



Acquisition et génération d'échantillons virtuels en microscopie électronique

Gervais Gauthier & Christophe Gratin

ADCIS S.A., 3 rue Martin Luther King,
14280 Saint-Contest

www.adcis.net





- ⇒ Échantillon virtuel
- ⇒ Logiciel de capture multi-champs
- ⇒ Logiciel de génération d'échantillon virtuel par assemblage d'images
- ⇒ Conclusion



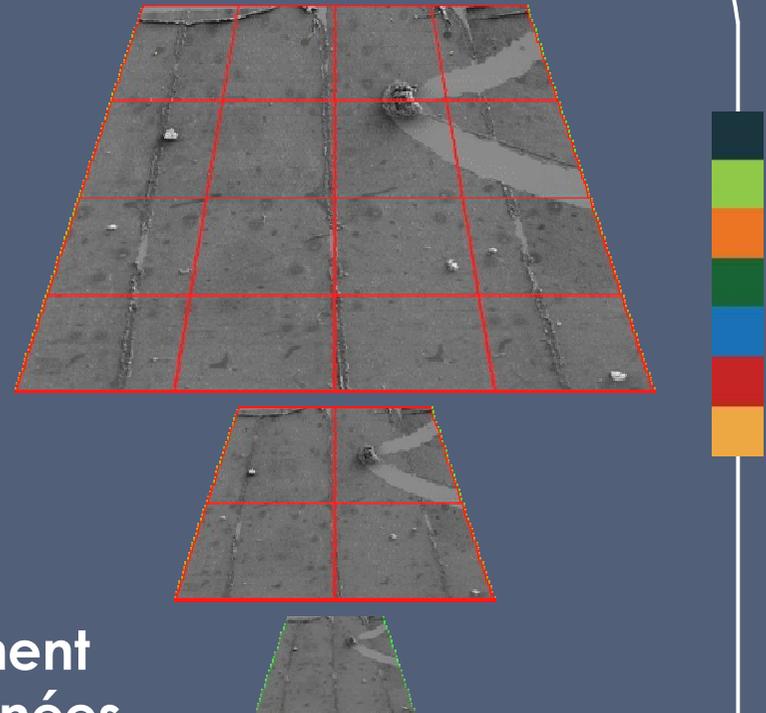
Définition d'un échantillon virtuel

- ⇒ Un échantillon virtuel est la représentation numérique d'un échantillon réel
- ⇒ La représentation numérique peut être fournie par des mesures ponctuelles sur l'ensemble de l'échantillon
- ⇒ Un échantillon virtuel doit permettre une représentation multi-échelles



Composition d'un échantillon virtuel (1)

- ⇒ La représentation multi-échelles implique la connaissance de la représentation à fort grandissement
- ⇒ Les représentations aux autres échelles sont calculées à partir de la représentation à la plus haute résolution/fort grandissement
- ⇒ La représentation à fort grandissement est composée de nombreuses données
 - Un MEB permet l'observation à fort grandissement mais il ne permet pas d'acquérir une image de l'échantillon complet en une seule fois à ce grandissement





Composition d'un échantillon virtuel (2)

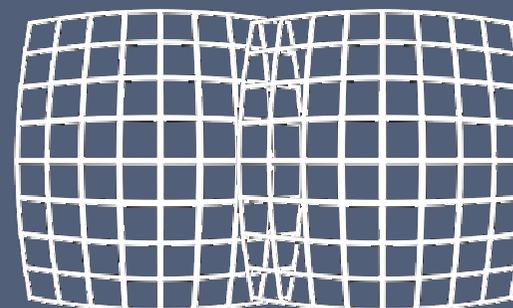
- ⇒ **Une image virtuelle est une image composée de plusieurs sous-images élémentaires (tuiles)**
 - Ensemble d'images pavant une partie ou l'ensemble d'un échantillon, avec ou sans recouvrement, à fort grandissement
- ⇒ **L'ensemble des tuiles peut avoir une taille supérieure à la mémoire vive gérée par le système d'exploitation**
 - Traitement local ou à grandissement plus faible (images sous-échantillonnées)
 - Sous-échantillonnage adapté à l'affichage



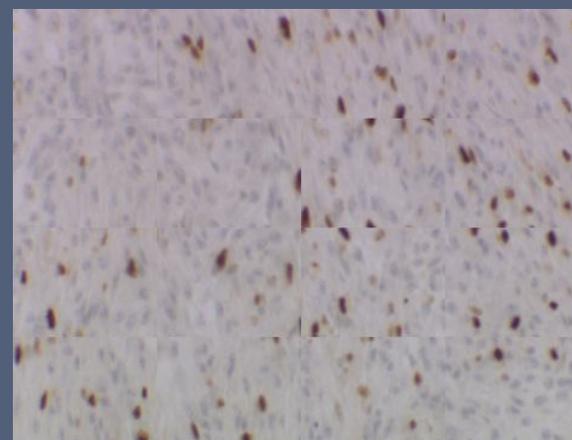
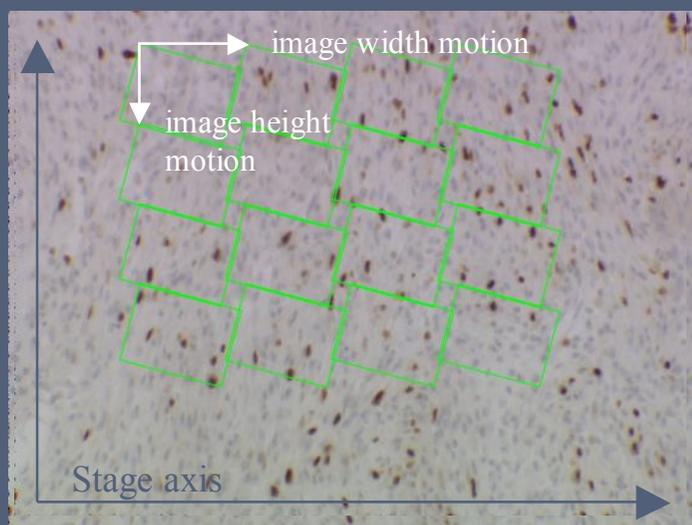
- ⇒ Dans notre cas : une tuile est une image, élément de l'image virtuelle ou échantillon virtuel, produite par un microscope électronique
- ⇒ L'assemblage des tuiles devra permettre l'obtention d'une image complète de l'échantillon à fort grandissement
 - Tuiles sans recouvrement ⇒ informations manquantes car la précision de la platine est inférieure à la résolution
 - Tuiles avec recouvrement

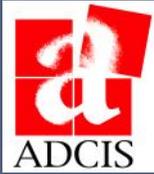


⇒ Distorsion géométrique des tuiles



⇒ Mauvais alignement du faisceau par rapport au déplacement de la platine





Contraintes pour l'acquisition des tuiles

L'acquisition des tuiles requiert :

- ⇒ Le contrôle du déplacement de la platine du microscope pour se positionner précisément sur chaque zone correspondant à une tuile
- ⇒ Le contrôle du grandissement et du faisceau
- ⇒ De prendre des précautions pour éviter ou limiter les distorsions géométriques
- ⇒ L'alignement du faisceau et de la platine





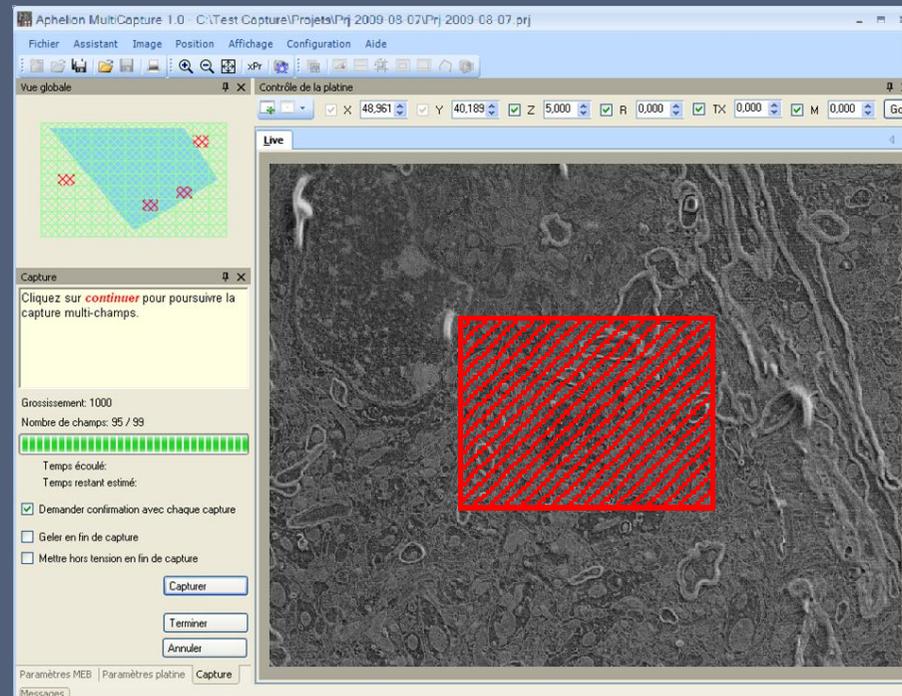
Présentation de Virtual Image Capture (1)

Virtual Image Capture (VIC) est une application logicielle pour :

- ⇒ Contrôler les paramètres des microscopes électroniques à balayage Carl Zeiss
- ⇒ Automatiser le balayage de zones définies par l'utilisateur
- ⇒ Optimiser la qualité des images capturées

Depuis une interface utilisateur adaptée à ce type d'utilisation

Ce logiciel a été développé en collaboration avec Carl Zeiss NTS France et plus particulièrement avec Jean-Claude Ménard





Présentation de Virtual Image Capture (2)

⇒ **VIC possède une riche interface utilisateur et accède au MEB à l'aide de 3 objets .NET d'interfaçage avec SmartSEM**

Interface utilisateur pour contrôler les paramètres du microscope, définir la zone à capturer, lancer la capture et visualiser l'image en cours d'acquisition ou l'image virtuelle, ...

Stage Control

Interface de pilotage des déplacements

Camera

Interface de capture des images

SEM

Interface de contrôle des paramètres du microscope

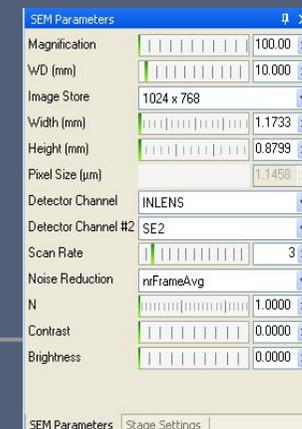
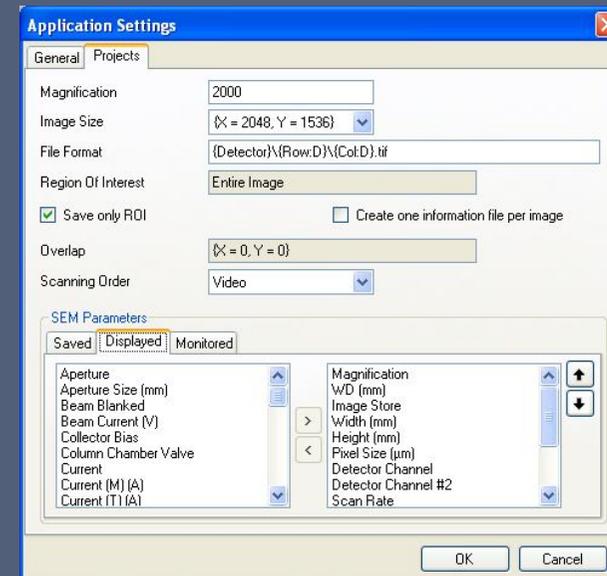


Paramètres contrôlables par VIC (1)

⇒ Les fonctions de contrôle du microscope ont été développées à l'aide de l'interface de programmation Carl Zeiss SmartSEM

⇒ Paramètres disponibles depuis VIC:

- Courant/Tension
- Distance de travail
- Grandissement
- Contraste
- Brillance
- Détecteur (INLENS, SE2, etc.)
- Taille d'image en pixels (512x512, 1024x1024, 2048x2048, 3072x3072)
- Réduction du bruit (line or frame average / intégration)
- Fréquence de balayage





Paramètres contrôlables par VIC (2)

⇒ Liste exhaustive des paramètres contrôlables par VIC :

AP_MAG / AP_WD / AP_SCANROTATION / AP_WIDTH / AP_HEIGHT / AP_ACTUALKV / AP_MANUALKV / AP_ACTUALCURRENT / AP_MANUALCURRENT / AP_TARGETCURRENT / AP_IMAGE_PIXEL_SIZE / AP_APERTURESIZE / AP_BEAM_CURRENT / AP_GAIN / AP_OFFSET / AP_NR_COEFF / AP_K1 / DP_PANEL_DISABLE / DP_SPOT / DP_STEM / DP_FIL_BLOWN / DP_HIGH_CURRENT / DP_SCAN_ROT / DP_FREEZE_ON / DP_NOISE_REDUCTION / DP_DETECTOR_CHANNEL / DP IMPLIED DETECTOR / DP_VACSTATUS / DP_EHT_VAC_READY / DP_FILAMENT_TYPE / DP_WATER_OK / DP_EHT_TRIPPED / DP_EXTRACTOR_TRIP / DP_GUN_CHAMBER_VALVE / DP_PENNING_FAIL / DP_ZONE / DP_MIXING / DP_APERTURE / DP_DUAL_MONITOR / DP_IMAGE_STORE / AP_BRIGHTNESS / AP_CONTRAST / DP_SCANRATE / DP_OPERATING_MODE / DP_FROZEN / DP_BEAM_BLANKED / DP_C3HYSTERESIS / DP_STAGE_INIT / DP_STAGE_TOUCH / DP_X_AXIS / DP_Y_AXIS / DP_Z_AXIS / DP_T_AXIS / DP_R_AXIS / DP_M_AXIS / DP_X_ENABLED / DP_Y_ENABLED / DP_Z_ENABLED / DP_T_ENABLED / DP_R_ENABLED / DP_M_ENABLED / AP_STAGE_AT_X / AP_STAGE_AT_Y / AP_STAGE_AT_Z / AP_STAGE_AT_T / AP_STAGE_AT_R / AP_STAGE_AT_M / AP_STAGE_LOW_X / AP_STAGE_LOW_Y / AP_STAGE_LOW_Z / AP_STAGE_LOW_T / AP_STAGE_LOW_R / AP_STAGE_LOW_M / AP_STAGE_HIGH_X / AP_STAGE_HIGH_Y / AP_STAGE_HIGH_Z / AP_STAGE_HIGH_T / AP_STAGE_HIGH_R / AP_STAGE_HIGH_M / DP_X_BACKLASH / DP_Y_BACKLASH / DP_Z_BACKLASH / DP_T_BACKLASH / DP_R_BACKLASH / DP_M_BACKLASH / AP_BACKLASH_DISTANCE_X / AP_BACKLASH_DISTANCE_Y / AP_BACKLASH_DISTANCE_Z / DP_STAGE_IS / DP_JOYSTICK_DISABLE / DP_STAGE_BACKLASH / AP_FRAME_TIME





Optimisation de la qualité des images

VIC propose des outils pour générer des images dans lesquelles les défauts sont minimisés :

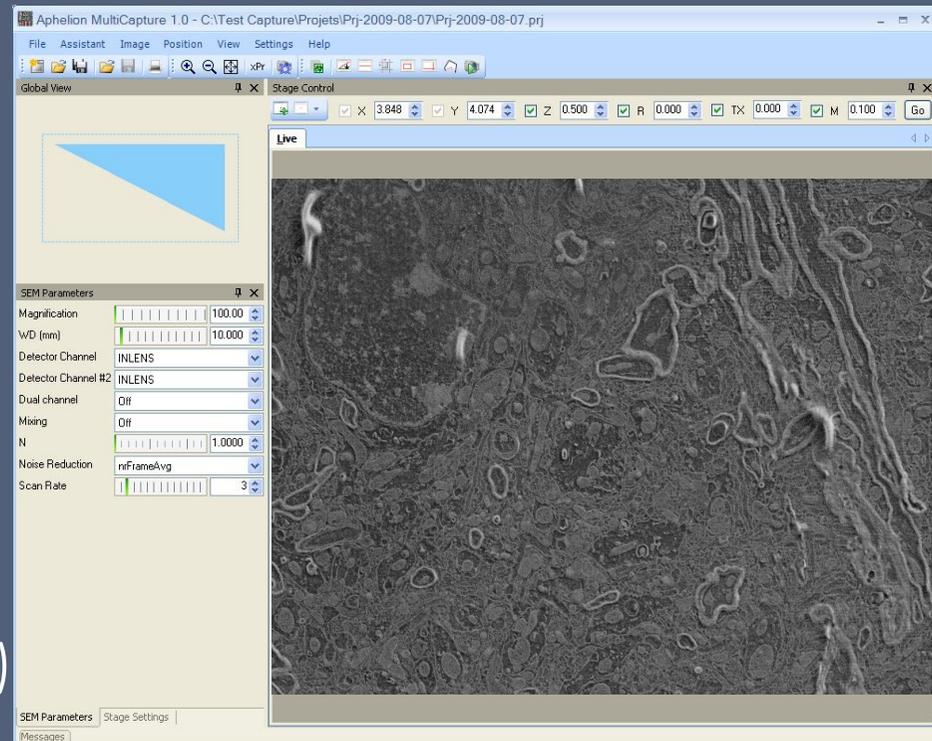
- ⇒ **Assistant d'alignement du faisceau** pour assurer le parallélisme entre le balayage et l'axe X de la platine
- ⇒ **Recadrage de l'image élémentaire**
En particulier utilisé pour supprimer la partie gauche dans laquelle les distorsions sont les plus sensibles



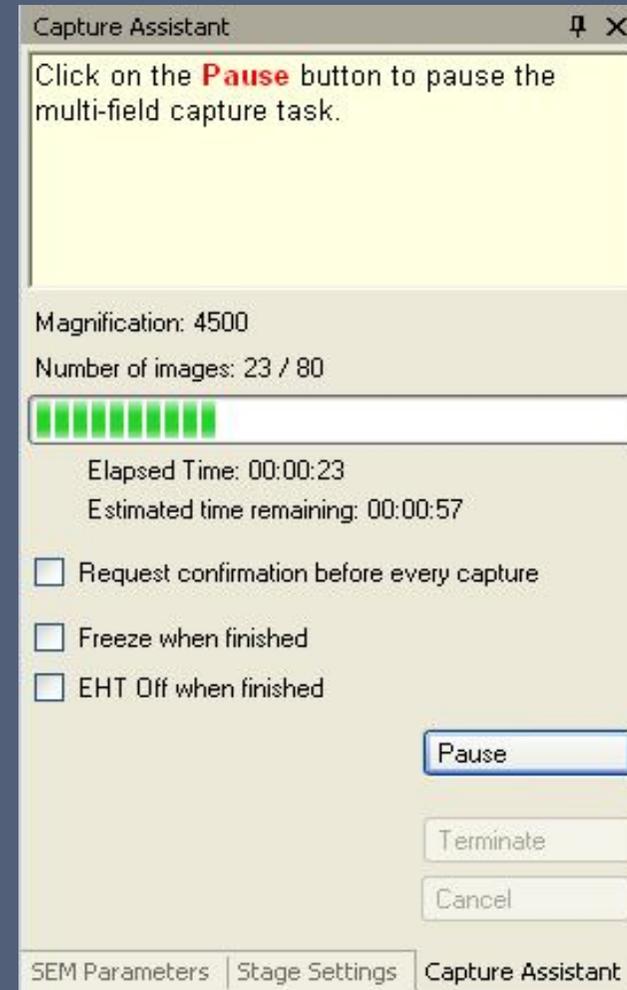
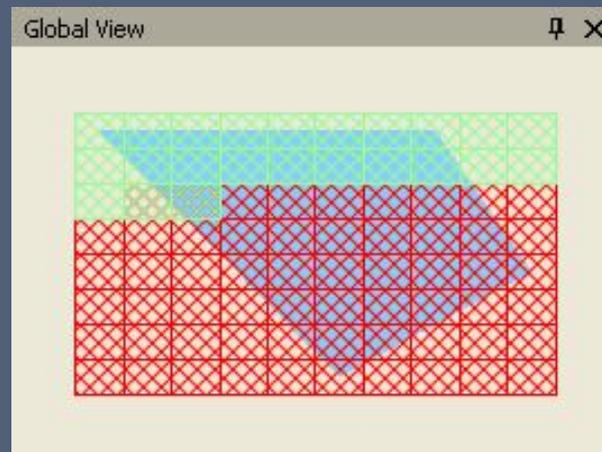
Paramétrage de l'acquisition par l'utilisateur :

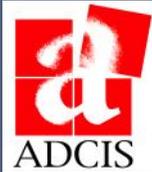
- ⇒ Paramètres d'enregistrement (nom, dossier, taille des images en pixels, format d'image)
- ⇒ Paramètres de MEB (courant, distance de travail, grandissement, etc.)
- ⇒ Taille de recouvrement
- ⇒ Zone à balayer (échantillon virtuel) définie par l'utilisateur à l'aide du joystick

La configuration est enregistrée dans un fichier virtual image (*.vai)



- ⇒ **Affichage de l'image Live** (en cours de balayage)
- ⇒ **Affichage de l'état de progression de la capture de la zone définie par l'utilisateur** (barre de progression et représentation graphique)





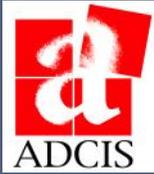
Autres caractéristiques de VIC

- ⇒ **Interface utilisateur configurable**
- ⇒ **Interface multi-langue**
- ⇒ **Surveillance des paramètres du MEB**
- ⇒ **Affichage d'overlay sur l'image live** (polygone d'acquisition et points d'intérêt)
- ⇒ **Assistant d'alignement de l'échantillon sur les axes de la platine**
- ⇒ **Assistant de recalage pour recapturer des images élémentaires ou capturer un plan supplémentaire**
 - Image live et images précédemment acquises affichées en transparence
 - Contrôle de la platine pour l'alignement de l'échantillon
- ⇒ **Assistant de définition du recouvrement**



- ⇒ Échantillon virtuel
- ⇒ Logiciel de capture multi-champs
- ⇒ Logiciel de génération d'échantillon virtuel par assemblage d'images
- ⇒ Conclusion





Présentation de Virtual Image Stitcher

Virtual Image Stitcher (VIS) est une application logicielle pour :

- ⇒ **Charger un échantillon virtuel généré par VIC ou importer des images capturées par un autre système**
- ⇒ **Positionner les images élémentaires**
 - Mise en correspondance 2 à 2 (positionnement relatif)
 - Positionnement global
- ⇒ **Afficher l'échantillon virtuel au grandissement souhaité et déplacement sur l'échantillon**
- ⇒ **Exporter l'échantillon virtuel en image unique ou en ensemble de tuiles au grandissement souhaité**



Positionnement des images élémentaires relativement aux images voisines par :
Recalage par corrélation de la partie commune à deux images voisines (zone de recouvrement)

⇒ **Méthode de mise en correspondance de motifs significatifs**

- Avantage : calcul rapide
- Inconvénients : inadaptée aux images comportant des motifs répétitifs ou des distorsions géométriques

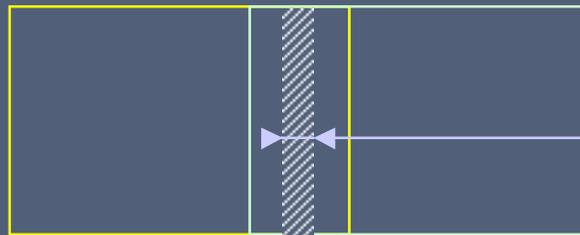
⇒ **Méthode de mise en correspondance globale**

- Inconvénient : calcul très long



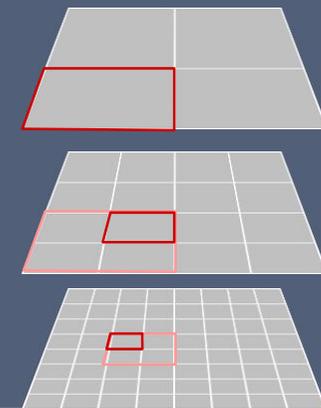
⇒ Amélioration de la méthode pour diminuer le temps de calcul

- Exploitation des spécifications du matériel utilisé pour le déplacement de l'échantillon
⇒ limitation de la zone de recherche



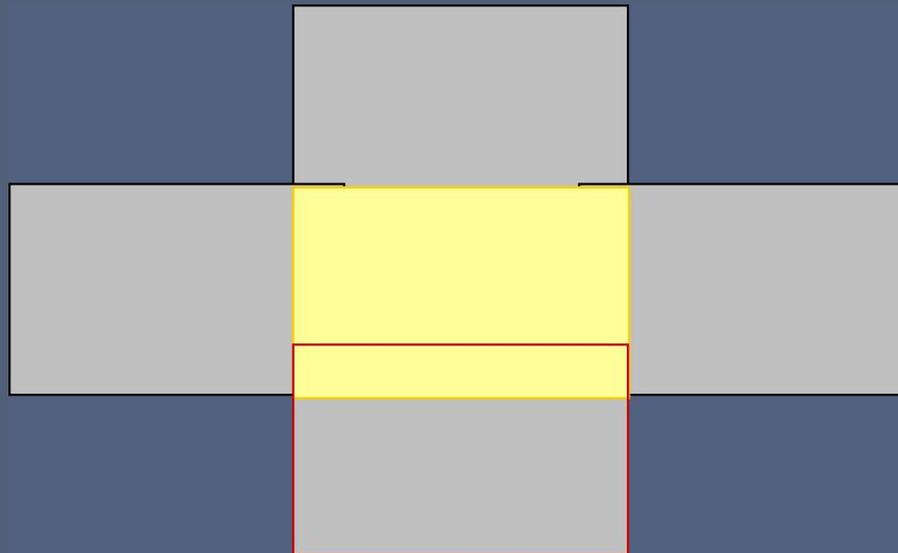
2x précision du déplacement

- Mise en correspondance pyramidale
⇒ diminution du nombre de données à traiter par la corrélation



Problème de recalage d'une image avec ses 4 voisines

- ⇒ Le recalage d'images deux à deux est un problème simple
- ⇒ Le recalage d'une image avec ses quatre voisines n'a pas de réponse unique



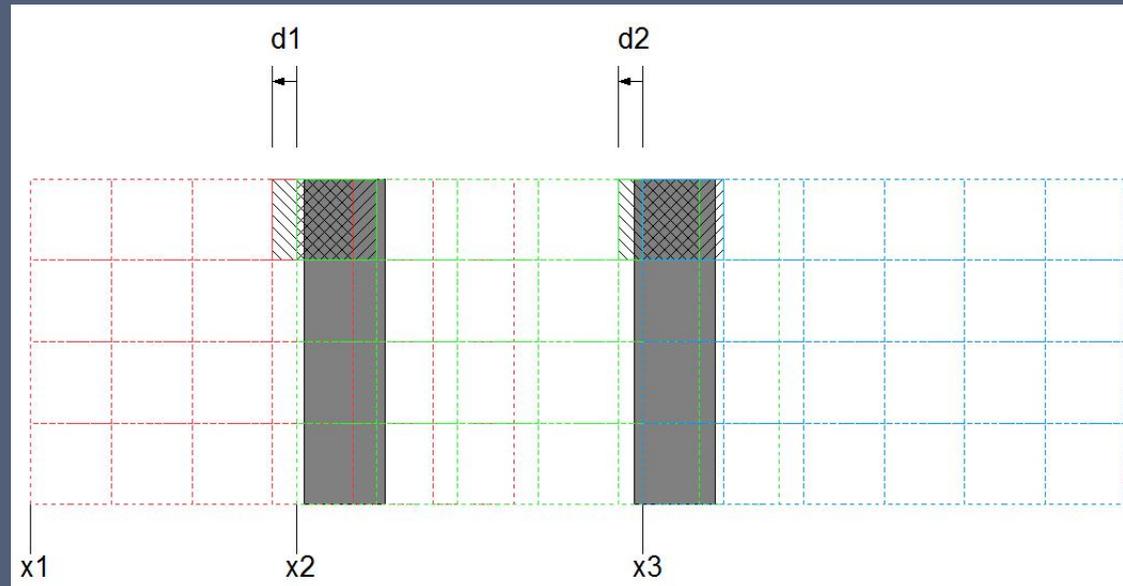
⇒ Influence de la précision de positionnement sur l'assemblage d'un grand nombre d'images

Les trames de 3 images consécutives sont représentées ci-dessous

Le premier motif apparaît à la position $x_2 - d_1$ dans la première image

Le second motif apparaît à la position $x_3 - d_2$ dans la deuxième image

La position relative calculée de la troisième image est donc $x_3 - d_1 - d_2$



⇒ Cumul des erreurs



La position de meilleure corrélation peut ne pas être la position relative attendue dans les cas suivants :

- ⇒ Informations contenues dans la zone de recherche peu significative (pas de motif ni de texture)
- ⇒ Images présentant des motifs répétitifs de période inférieure à la zone de recherche de correspondance



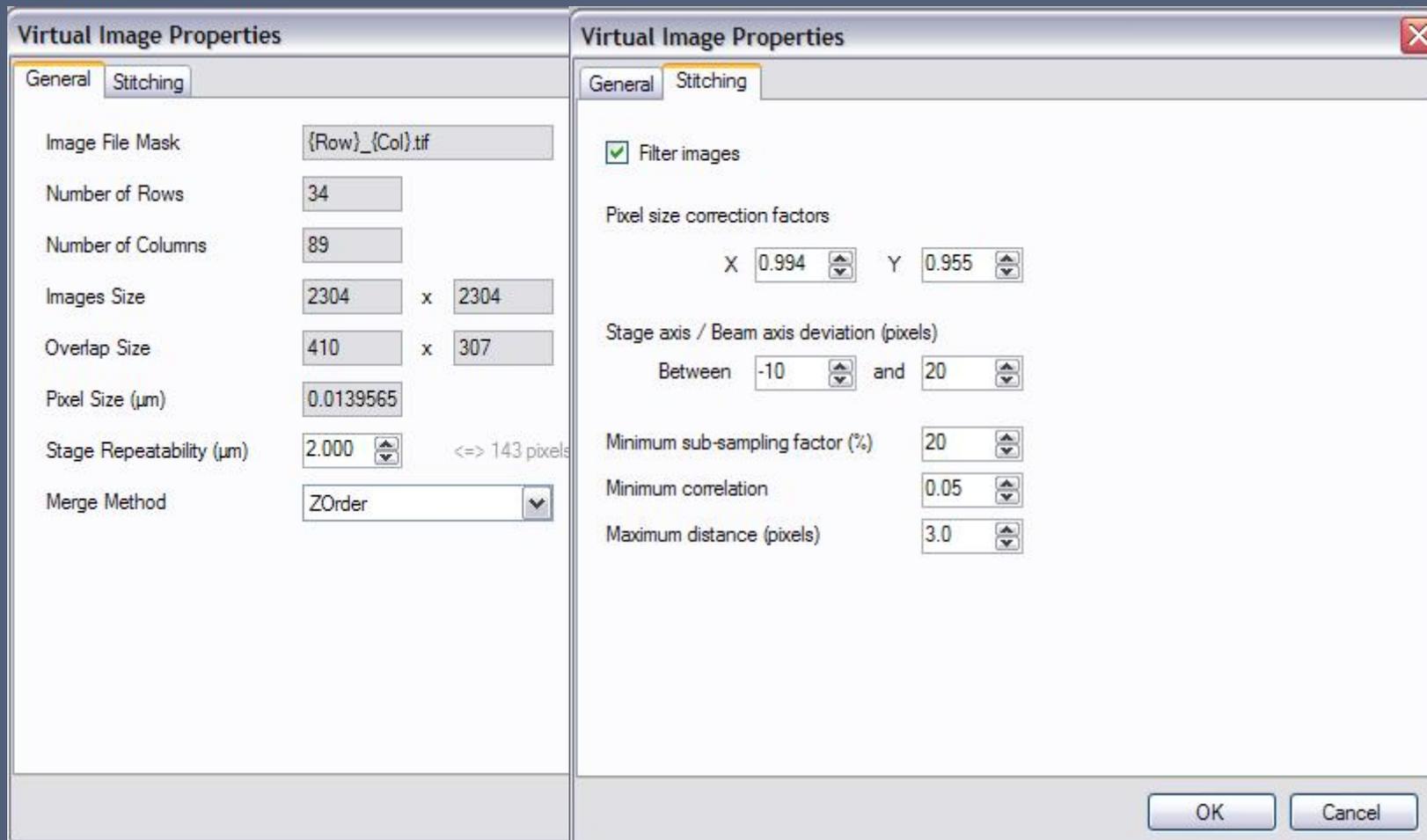


Méthode de positionnement de VIS

L'algorithme de positionnement automatique développé et intégré dans VIS :

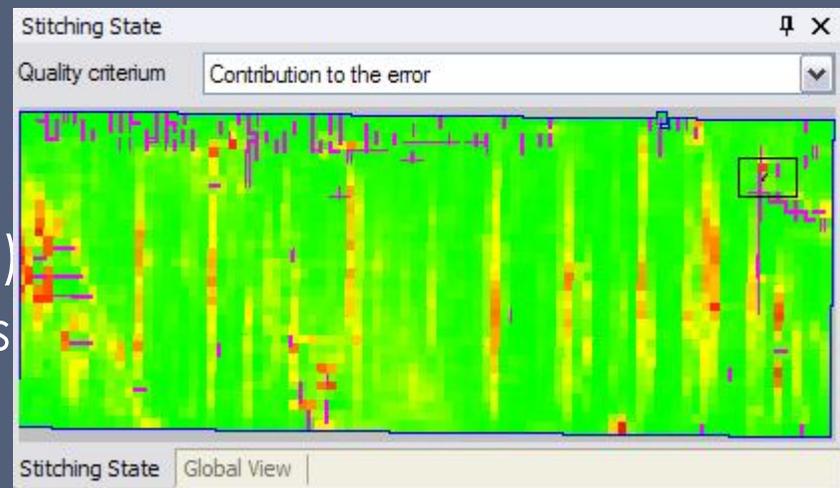
- ⇒ Minimise les erreurs de positionnement par incorporation progressive des images
- ⇒ Exclut les positions relatives lorsque la corrélation est inférieure au seuil
Les zones où l'information manque n'interviennent pas dans la minimisation
- ⇒ Exclut les positions relatives lorsqu'elles sont trop éloignées de la position calculée par minimisation (seuil paramétrable)
Évite le recalage sur un motif similaire voisin

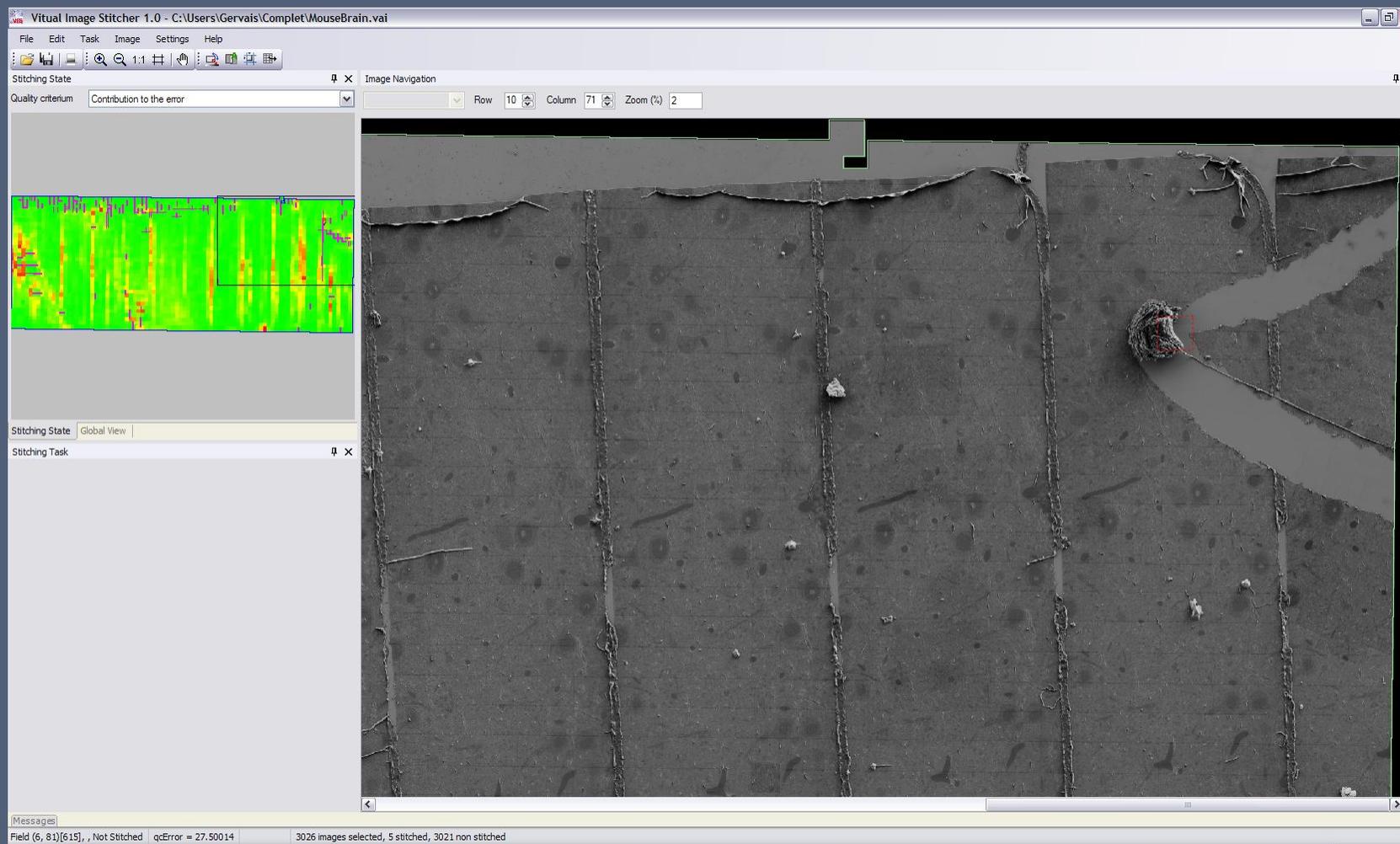


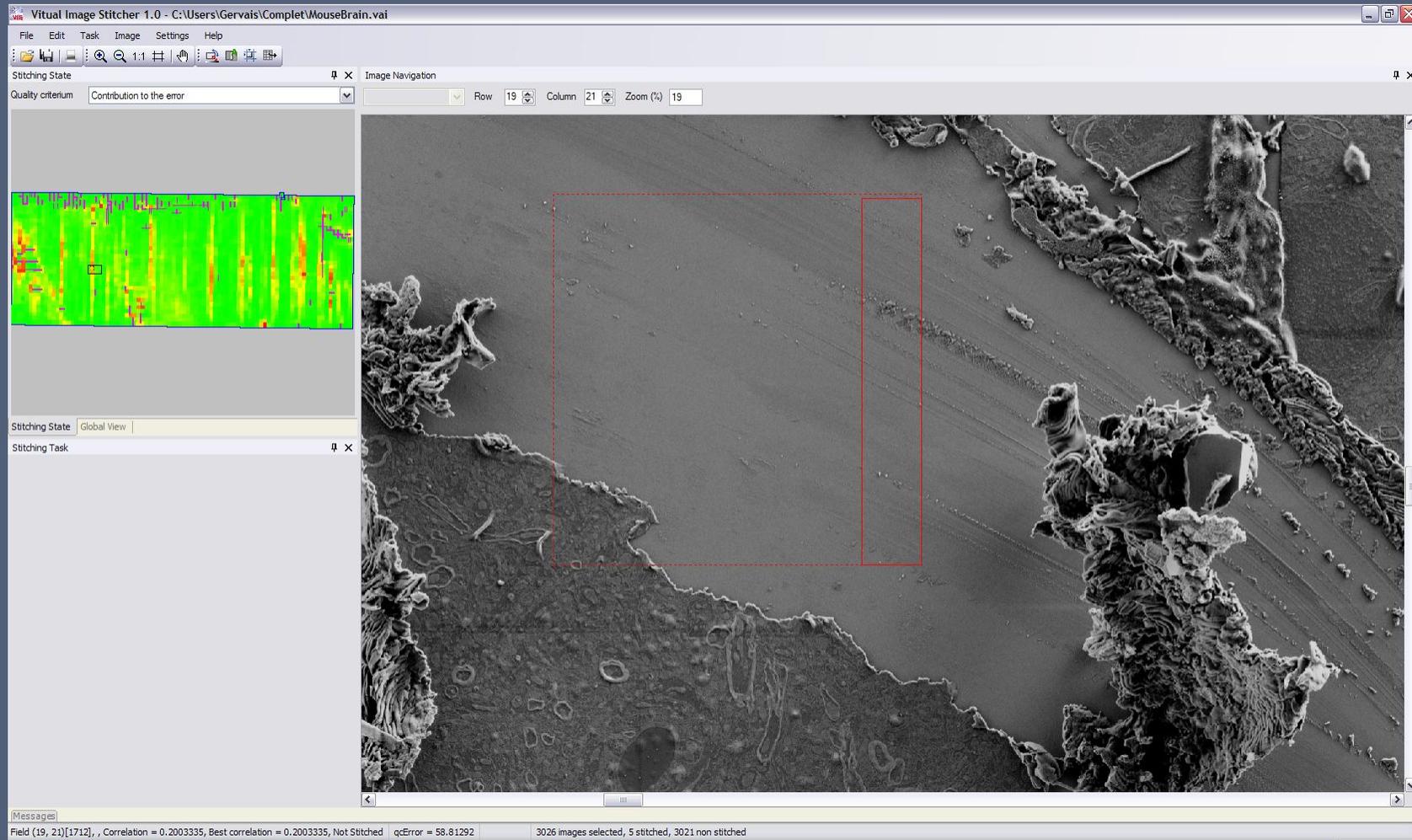


⇒ Des indices de qualité d'assemblage aident à la validation et/ou à la reprise locale semi-automatique ou manuelle de l'assemblage

- contribution à l'erreur (valeur du coût de l'image à la fin du processus de minimisation)
- Nombre d'images voisines dont la position relative est invalide
- Ecart en X/Y entre la position relative théorique (platine) et la position relative courante avec l'image de gauche/du dessus
- Indicateur d'exclusion de l'utilisation de la position relative dans l'algorithme de minimisation

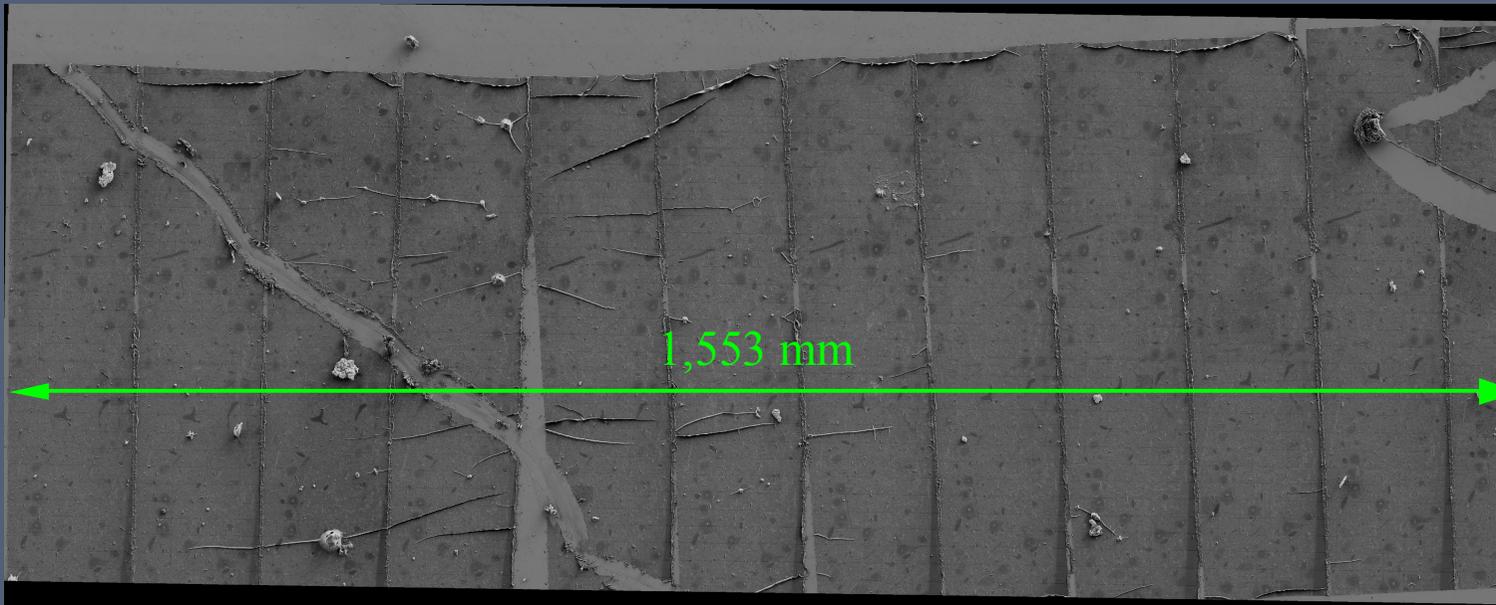






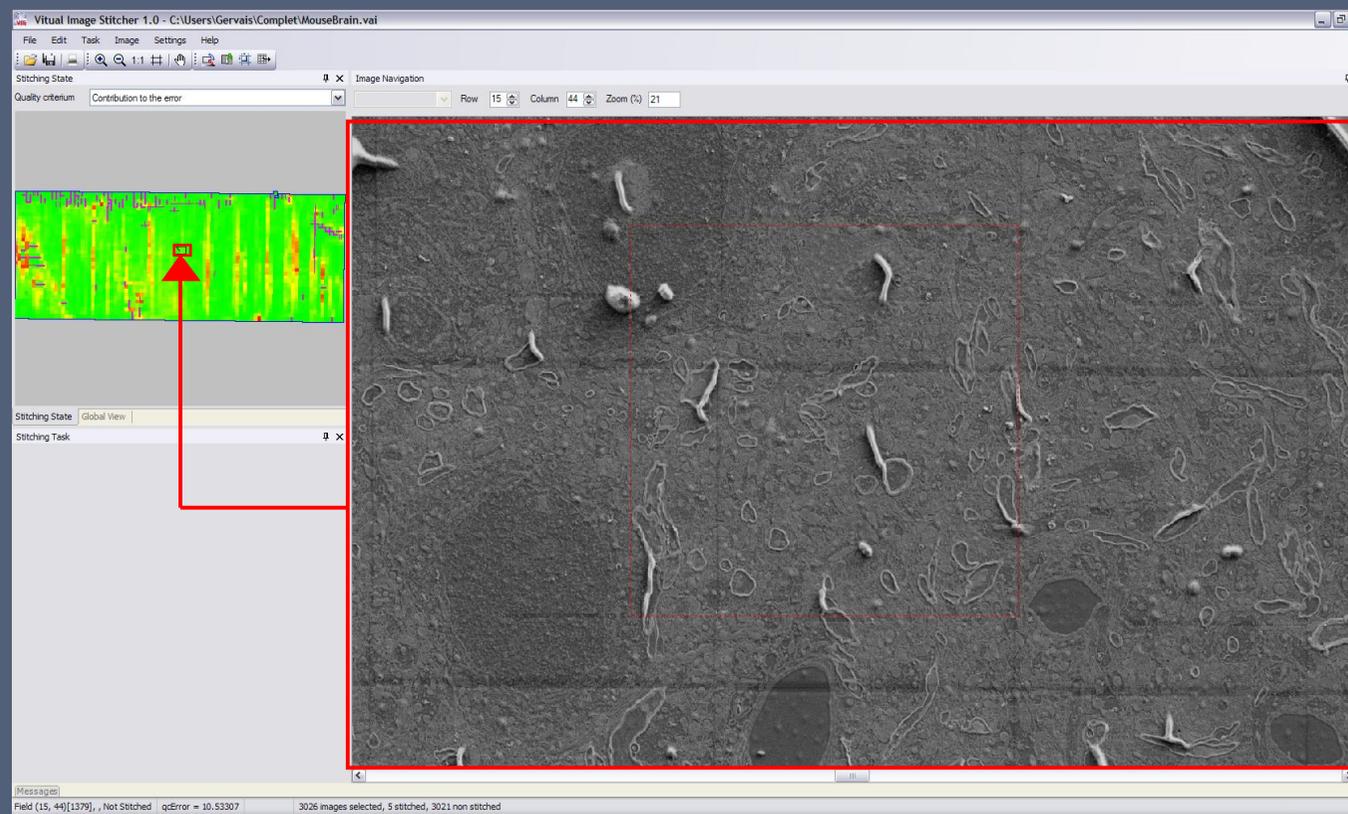
Présentation de l'exemple

- ⇒ Grandissement x4000 (taille du pixel : 9,304 nm)
- ⇒ 89 x 34 images de 3072x2304 pixels avec recouvrement
- ⇒ Taille de l'image assemblée : 166912 x 61696 pixels soit 9,59 Go



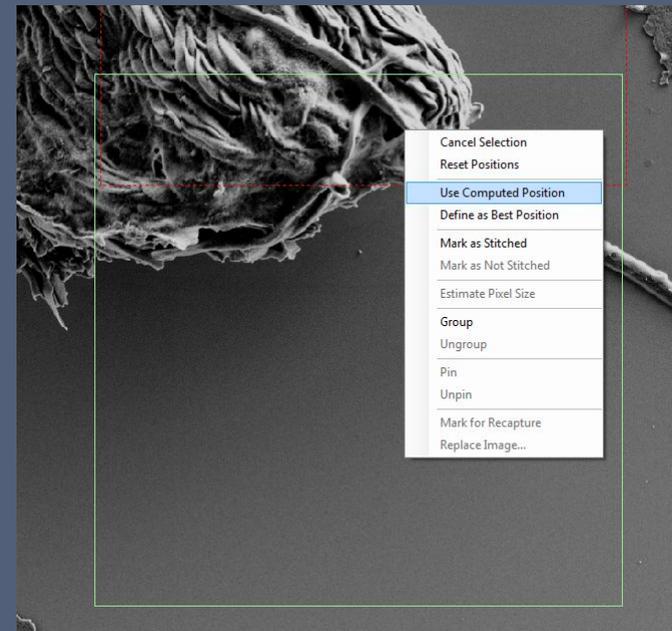
Navigation dans l'image virtuelle

- ⇒ Une gestion adaptée à l'utilisation – locale à fort grandissement et sous-échantillonnée à faible grandissement – permet l'affichage et le traitement de l'image virtuelle quelle que soit sa taille



Bien que l'outil d'assemblage automatique de VIS soit extrêmement performant, des outils pour la reprise manuelle sont proposés :

- ⇒ Possibilité de définir un bloc d'images
- ⇒ Possibilité de figer la position d'une image ou d'un bloc d'images
- ⇒ Déplacement manuel d'une image ou d'un bloc d'images avec indicateur de corrélation et visualisation en transparence des zones de recouvrement
- ⇒ Positionnement d'une image ou d'un bloc d'images en utilisant la position de meilleure corrélation de 2 images choisies



- ⇒ Échantillon virtuel
- ⇒ Logiciel de capture multi-champs
- ⇒ Logiciel de génération d'échantillon virtuel par assemblage d'images
- ⇒ Conclusion





Virtual Image Capture en résumé

- ⇒ Interface utilisateur adaptée à la capture des images d'un échantillon complet ou d'une surface importante de celui-ci
- ⇒ Interface permettant le contrôle de l'ensemble des paramètres des microscopes électroniques Carl Zeiss
- ⇒ Assistants d'optimisation de la qualité des images pour leur assemblage
- ⇒ Assistant de repositionnement pour recapturer une image élémentaire
- ⇒ Assistant pour la capture de plusieurs plans d'un même échantillon
- ⇒ Logiciel testé sur de nombreuses sessions de capture de longue durée (plus de 10 000 images par session)





Virtual Image Stitcher en résumé

- ⇒ Interface utilisateur à l'architecture commune à VIC et fichiers *.vai communs à VIC et VIS
- ⇒ Adapté à l'assemblage d'un grand nombre d'images
- ⇒ Tolérance aux erreurs de détermination des positions relatives
- ⇒ Adapté à l'assemblage d'images comportant des motifs répétitifs
- ⇒ Outils évolués pour la reprise manuelle
- ⇒ Possibilité de recalibrer 2 plans d'un même échantillon (images provenant de différents détecteurs ou après traitement de l'échantillon)



Virtual Image Stitcher associé à Virtual Image Capture permet de générer :

- ⇒ Un échantillon virtuel à haute résolution avec une excellente précision de positionnement des images élémentaires
- ⇒ Une vue globale de l'échantillon quasiment sans distorsion géométrique, contrairement à une observation directe à faible grandissement
- ⇒ Des images à n'importe quelle résolution inférieure ou égale à la résolution d'acquisition



- ⇒ **Merci à Jean-Claude Ménard de Carl Zeiss SMT pour son aide précieuse lors de notre collaboration sur ce développement**
- ⇒ **Les images de cerveau de souris ont été fournies par John Mendenhall du Center of Learning and Memory, University of Texas at Austin**

