

**Ecole d'été de microscopie électronique à balayage et de microanalyses
Cité scientifique de Lille, du 2 au 6 juillet 2012**

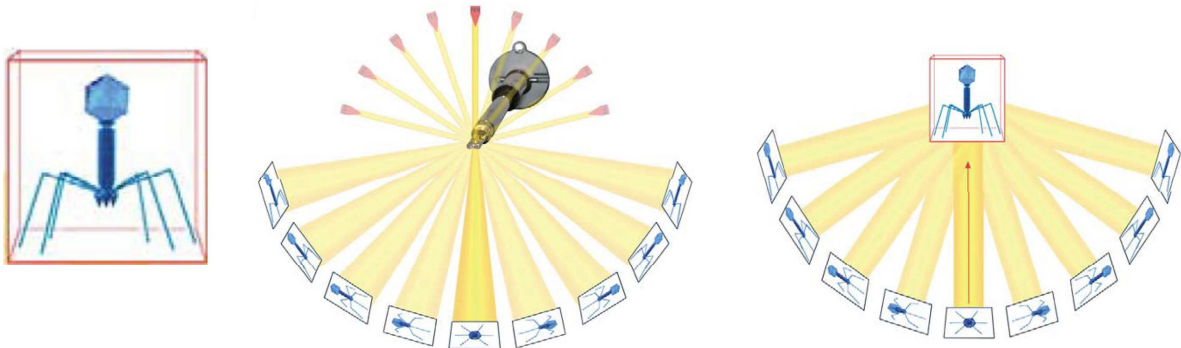
TD au choix tomographie électronique (durée 1^h30)

Coordinateurs : Christine Lancelot, Jean-François Dhenin

christine.lancelot@univ-lille1.fr, Université de Lille, UCCS, 59655 Villeneuve d'Ascq cedex

jean-francois.dhenin@univ-lille1.fr, Université de Lille, UMET, 59655 Villeneuve d'Ascq cedex

La microscopie électronique 3D ou tomographie est une technique d'investigation qui permet de reconstruire le volume d'un objet ainsi que sa structure et texture interne en recombinaison une ou plusieurs séries de projections enregistrées par microscopie électronique. Les trois aspects fondamentaux de cette technique : acquisition des images, reconstruction et visualisation seront abordés.



Le principe de la tomographie se base sur la collection d'images de projection d'un échantillon selon différentes orientations. Une image de projection contient en effet l'information 3D du volume projetée, c'est-à-dire sommée, sur l'image 2D. En faisant varier l'angle sous lequel on projette cette information 3D, et si le nombre de vues est suffisant on peut retrouver l'information 3D du volume initial grâce à l'ensemble des projections.

Acquisition :

Les séries tiltées peuvent être acquises en mode TEM, STEM et EFTEM.

La qualité finale du volume reconstruit dépend de 2 paramètres importants, le nombre de projections et l'intervalle des angles d'acquisition.

L'inclinaison du porte-objet étant limitée, l'intervalle d'acquisition parcourt de façon classique l'intervalle $[-60^\circ, +60^\circ]$. Compte-tenu de l'absence d'information entre -60° et 90° et entre $+60^\circ$ et $+90^\circ$, la série de projections présentera une région dénuée d'information, c'est le « missing wedge » (coin manquant).

Le pas d'acquisition entre deux images peut être constant, généralement 1 ou 2°, ou bien variable en fonction de l'angle d'inclinaison de l'échantillon sous le faisceau d'électrons. L'épaisseur de coupe à traverser par les électrons est inversement proportionnelle au cosinus de l'angle d'inclinaison de l'échantillon. Aux grands angles, les interactions entre les électrons du faisceau et la matière de l'échantillon sont donc nombreuses et les images peu contrastées. Par contre elles contiennent des informations importantes pour la reconstruction du volume. La méthode d'acquisition Saxton consiste à modifier le pas en fonction de l'angle d'inclinaison afin d'augmenter le nombre d'images prises aux grands angles.

Lorsque la platine goniométrique tilte la grille, s'ensuivent un déplacement et un changement de focus de la zone observée, qui sont corrigés automatiquement entre deux acquisitions par un traitement du signal par une fonction de corrélation.

L'acquisition automatisée d'une série de projections se décompose donc en plusieurs étapes : le changement d'angle, le recentrage de l'objet, une correction du focus suivie de l'acquisition à proprement parler.

Reconstruction :

Les données brutes récupérées après acquisition ne sont pas des données 3D ; l'étape de reconstruction va permettre de retrouver l'information 3D à partir de la série tiltée des projections. Plusieurs méthodes sont à notre disposition : les méthodes de rétro-projections, pondérées lorsque l'on applique un filtre de pondération sur l'image avant projection (WBP ou Weighted Back Projection), et les méthodes basées sur des algorithmes itératifs, consistant à comparer les projections expérimentales et les projections théoriques obtenues à partir du volume reconstruit (SIRT ou Simultaneous Iterative Reconstruction Technique).

Visualisation :

L'étape finale permet de visualiser le volume reconstruit, sous forme de volume, d'isosurfaces (obtenues en connectant les voxels de même valeur) ou de coupes virtuelles.