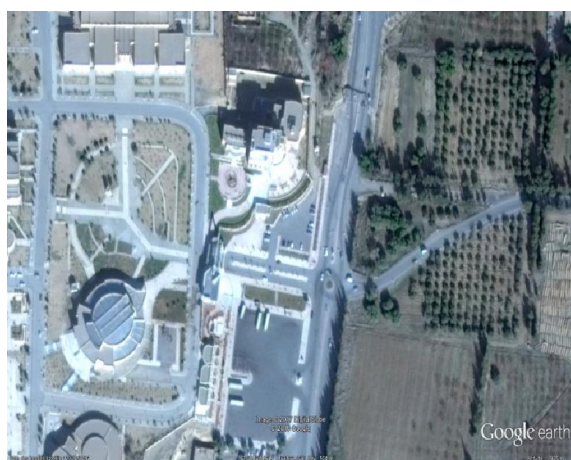
(b) Image AT3_1m4_01 format tif de taille 640×480 pixels

- Images en couleur

Nous choisissons deux images satellitaires en couleur (voir figure III.10), prises à partir de logiciel Google Earth sur la même altitude de 924 m. représentent un vu aérien du pôle universitaire m'sila, dont les formats (jpg) et la même taille (1524x956 pixels) ;

a) Pole1, coordonnées au centre d'image « 35°44'24.96"N, 4°33'2.75"E ».

b) Pole2, coordonnées au centre d'image « 35°44'24.94"N, 4°32'57.41"E» qui est décalé par 135 m vers l'ouest par rapport au centre de pole1.



(a)



(b)

Figure III.10 Images satellitaires en couleur décalés entre eux par 135m.

(a)_Image pole1 format jpg de taille 1524×956 pixels

(b)_Image pole2 format jpg de taille 1524×956 pixels

III.3.2 Méthodes d'alignements simulées

- Algorithme SIFT

Nous avons également les mêmes images pour l'algorithme cross corrélation, et on à présenter les organigrammes de procédures de d'alignement de SIFT et cc.

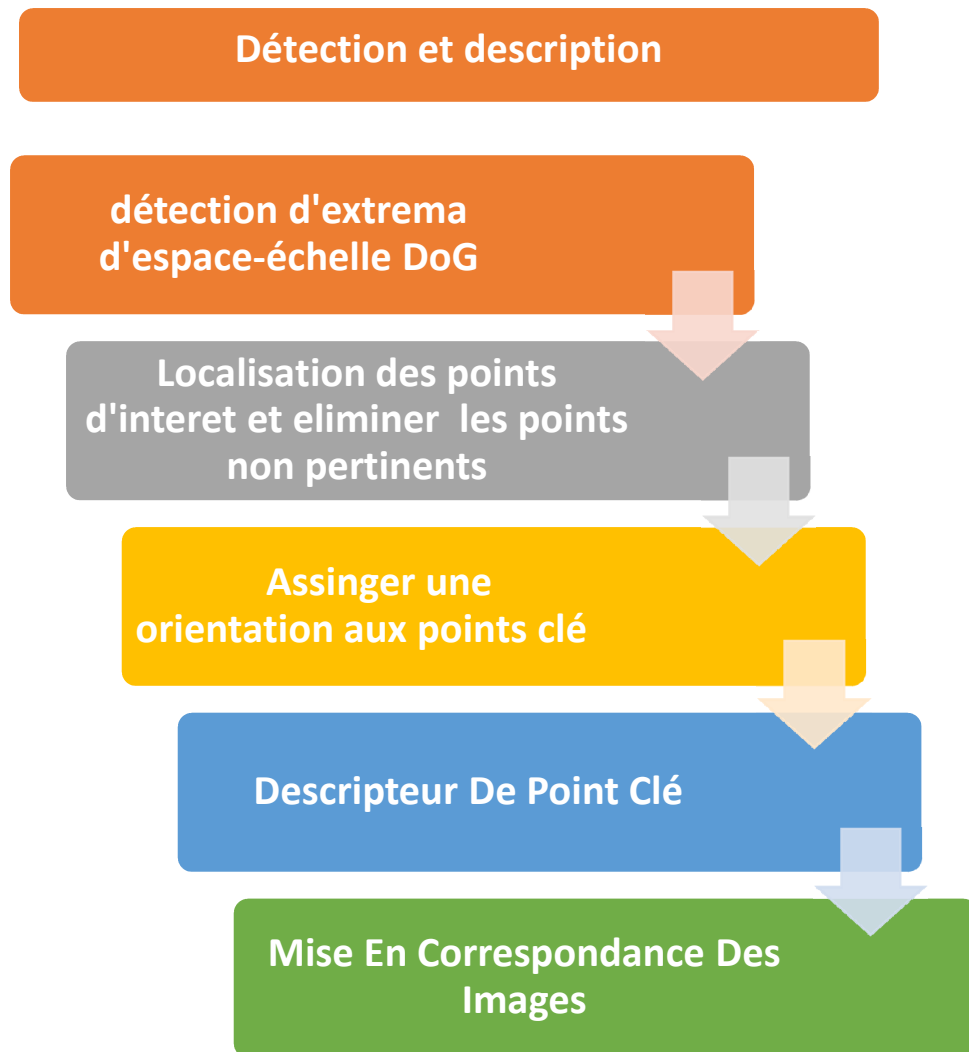


Figure III.11 L'organigramme de procédures de SIFT.

- Algorithme cross corrélation

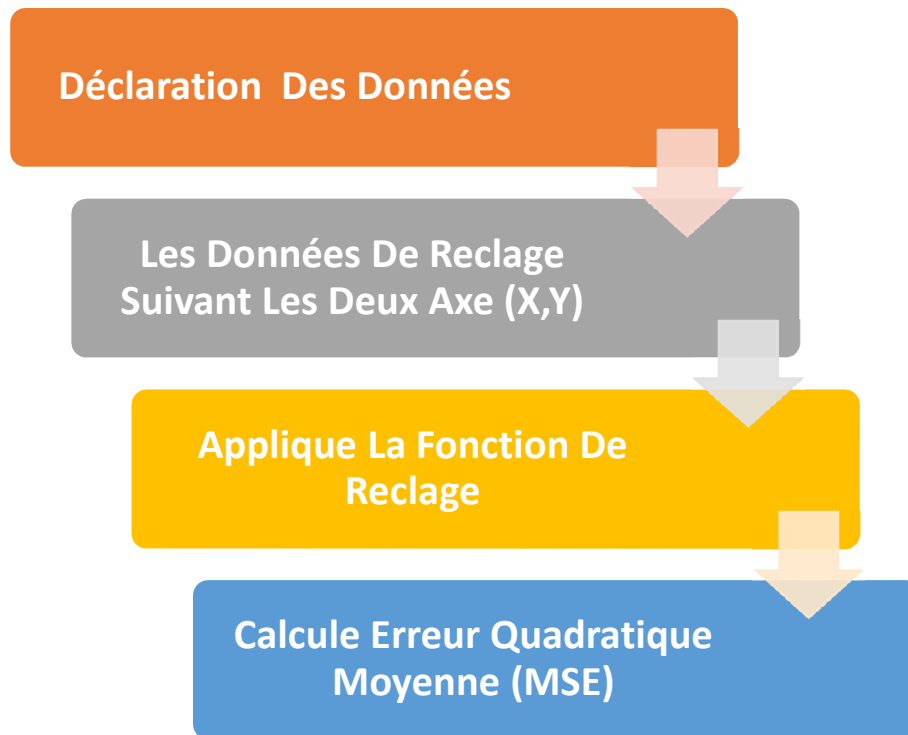


Figure III.12 L'organigramme de procédures d'algorithme cross corrélation.

➤ Résultats obtenus.



Figure III.13 Pyramide avec un gradient de facteur d'échelle 'Sigma' $\sigma = \sqrt{2}$

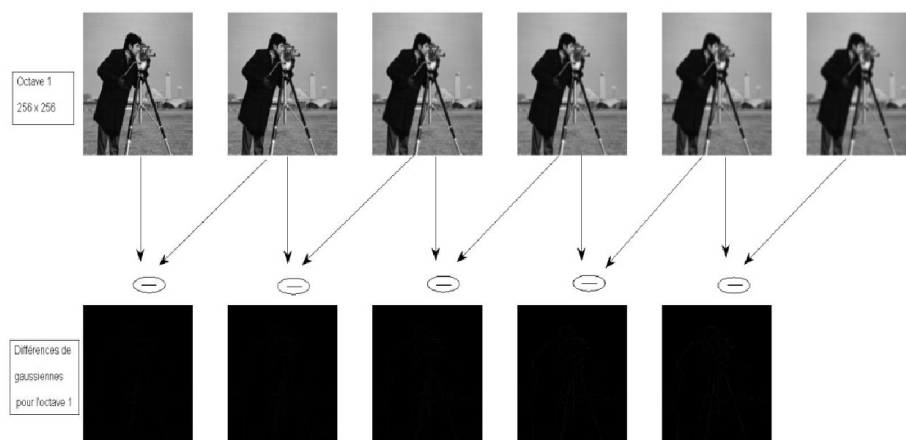


Figure III.14 Différences de gaussiennes pour l'octave 1.

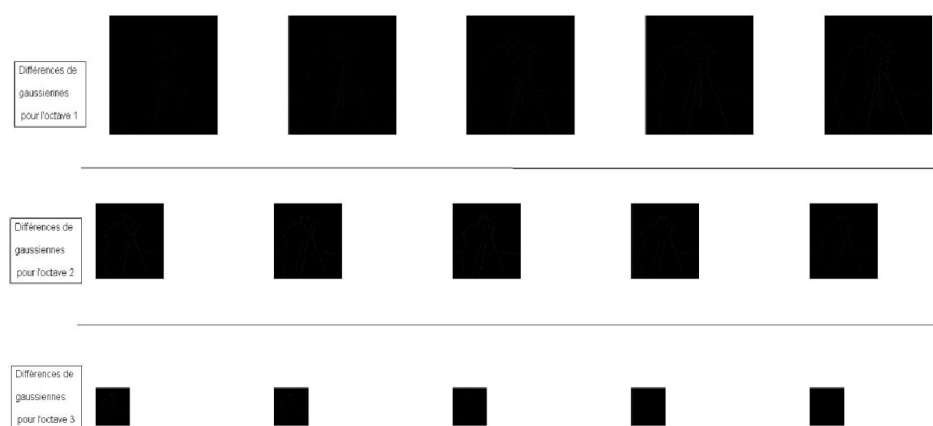


Figure III.15 Différences de gaussiennes pour toutes les octaves.

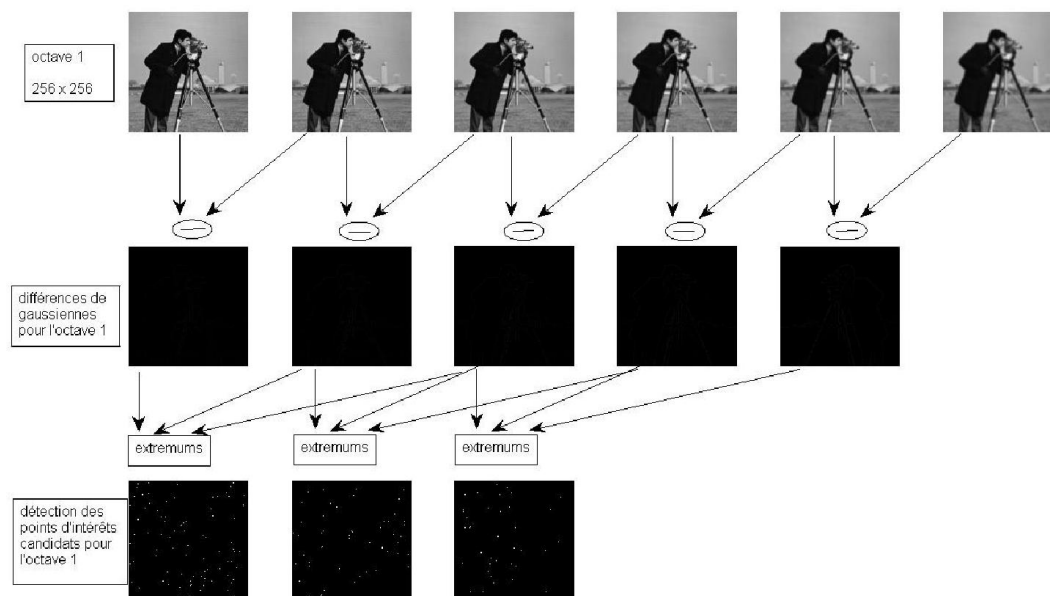


Figure III.16 Détection des points d'intérêts candidats pour l'octave 1.

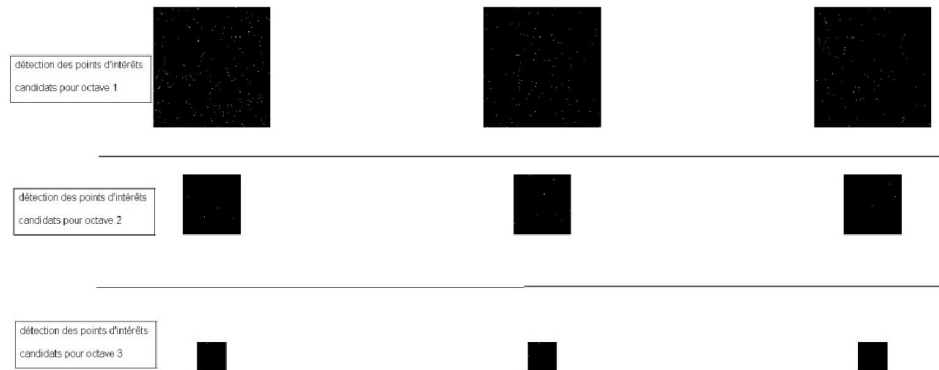


Figure III.17 Détection des points d'intérêts candidats pour toutes les octaves.

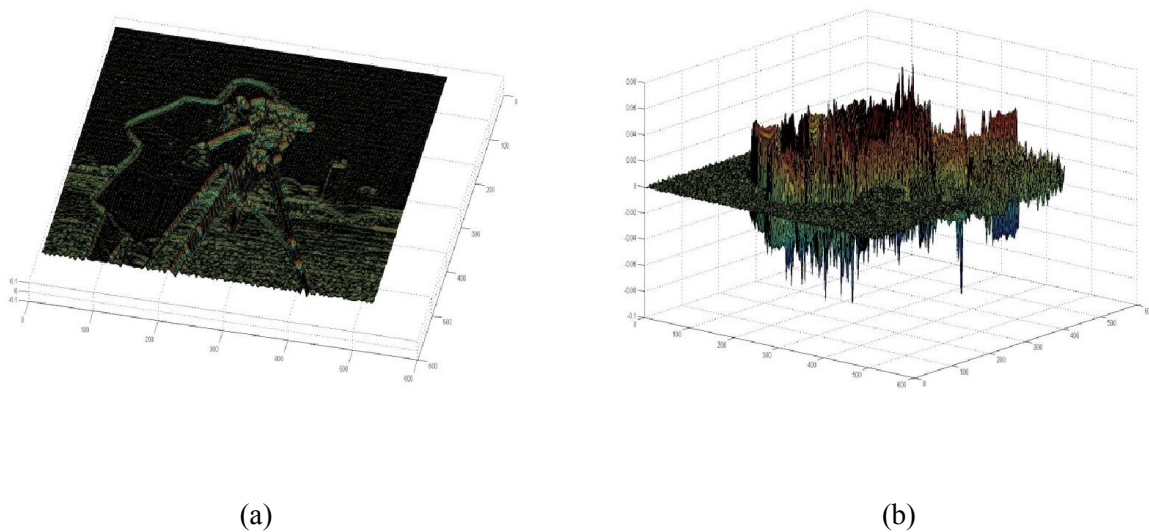


Figure III.18 Deux angles de vu de la matrice de (l'image 3/l'octave 1) dans l'espace de détection des points d'intérêts candidats, et dans un repère 3D ;

- (x, y) la position du pixel
- (z) l'intensité du pixel (x, y)



Figure III.19 Application des résultats trouvés sur l'image traité ou les point blancs sont les PI utilisé pour la reconisance des objets mené par des dicripteurs



Figure III.20 Chaque point d'intéret mené par un vecteur gradient rouge
(Norme de gradient et orientation)

III.4.2 Alignement des deux images satellitaires

Pour que ces deux images soient alignées nous avons procédé à deux traitements, le premier ce fait par l'algorithme SIFT, dont lequel nous cherchons sur les points d'intérêts et leurs vecteurs caractérisant. Le deuxième est une tentative de recherche sur les PI similaire parmi les PI trouvés dans chaque image. Cette similarité relative à la recherche de la position d'un objet (objet apparaît dans l'image de référence et caractérisé par un ou des PI) dans l'autre image désalignée. Dans notre cas la recherche de similarité consiste à trouver les PI dont les vecteurs caractérisant sont égaux soient en amplitude et orientation. A cet effet un code Matlab été développé afin de trouver ces correspondances, mettons en notre compte que le temps de calcul trop long (plus que $256 \times 256 \times 256$ soit plus que 4 milliard d'opérations de comparaison) suite à l'incapacité d'outil de calcul utilisé (PC- Core i5).

La figure III.21 représente l'image de référence (pole1) et l'image désalignée (pole2) respectivement, où sont subis à une transformation en niveau de gris et redimensionné à 256×256 pixels

Les figures suivant représentent les images de sortie de l'algorithme SIFT sous Matlab, où nous avons trouvé les positions des PI (voir La figure III.22) avec ses vecteurs caractérisant (voir La figure III.23) pour chaque image pole1 et pole2.

La figure III.24 représente une vue sur les images traitées avant l'alignement. Tandis que la figure III.25 illustre l'opération de comparaisons ou nous trouvons huit (PI) similaires lies entre eux par les flèches rouges, notons que pour chaque couple (PI-image1/PI2-image2) n'ont pas la même position dans leur image.

A- Traitement par l'algorithme SIFT

(a) Pole 1



(b) pole 2

Figure III.21 Les deux images à aligner, pole 1 et pole 2 après une transformation aux images niveau de gris, et de redimensionner à 256x256 pixels

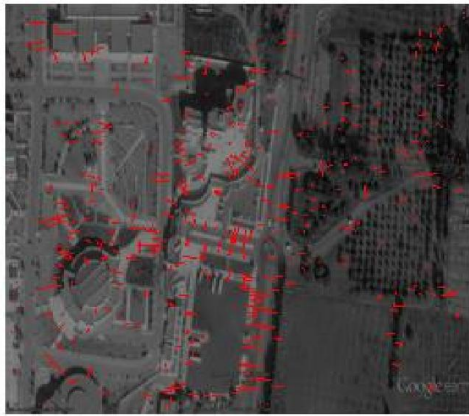


(a) Pole 1

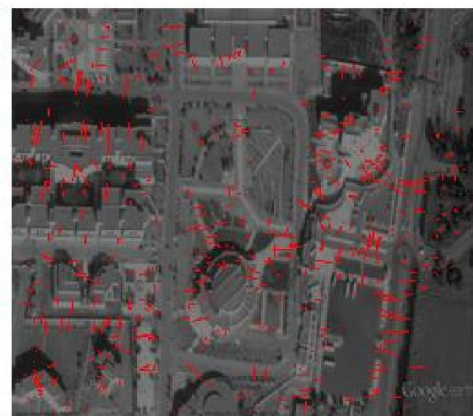


(b) pole 2

Figure III.22 Application de l'algorithme SIFT et extraire les points d'intérêts (Les points blancs dans les deux images)



(a) Pole 1



(b) pole 2

Figure III.23 les images des vecteurs gradients en rouge caracterisant chaque point d'interet.

A- Alignement des deux images



Figure III.24 Image de sortie de l'algorithme SIFT dont les PI en colour blanc, elles sont prêt pour une comparaisons entre les vecteurs gradients des PI de l'image pole1 avec celles de l'image pole2.

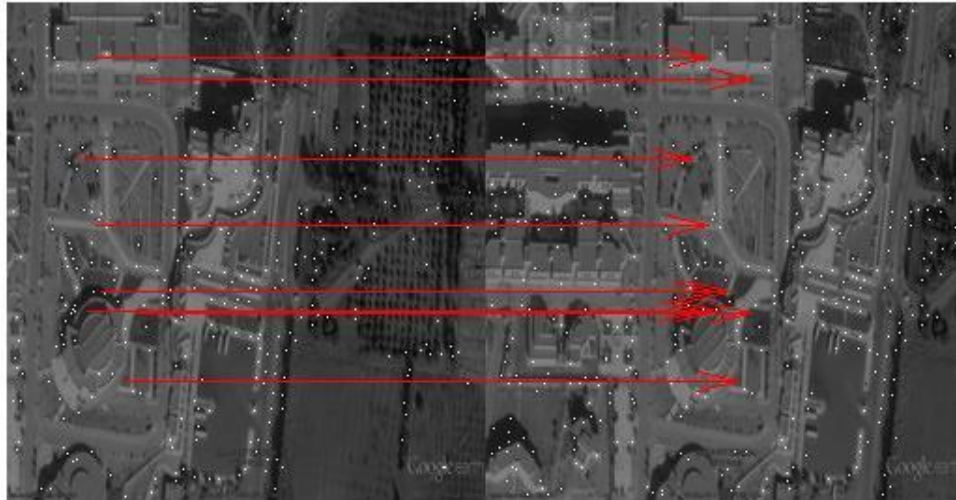
B- Alignement des deux images

Figure III.25 Alignement des deux images pole1 et pole2, les flèches rouges représente les PI dont les vecteurs gradients sont égaux (du coté d'amplitude et orientation)

Les avantages de SIFT :

- Localisation : caractéristiques locales, donc robustes à l'occlusion et à l'encombrement (pas de segmentation préalable)
- Caractère distinctif : les caractéristiques individuelles peuvent être associées à une grande base de données d'objets
- Quantité : de nombreuses fonctionnalités peuvent être générées même pour les petits objets
- Efficacité : près de la performance en temps réel
- Extensibilité : peut facilement être étendu à une large gamme de différents types de fonctionnalités, avec chaque ajout de robustesse

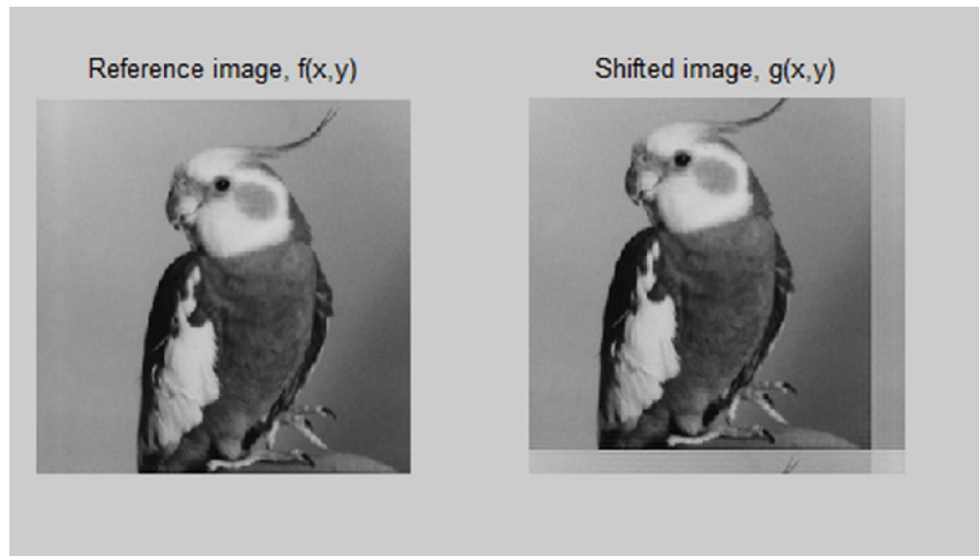
Application cross corrélation :

Figure III.26 images bird désalignée (à gauche) et image bird alignée par CC (à droite)

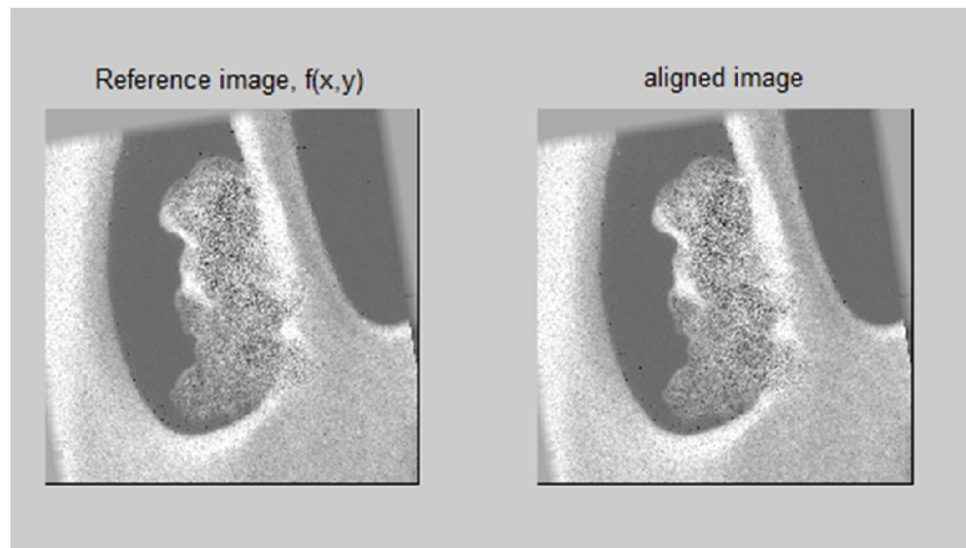


Figure III.27 images tem désalignée (à gauche) et image tem alignée par CC (à droite)

Conclusion générale

CONCLUSION GENERALE

Dans ce mémoire nous concédons un aperçu de la tomographie électronique et de ses applications en sciences biologiques, en particulier un travail a été faire pour améliorer l'alignement de la projection en mode STEM. En tomographie électronique, l'alignement est réalisé à l'aide des algorithmes classiques telles que la corrélation croisée et marqueur fiduciaires implantées entre La projections successives. Faites alors une hypothèse très forte, car les projections des objets doivent être similaires d'une projection ou l'autre. Ceci est d'autant plus irréaliste du fait du pas angulaire important entre deux projections consécutives. Pour corriger ce problème, nous proposons une technique qui tire pleinement parti du mouvement de rotation de l'objet pour réaliser l'alignement, cela à conduit à la création d'un algorithme (SIFT) capable de traiter les données acquises directement après l'acquisition au microscope pour effectuer les étapes nécessaires pour obtenir un alignement plus précis avec peu de bruit.

Nous avons souligné l'importance d'utiliser des projections 2D de haute qualité avant d'appliquer des algorithmes d'alignement. Puisque les projections obtenues avec STEM sont souvent loin d'être parfaites que la correction de ces imperfections ne soit pas enjeu significatif dans cette mémoire, puisque la descripteur SIFT on pensait à l'origine que l'algorithme utilisé dans algorithme utilisée en photographie. En photographie, l'image considérée est l'image de surface, tandis que l'image obtenue par microscopie électronique à transmission est l'image de projection. Les différences entre ces deux types d'images pourraient expliquer les difficultés rencontrées pour trouver des correspondances il a ainsi été montré que l'utilisation d'algorithmes d'alignement complexes nécessite un temps de calcul important et de nombreux choix critiques de paramètres par l'utilisateur, notre procédure proposée aligne chaque projection en fonction de toutes les autres projections, ce qui permet d'obtenir robustesse et précision.

Un effort pour exploiter toujours plus d'informations au cours des différentes étapes de l'alignement a été fait. Ceci pourrait être poussé toujours plus loin. Il serait ainsi possible d'exploiter l'information sur la parcimonie de l'objet pour améliorer l'alignement, par exemple en utilisant des algorithmes avancés d'alignement telle que : SURF, KASE, BRISP, ORB, Alignement avec (3D Discret Wavelet Transform), qui fournissent plusieurs orientations fréquentielles.