



*Journée MATLAB  
CEMHTI, 19 Février 2018*

# Traitement et analyse d'images pour l'exobiologie

Frédéric Foucher

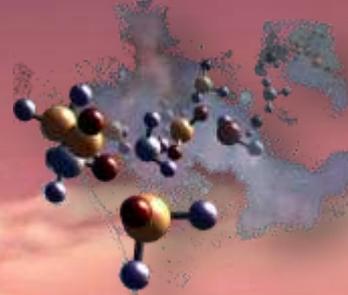
Centre de Biophysique Moléculaire, CNRS, Orléans

*frederic.foucher@cnsr.fr*



# Exobiologie?

L'**exobiologie** s'intéresse à l'origine de la vie et son évolution sur Terre comme ailleurs dans l'Univers.



# Le groupe exobiologie du CBM



Fondé par André Brack, maintenant dirigé par Frances Westall.



*Chimie  
prébiotique*



*Chimie  
"spatiale"*



*Micropaléontologie et  
géologie*



*Exploration  
spatiale*



*Microbiologie*

Principalement:

T. Georgelin and A.-V. Dass

Principalement:

F. Westall, K. Hickman-Lewis et moi

Principalement:

F. Gaboyer

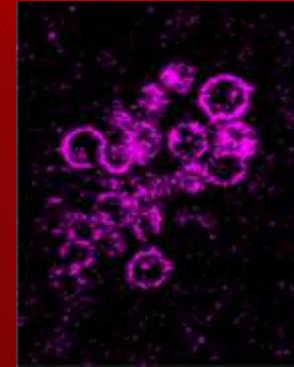
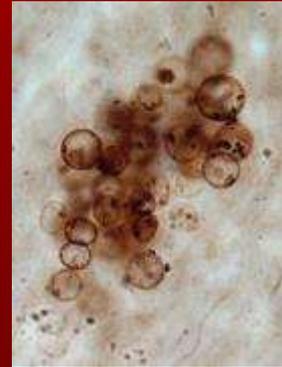
# Thématiques

## Etude d'analogues



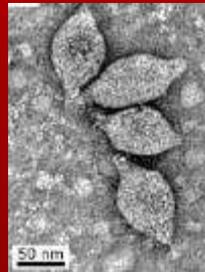
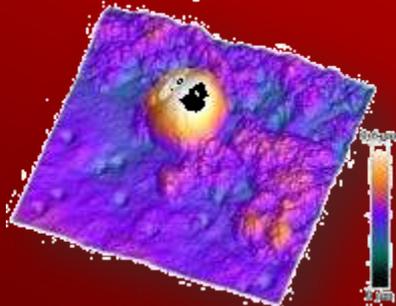
*Bost et al., 2013.*

## Recherche de biosignatures détectables



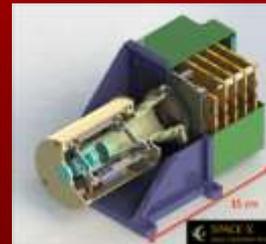
*Foucher & Westall, 2013.*

## Fossilisation artificielle



*Orange et al., 2011.*

## Développement instrumental



*Josset et al., 2017; Rull-Perez et al., 2006; Foucher et al.,*

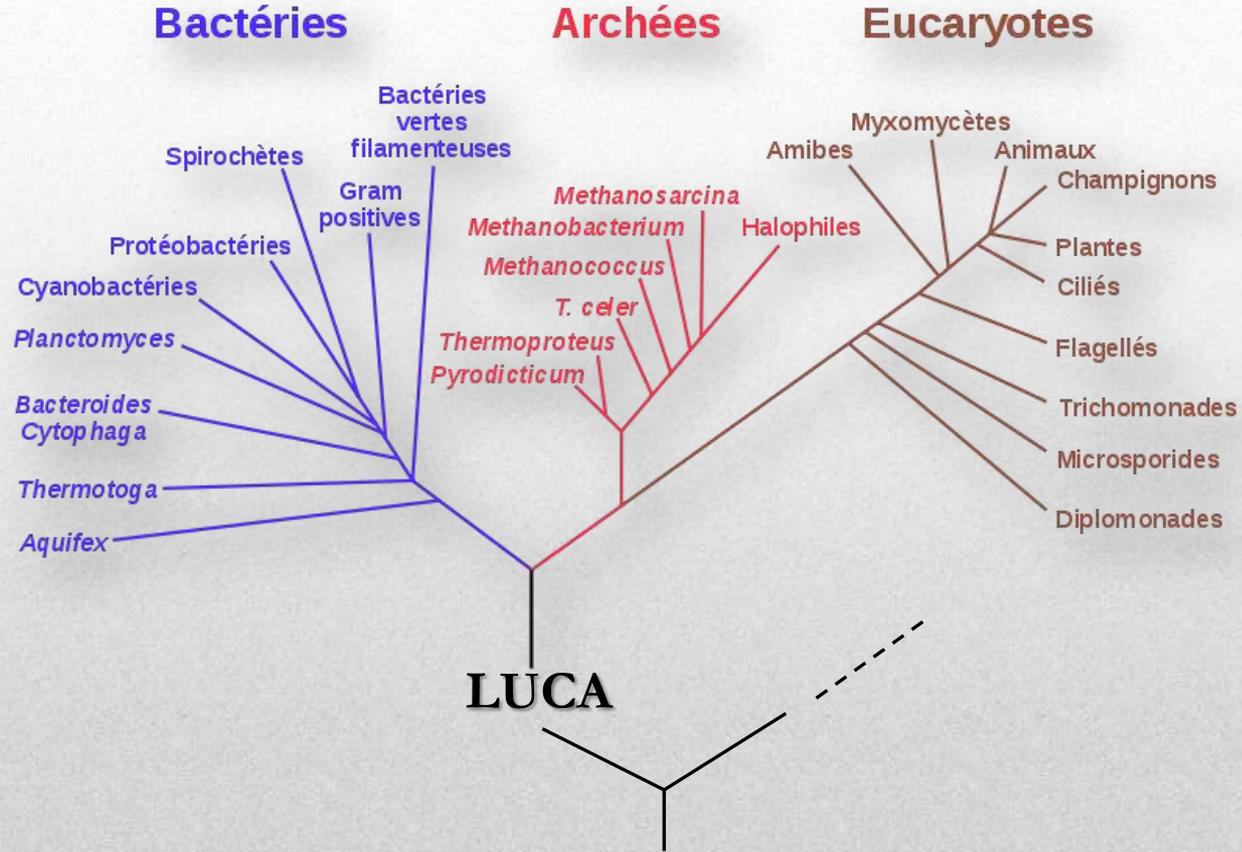
*2013*

The background of the slide is a dark green field filled with various stylized, glowing green microscopic organisms. These include elongated, rod-shaped bacteria with flagella, clusters of small spherical cells, and larger, more complex, multi-lobed structures with internal organelles. The organisms are scattered across the frame, creating a sense of a diverse microbial world.

# A la recherche du premier être vivant

*La micropaléontologie*

# LUCA



1<sup>er</sup> organisme vivant (~4 Ga)

# Les premières traces de vie

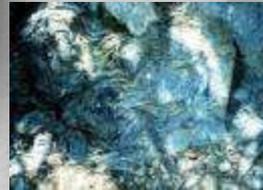
Origine de la vie

-4.5 Ga

-4 Ga

-3.5 Ga

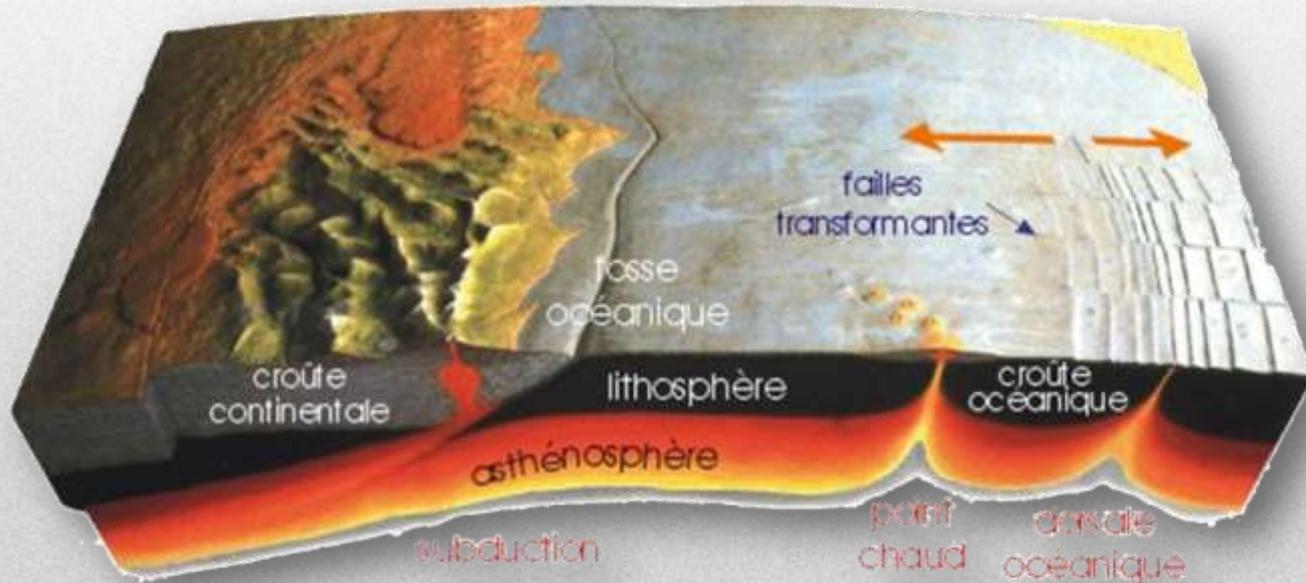
-3 Ga



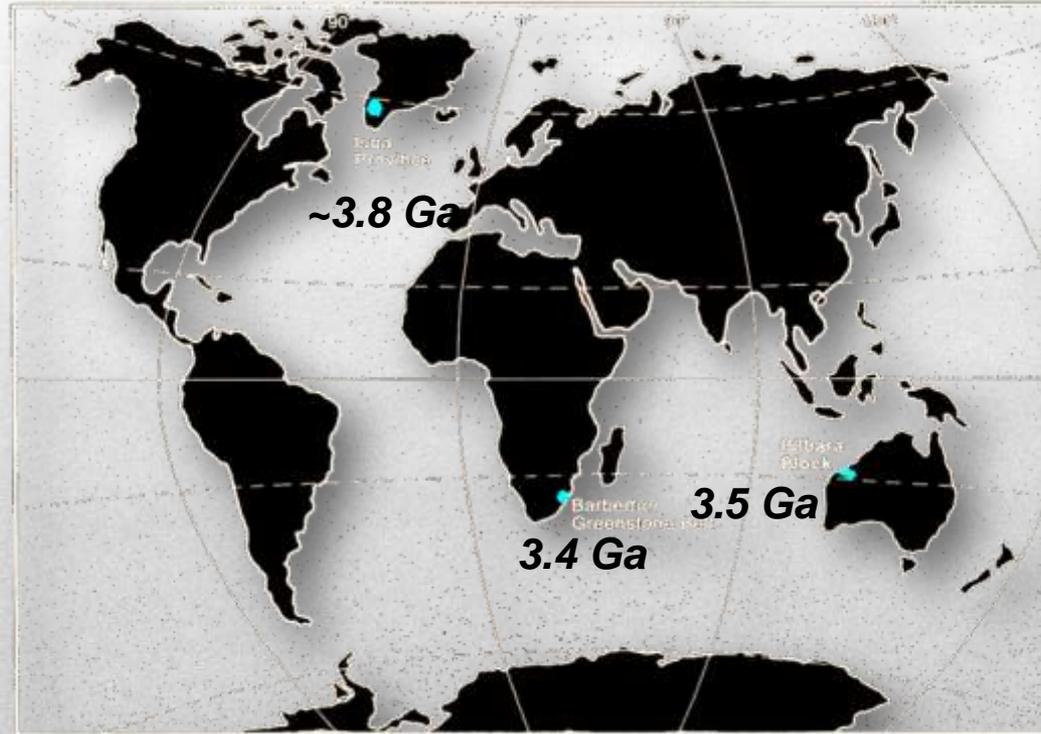
Très vite, que des microbes!

# Autre difficulté

Les roches les plus anciennes sont détruites du fait de la tectonique des plaques et du métamorphisme.



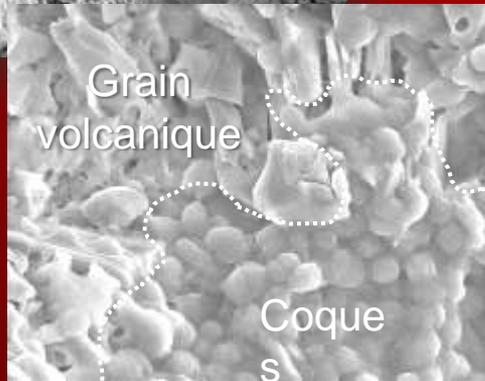
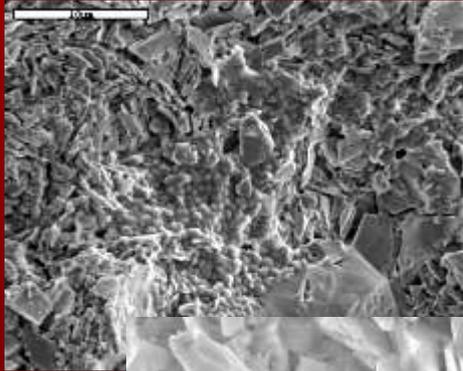
# Sédiments les plus anciens



Sédiments de l'Archéen

# La vie sur la Terre primitive

Chimolithotrophes, Kitty's Gap



Phototrophes, Josefsdal

200 μm



Organismes très petits ( $\sim < 1 \mu\text{m}$ ) avec des morphologies simples (coques, filaments, bâtonnets).

Cependant, on observe déjà une variété métabolique relativement importante il a 3,5 Ga.



~500 Ma d'années d'évolution

# Comment détecter une vie microbienne?

Preuve directe:

- Observation de colonies microbiennes.

Preuves indirectes:

- Biomolécules (e.g. acides nucléiques)
- Biogaz (e.g. méthane)
- Biominéraux (e.g. vaterite)
- Biostructures (e.g. stromatolithes)

# Comment détecter des microfossiles de plusieurs Ga?

Preuve directe :

- Observation de colonies microbiennes fossilisées. Pas suffisant.

Preuves indirectes:

- ~~- Biomolécules (e.g. acides nucléiques)~~ → matière carbonée. Pas suffisant.
- ~~- Biogaz (e.g. méthane)~~
- Biominéraux (e.g. ~~vatérite~~) → quelques biominéraux. Pas suffisant.
- Biostructures (e.g. stromatolithes fossilisés). Pas suffisant.
- Le contexte géologique. Pas suffisant.



Nécessite un faisceau de preuves!



*Appareils photo*



*Microscopes*



*Spectromètres*



*Microscopes électroniques*



*Synchrotron*

**DU GLOBAL**

**Quels  
instruments?**

**AU LOCAL**

# Problématique

- **Analyses multi-échelles sur des échantillons hétérogènes**



Il faut pouvoir retrouver un endroit déjà étudié :

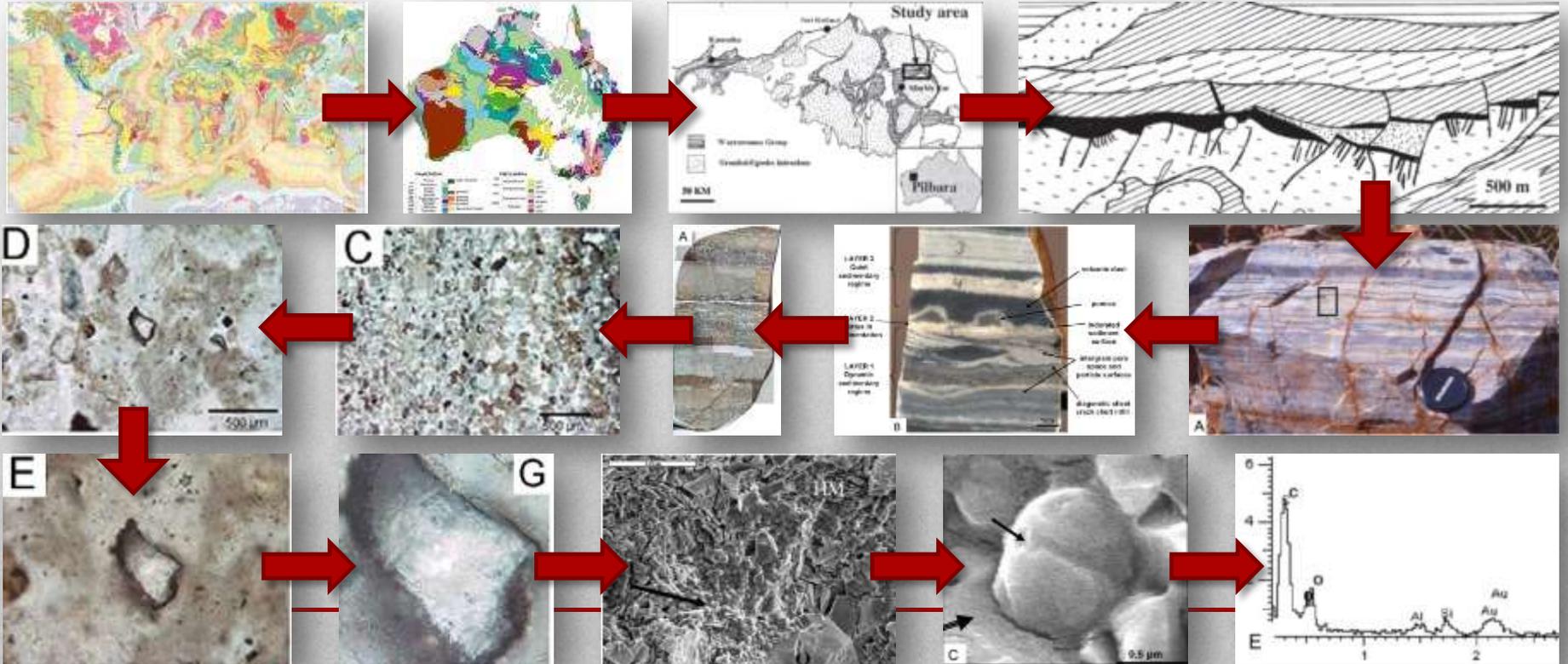
- Sur le même instrument
- Sur d'autres instruments



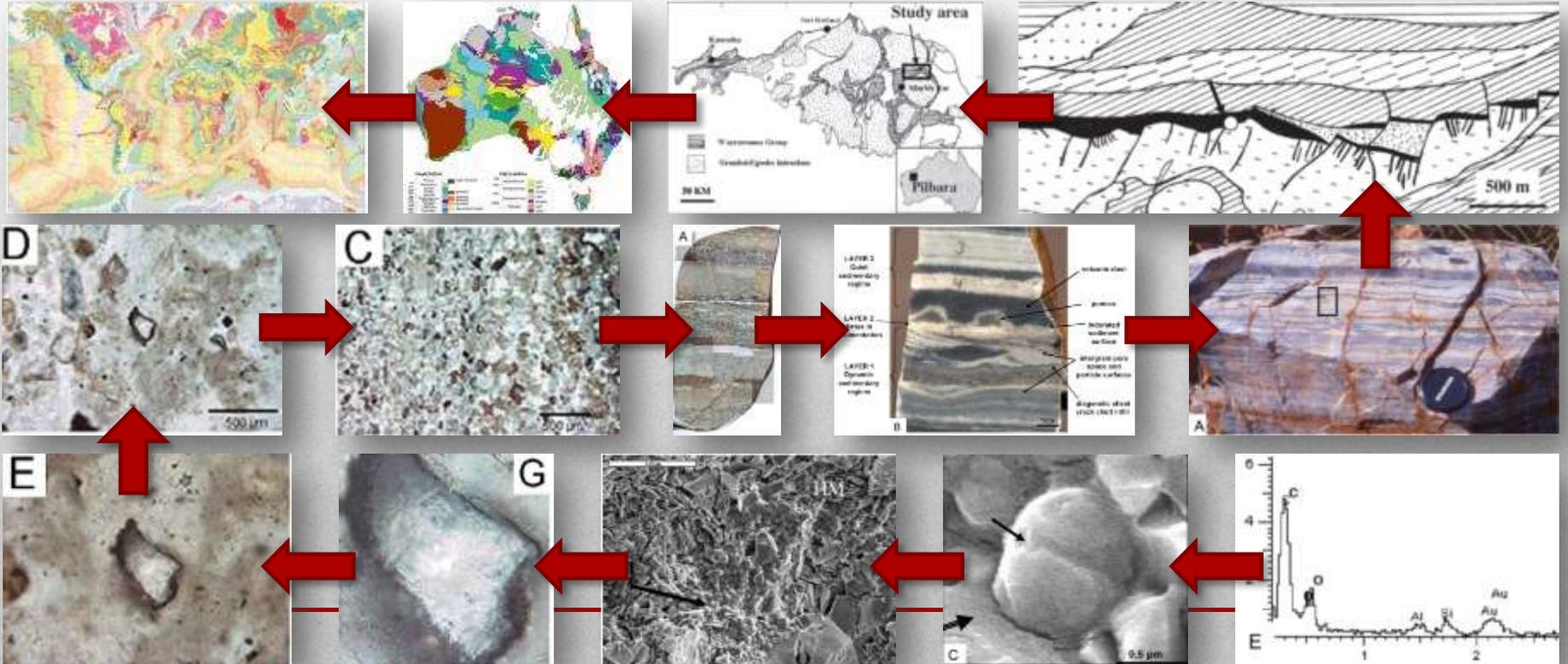
**Repositionnement, relocalisation et recalage**

---

# En pratique, ça...



# ...mais aussi ça !



# Une méthodologie basée sur l'image

Vue globale (zoom « out » max)



Zoom à l'échelle d'intérêt



Zoom out



Localisation de zones d'intérêt et prise d'images à différents  
grandissements



---

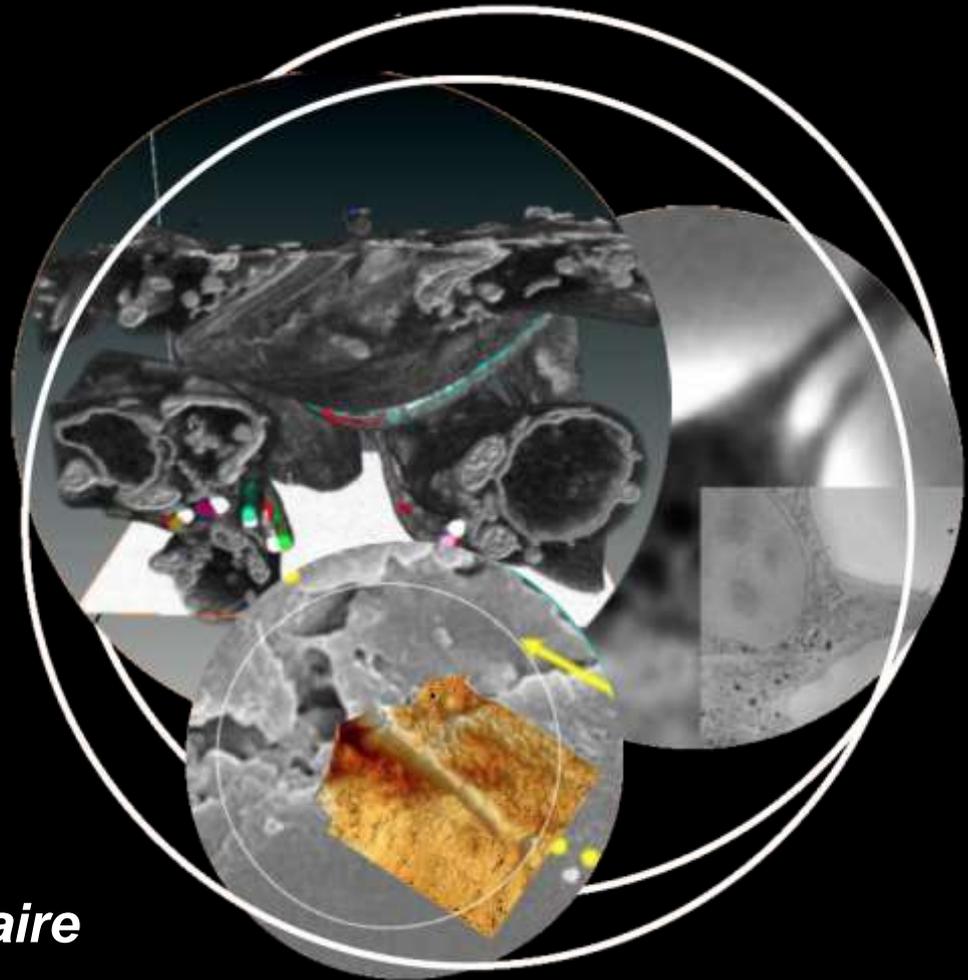
Changement de technique et relocalisation





# Le GT repositionnement -relocalisation

*Une problématique transdisciplinaire*



# GT ?

Groupe de Travail inter-réseaux des Réseaux Métiers et Technologiques de la Mission pour l'Interdisciplinarité du CNRS.

**Objectif: rassembler des personnes issues de différents domaines autour d'une problématique scientifique/technique.**





# Repositionnement vs. relocalisation

*Mécanique vs. imagerie*

---

# Repositionnement

- Mécanique

Platines manuelles, motorisées et/ou piézoélectriques



*AFM/Raman WITec Alpha500 RA, CBM, Orléans*



*Microscope optique Olympus BX-51, CBM, Orléans*

# Repositionnement

- **Utilisation**

- Retour sur un endroit précis à partir des coordonnées
- Analyses couplées sur un même instrument
- Repositionnement continu pour compenser une dérive

- **Limitations**

- Nécessite de ne pas ôter l'échantillon du système ou d'être capable de le remettre de manière identique
- Délicat à l'échelle micrométrique
- Quasi-impossible à utiliser sur des systèmes différents



**Relocalisation**

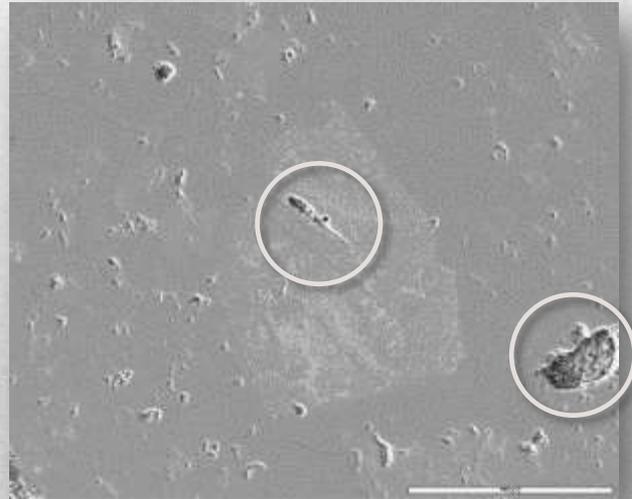
# Relocalisation

- **Imagerie**

Détection de structures distinctives permettant de se repérer, qu'elles soient originelles (fissures, trous...) ou volontaires (gravures, marques...)



*Image de microscopie optique*



*Image MEB*

# Relocalisation

- **Utilisation**

- Retour sur un endroit précis (aucune limite)
- Multi-analyses sur plusieurs instruments

- **Limitations**

- Techniques différentes = contrastes différents
- Techniques différentes = échelles souvent différentes

 **Méthode souvent délicate**

---



# Méthodes « à l'arrache »

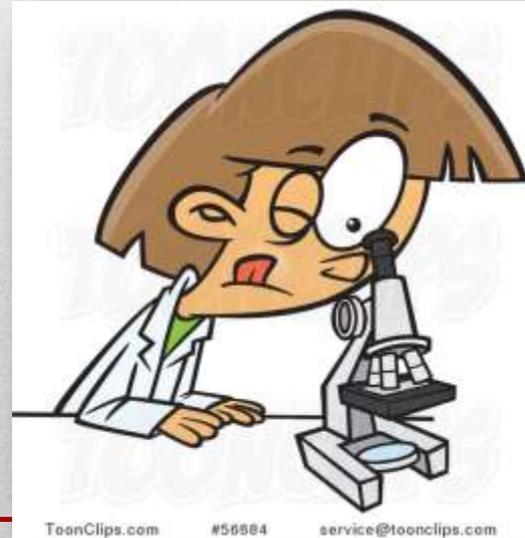
*Méthode papier et méthode « facile »*

---

# Les images papier!

L'image = le lien entre les différentes techniques

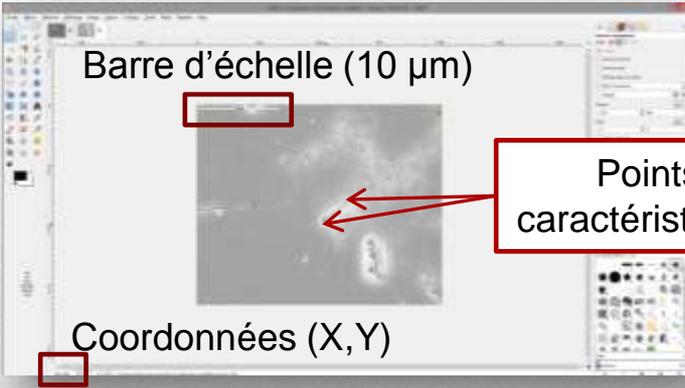
Méthode: j'imprime puis je cherche.



# Redimensionnement et rotation: calcul

- **GIMP**

MEB

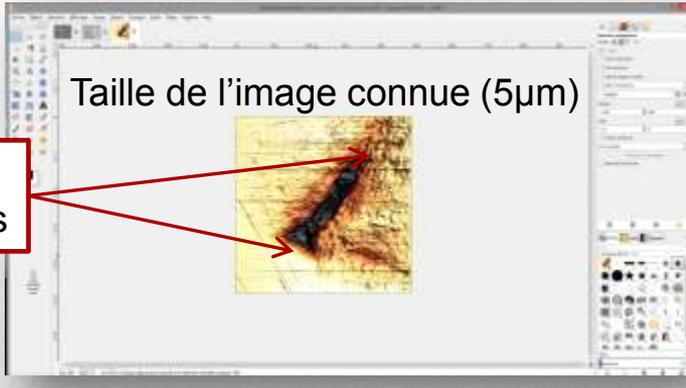


Barre d'échelle (10  $\mu\text{m}$ )

Points caractéristiques

Coordonnées (X,Y)

AFM



Taille de l'image connue (5 $\mu\text{m}$ )

- **EXCEL**

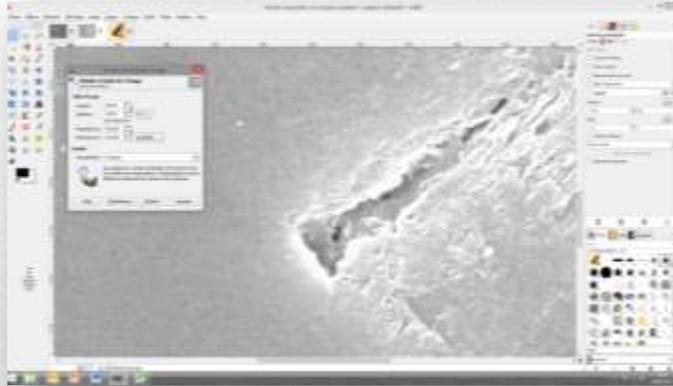
Mise à l'échelle

redimensionnement							
	Image 1			Image 2			
	longueur en pixel	taille réelle		longueur en pixel	taille réelle		
Scale bar	345	10		494	5		
Redimensionner image 1 à	<b>286,38 %</b>		ou image 2 à	34,91902834 %			
rotation							
	Image 1			Image 2			
	x	y		x	y		
Point 1	537	500		223	385		
Point 2	606	429		363	37		
Pente	-1,02898597			-2,057142857			
			Theta	<b>18,25664303</b>	si < 90°	ou	<b>198,256643</b> si > 90°

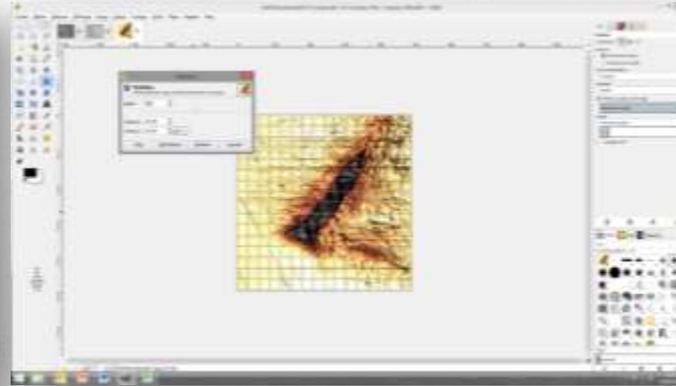
Angle de rotation

# Redimensionnement et rotation: réalisation

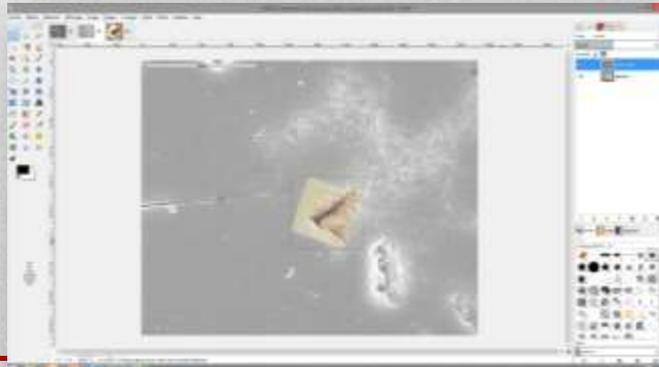
GIMP



Mise à l'échelle



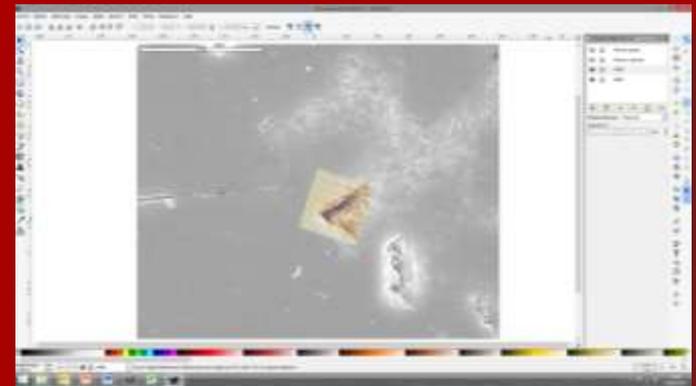
Rotation + ajustement du canevas au calque



Copier/coller + transparence + calques

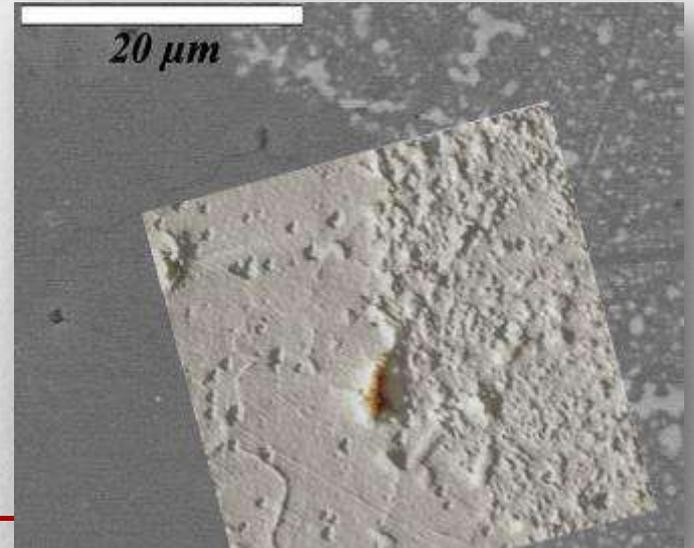
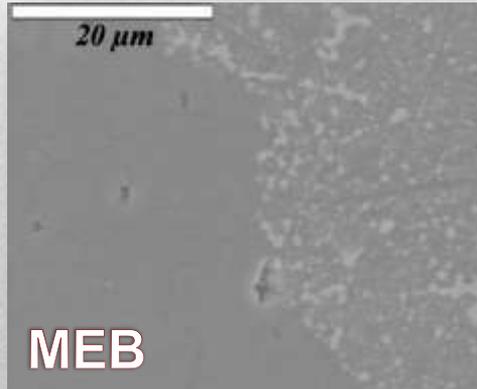
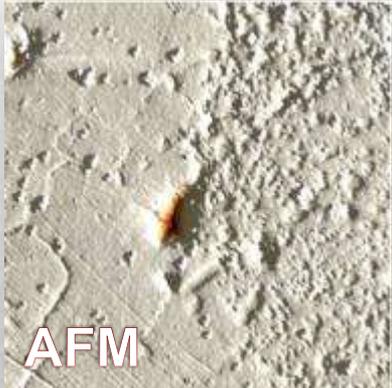
**Inkscape**

Calques plus pratiques



# Superposition

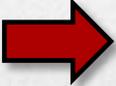
Méthode: superposition des images après rotation et redimensionnement,



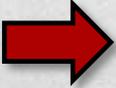
Rotation (2 points distincts), mise à l'échelle (barres d'échelle) et superposition (GIMP, Inkscape, ImageJ...)

# Conclusion

- **Repositionnement**

Mécanique  ~ OK (e.g. platines nano)

- **Relocalisation**

Imagerie  ~ à l'arrache!

Des solutions plus abouties  
existent !

---



# Méthodes abouties

*Logiciels et hardware dédiés*

---

# Journée thématique du 29 juin 2016

- Préparation d'échantillons
- Supports d'échantillons
- Systèmes de repositionnement
- Couplage
- Traitement d'image
- Méthodes utilisées en astronomie

Les trois réseaux technologiques de la  
Mission pour l'Interdisciplinarité du CNRS  
RTMFM, ReMiSoL, RCCM  
organisent une

## Journée thématique Repositionnement-Relocalisation

**Mercredi 29 Juin 2016 de 9h30 à 17h30**

Institut Pasteur, Amphithéâtre François Jacob  
28 Rue du Docteur Roux,  
75 015 Paris

Inscription gratuite et obligatoire à partir du 9 Mai sur  
<http://itrepositionnement.sciencesconf.org/>  
Soumission des résumés avant le 29 Mai

### Programme Prévisionnel

#### Conférences et tables-rondes

##### Préparation des échantillons

Christopher Peddie  
CRUK, London Research Institute

##### Supports et repères

Anna Sartori  
Institut Pasteur, Paris

##### Techniques de couplage

Yannick Auguy  
ENSAM, Bordeaux

##### Traitement des images

Maitine Bergounioux  
Université d'Orléans

##### Repositionnement multi-échelle

Luc Arnold  
OHP, Saint-Michel l'Observatoire



Contact : [gt\\_repositionnement@services.cnrs.fr](mailto:gt_repositionnement@services.cnrs.fr)



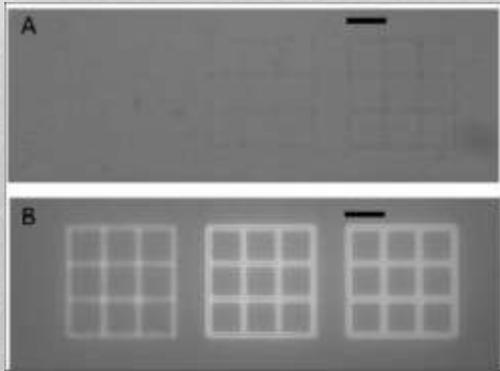
# 1 – supports dédiés

Supports particuliers :

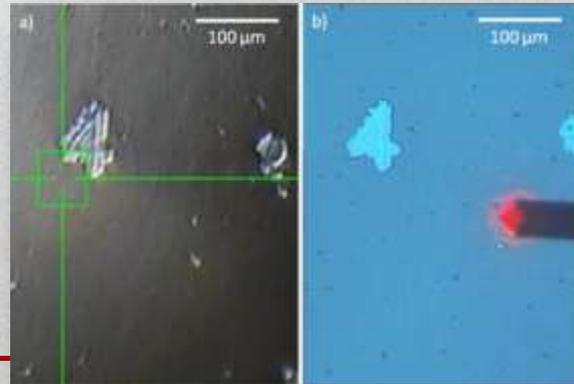
MatTek « Glass bottom dishes », Ibidi  $\mu$ -dish, Aclar, Saphir disks, EM finder grids, des lamelles gravées pour Shuttle and Find, des substrats vitreux gravés Argolight ou gravés par ToF-SIMS, des lamelles avec repère, ou encore des techniques telle que celle de la pointe d'aiguille ou des nanoparticules d'or fluorescentes.



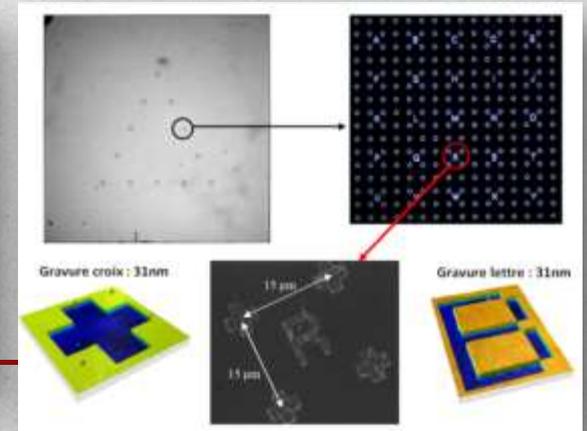
*Ibidi  $\mu$ -dish*



*Argolight*



*substrats gravés par ToF-SIMS*



Gravure croix : 31nm

Gravure lettre : 31nm

# 2 – repositionnement intelligent

- Serial EM et NanoMAPS.

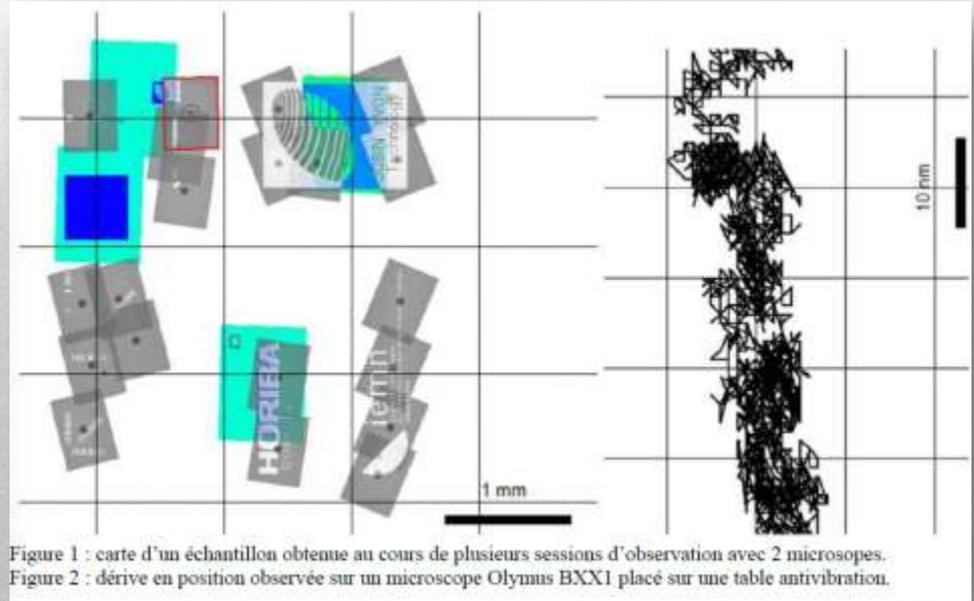
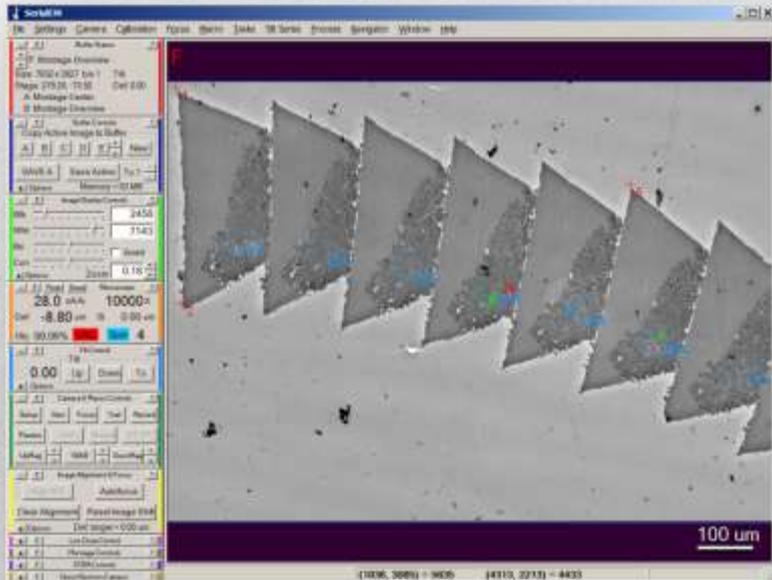
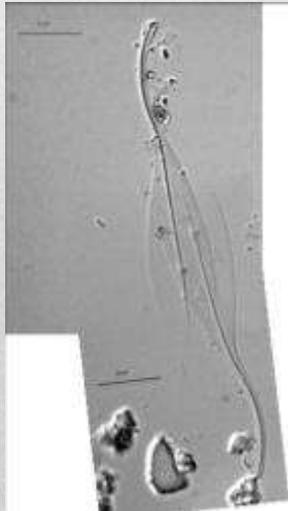


Figure 1 : carte d'un échantillon obtenue au cours de plusieurs sessions d'observation avec 2 microscopes.  
Figure 2 : dérive en position observée sur un microscope Olympus BXX1 placé sur une table antivibration.

# 3 – traitement d'images

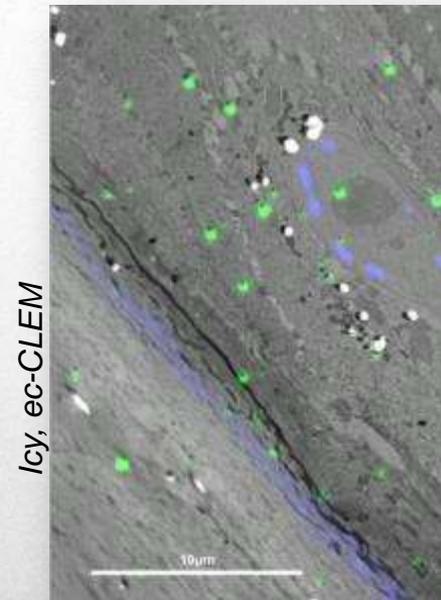
- Semi-automatique avec *Icy* et le module *ec-CLEM*, ou avec *Registax 6* en utilisation détournée (logiciel d'astronomie)
- Automatique avec le module *Image Registration App* pour *MatLab*, les modules *TrackEM*, *iTomo* et *TurboReg* pour *Image J*, et les logiciels *Amira* et *Ilastik*



*Image Registration App, MatLab*

*TurboReg, Image J*

*Registax 6*



*Icy, ec-CLEM*



# Journée thématique du 21 nov. 2017

- Traitement d'images avec  
Icy eC-CLEM et MATLAB

Le réseau thématique de recherche RTR Image  
et les trois réseaux technologiques de la  
Mission Interdisciplinarité du CNRS  
RTMFM, RéMiSoL, RCCM  
organisent un

**Atelier Pratique  
Repositionnement-Relocalisation-Recalage**

**Mardi 21 Novembre 2017 de 9h30 à 17h00**

*Hôtel Dupanloup, 1 Rue Dupanloup,  
45 000 Orléans*

*Inscription gratuite et obligatoire à partir du 15 septembre sur  
[www.rtrimage.fr/inscription-journee-recalage/](http://www.rtrimage.fr/inscription-journee-recalage/)  
Appel à contribution avant le 5 octobre*

**Présentations et  
Ateliers/Travaux Pratiques  
Icy eC-CLEM**

**Xavier Heiligenstein**

*Institut Curie, Paris*

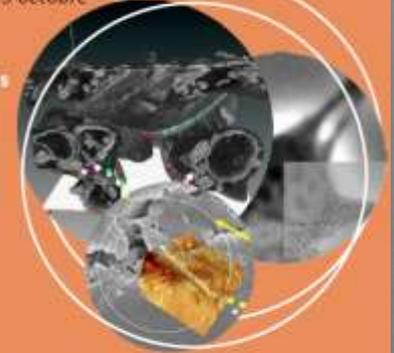
**Perrine Paul-Gilloteaux**

*CNRS-SFR Santé Nantes*

**MATLAB®**

**Maitine Bergounioux**

*Université d'Orléans*



Contact : [frederic.fouchier@cnrs.fr](mailto:frederic.fouchier@cnrs.fr)



# Recalage d'images par détection des éléments d'intérêt

*D'après M. Bergougnioux*

Les détecteurs sont en général basés sur le gradient de l'image et les variations d'intensité. Le détecteur sélectionne des régions de l'image qui ont un contenu unique. Ces points ne correspondent pas nécessairement à des structures physiques (comme les coins d'une table). La clé est de trouver un point est qui localement invariant.

Les principaux détecteurs des points d'intérêt locaux (inclus dans la boîte à outils Image Processing de MATLAB) sont:

- FAST, Harris, et Shi & Tomasi pour les coins
- SURF et MSER pour les gouttes (blob features)

Detector	Feature Type	Function	Scale Independent
FAST [1]	Corner	<a href="#">detectFASTFeatures</a>	No
Minimum eigenvalue algorithm[4]	Corner	<a href="#">detectMinEigenFeatures</a>	No
Corner detector [3]	Corner	<a href="#">detectHarrisFeatures</a>	No
SURF [11]	Blob	<a href="#">detectSURFFeatures</a>	Yes
BRISK [6]	Corner	<a href="#">detectBRISKFeatures</a>	Yes
MSER [8]	Region with uniform intensity	<a href="#">detectMSERFeatures</a>	Yes

# Exemples

SURF (détection de « blobs »)



Harris (détection de coins)



# Exemples

MSER (détection de régions de même intensité)



*D'après M. Bergougnioux*

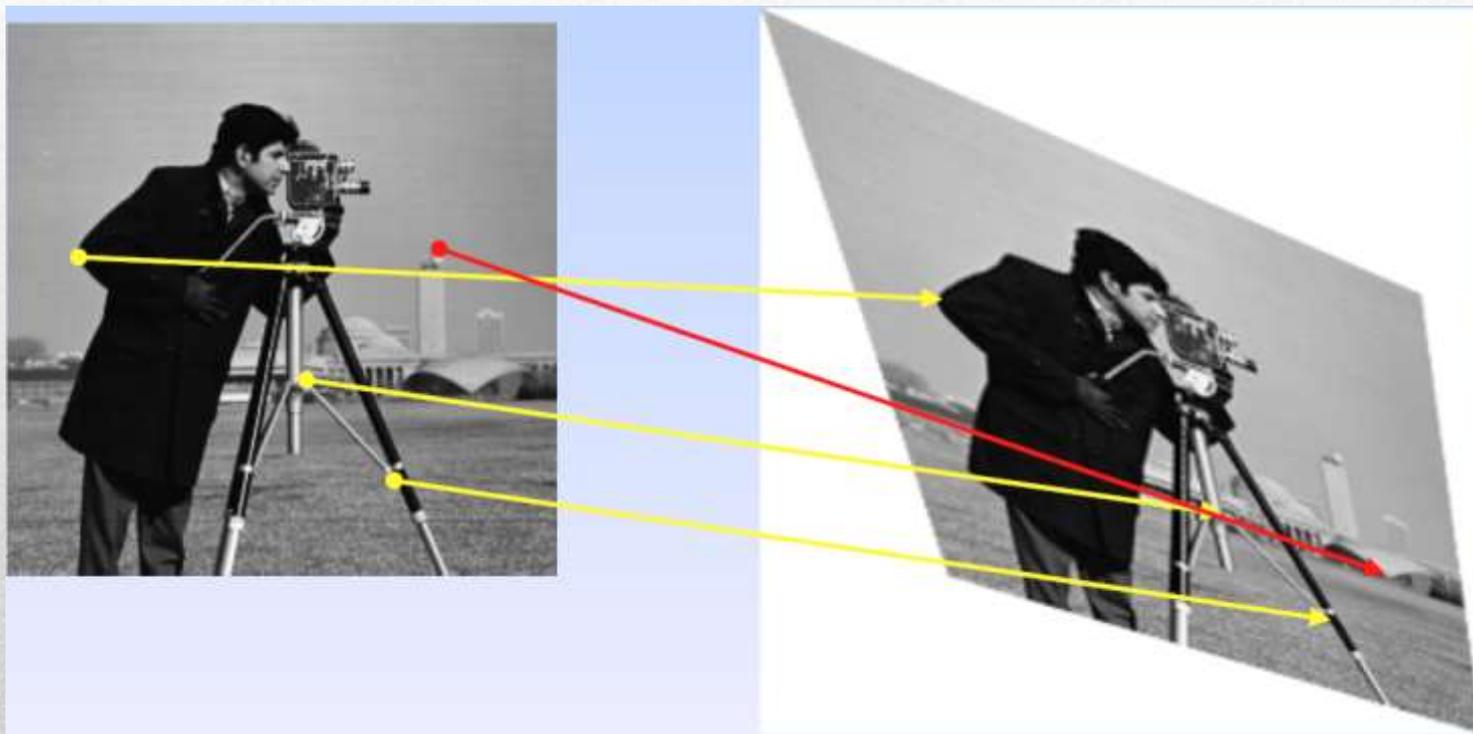
# Descripteurs des éléments d'intérêt

*D'après M. Bergougnioux*

L'extraction des éléments d'intérêt implique de calculer un descripteur, typiquement sur des régions centrées autour des points détectés. Les descripteurs transforment le voisinage d'un pixel en un vecteur de représentation, en utilisant des techniques de traitement d'image. Cette représentation permet de comparer les voisinages lors des changements d'échelle ou d'orientation. Les descripteurs SIFT ou SURF, reposent sur des calculs de gradients locaux. Les descripteurs binaires comme BRISK ou FREAK, sont basés sur des paires d'intensité locale différentes encodées dans un vecteur binaire. On peut mixer ou apparier détecteurs et descripteurs selon les besoins de l'application.

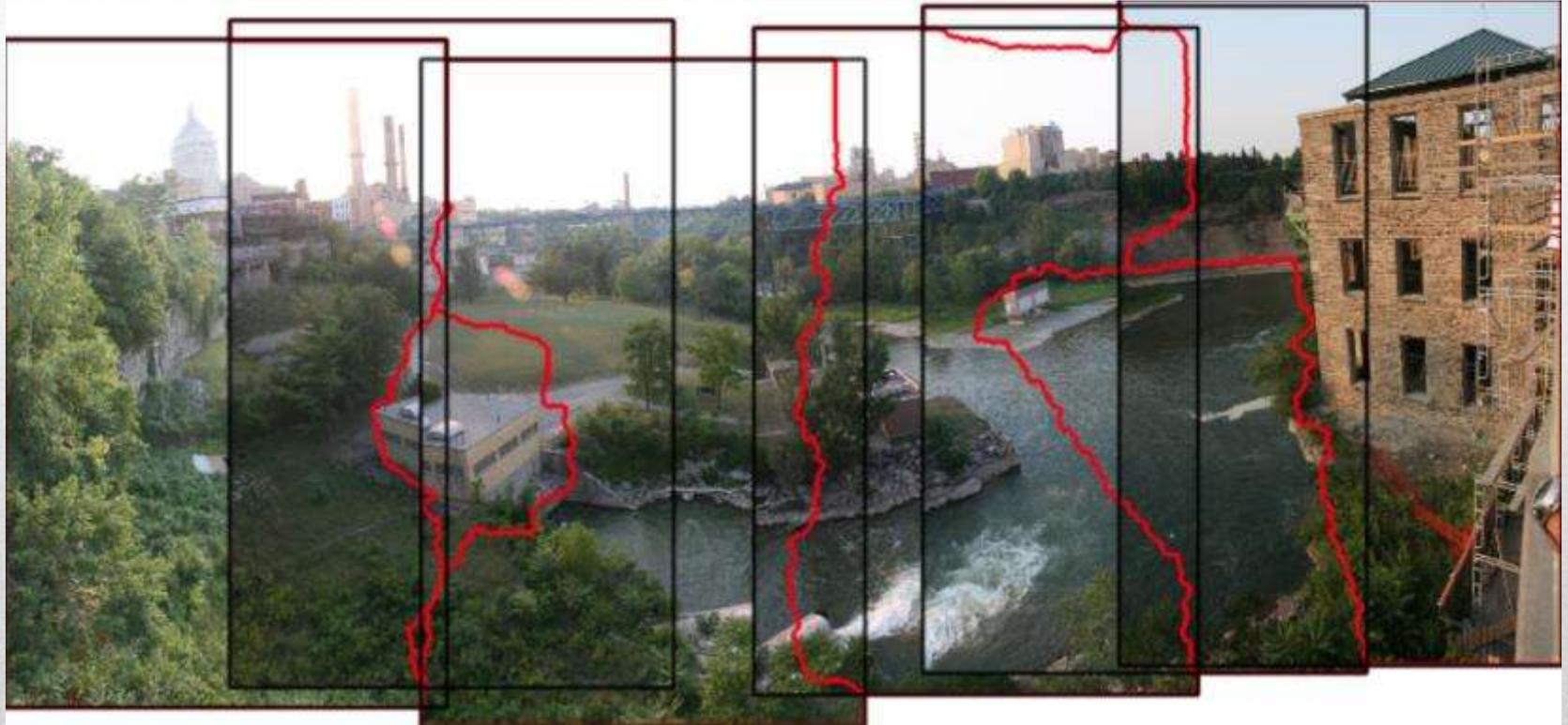
Descriptor	Binary	Function and Method	Invariance		Typical Use	
			Scale	Rotation	Finding Point Correspondences	Classification
HOG	No	<code>extractHOGFeatures(I, ...)</code>	No	No	No	Yes
LBP	No	<code>extractLBPFeatures(I, ...)</code>	No	Yes	No	Yes
SURF	No	<code>extractFeatures(I, Method, 'SURF')</code>	Yes	Yes	Yes	Yes
FREAK	Yes	<code>extractFeatures(I, Method, 'FREAK')</code>	Yes	Yes	Yes	No
BRISK	Yes	<code>extractFeatures(I, Method, 'BRISK')</code>	Yes	Yes	Yes	No
<ul style="list-style-type: none"><li>• Block</li><li>• Simple pixel neighborhood around a keypoint</li></ul>	No	<code>extractFeatures(I, Method, 'Block')</code>	No	No	Yes	Yes

# Exemple des coins



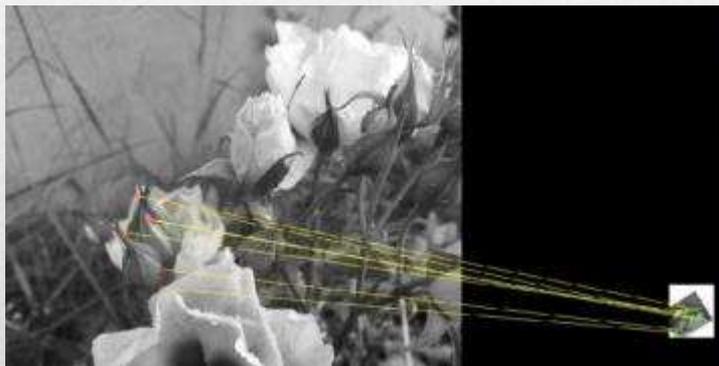
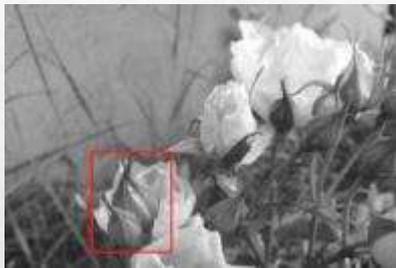
*D'après M. Bergougnoux*

# Exemple du recouvrement de surface



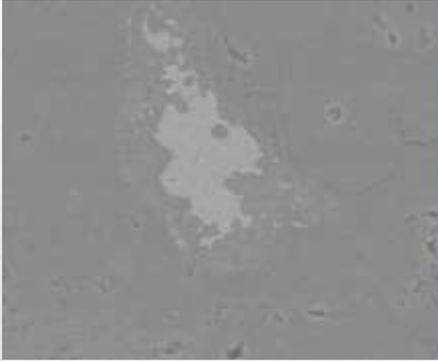
*D'après M. Bergougnioux*

# Exemple

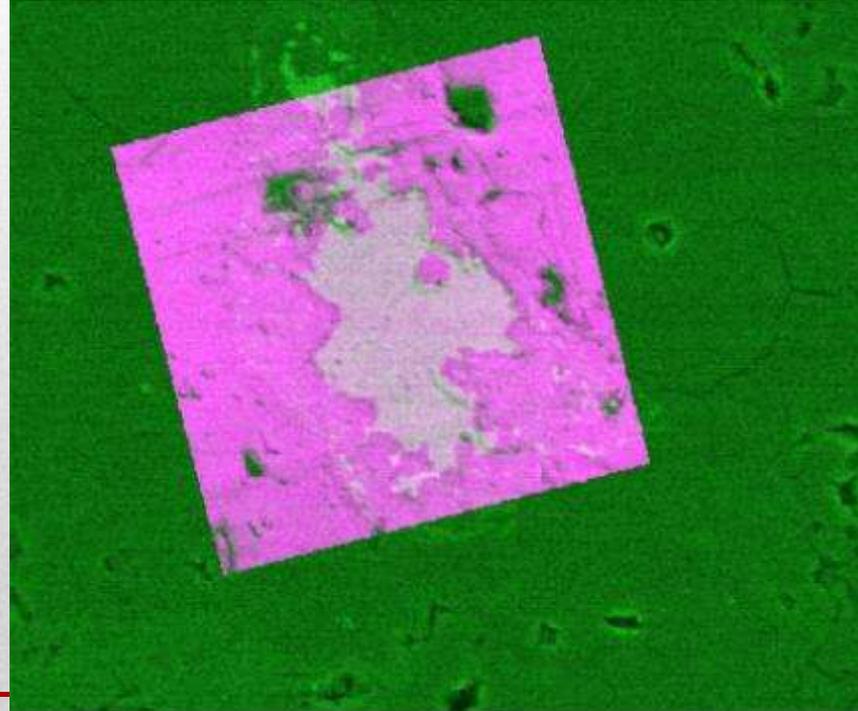
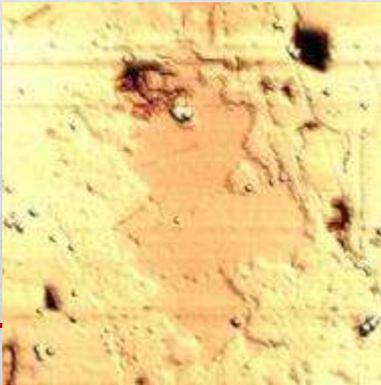


# Retour à l'exobiologie

MEB



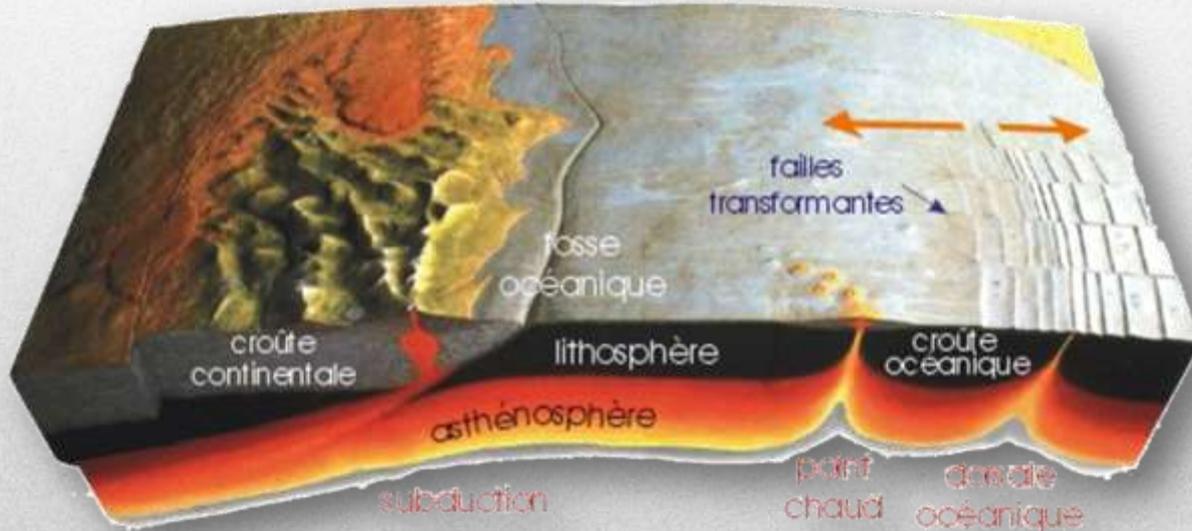
AFM



*D'après M. Bergougnioux*

# Problème

Les traces plus anciennes que 3,5 Ga ont disparu sur Terre du fait de la tectonique des plaques et du métamorphisme.



Solution?



Chercher ailleurs!

An aerial photograph of Mars during sunset. The sun is low on the horizon, creating a bright orange and yellow glow that transitions into a deep blue at the top of the frame. The surface of Mars is visible in the foreground, showing a rugged, cratered terrain. The overall scene is a dramatic and desolate landscape.

# La recherche de vie sur Mars

*L'exploration martienne*

# Mars dans sa jeunesse

Durant le Noachien (-4.5 à -3.5 Ga)

Eau liquide

+

Carbone

+

Nutriments

+

Energie

= La vie a pu apparaitre sur Mars!





# ExoMars 2020

*Calibration scientifique*



# Mars GeoMicroPal



Objectif:  
Développer la même approche sur Mars.

## ANALYTICAL LABORATORY DRAWER

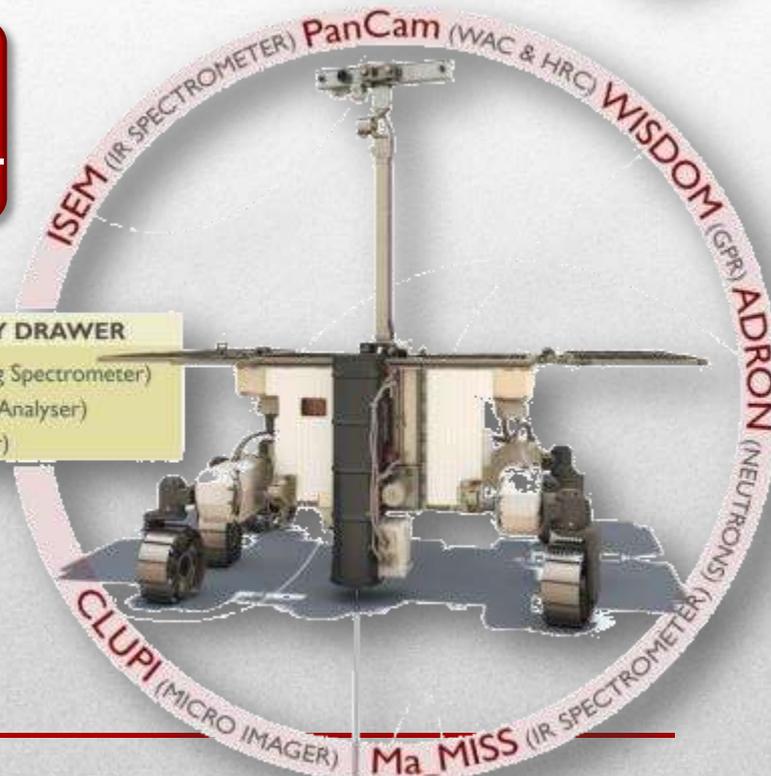
MicrOmega (VIS + IR Imaging Spectrometer)

MOMA (Organic Molecule Analyser)

RLS (Raman Spectrometer)

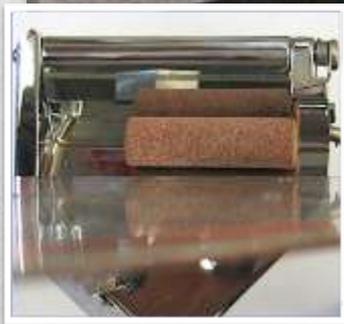
Difficulté: charges utiles limitées

ExoMars = ~16,5 kg d'instruments!



# Instrumentation

La carotteuse

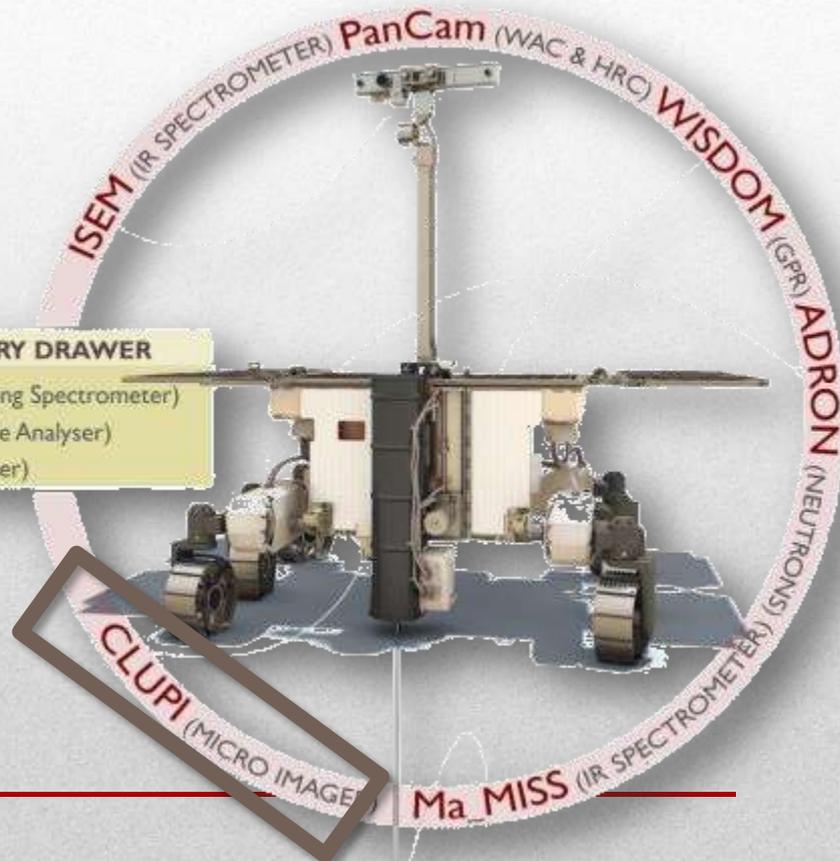


## ANALYTICAL LABORATORY DRAWER

**MicrOmega** (VIS + IR Imaging Spectrometer)

**MOMA** (Organic Molecule Analyser)

**RLS** (Raman Spectrometer)



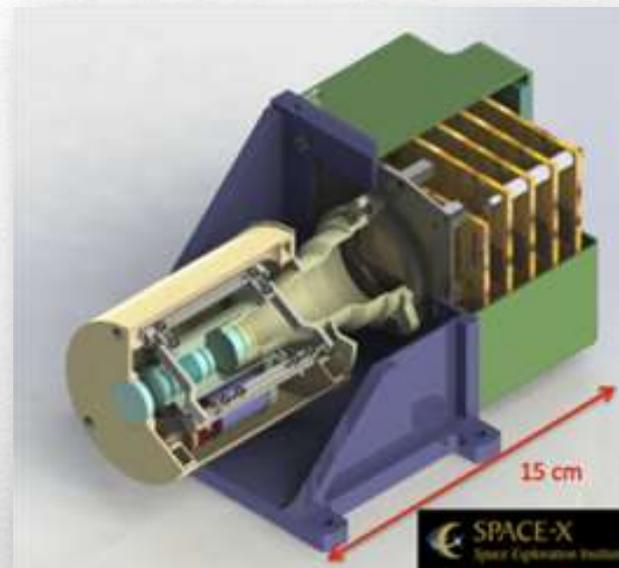
# CLUPI

## *Close Up Imager*

Développement de l'instrument:  
Space-X, Neuchâtel, Suisse.  
PI: Jean-Luc Josset

Calibration scientifique:  
Equipe exobiologie CBM, Orléans,  
Co-PI: Frances Westall  
Financement CNES, projet Mars Geomicropal

Encapsulation du détecteur et calibration:  
LPC2E, Orléans,  
Resp: Philippe Martin



Principales caractéristiques:  
Distance de travail: 10 cm à l'infini.  
Résolution max: 7  $\mu\text{m}/\text{px}$ .  
Capteur Foveon.  
Déplacement magnétique des lentilles.  
Autofocus, binning, stacking.

# Calibration scientifique de CLUPI

Grace à un habile jeu de miroirs, CLUPI pourra voir:

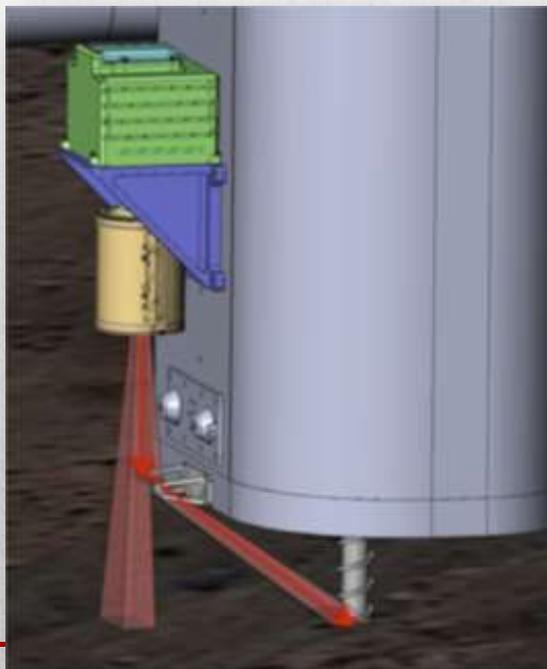
- Les paysages (contexte géologique)
- Les affleurements
- La texture des roches en gros plan
- Les carottes avant broyage



**Objectif: Maximiser les informations, connaître les points forts et les points faibles de l'instrument, identifier les biosignatures détectables et les artefacts possibles.**

# CLUPI lors des forages

Formation d'un cône de poudre durant les forages.



Forage jusqu'à 2 m de profondeur.



Plus de  $1400 \text{ cm}^3$  (= 1,4 L) de roche  
"seulement" analysés par spectroscopie IR  
(Ma\_MISS) et **CLUPI**.



Peut-on obtenir une quelconque information  
sur la composition des roches forées à partir  
de ces observations?

# Sélection de roches représentatives

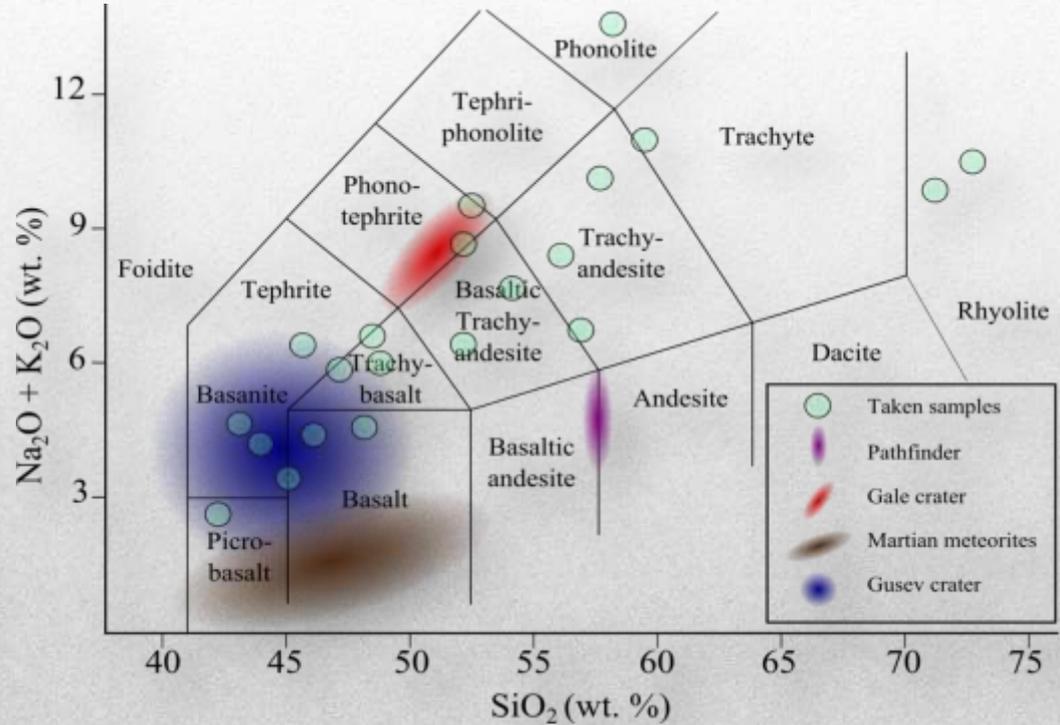
Roches volcaniques



Prélèvement  
dans le Massif  
Central, France



*La Roche Sauterre, Basanite*



# Broyage

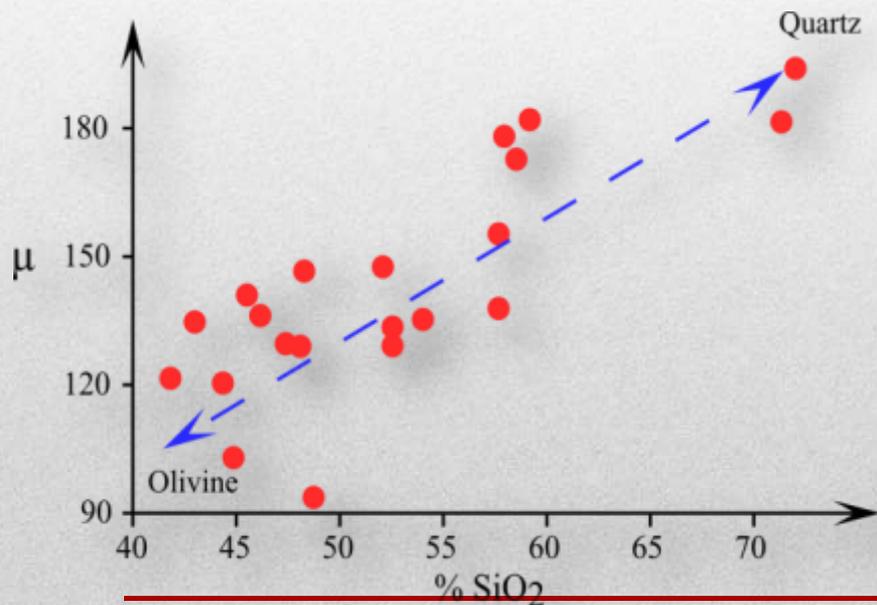
Echantillons en poudres



Même affleurement = même couleur en poudre.  
Affleurements différents = variation de couleur.

# Premiers résultats

Augmentation de la luminance (R+G+B) avec la teneur en silice.



1-Trachy-basalte

2-Obsidienne

3-Rhyolite



# Déjà observé en 1967

JOURNAL OF GEOPHYSICAL RESEARCH

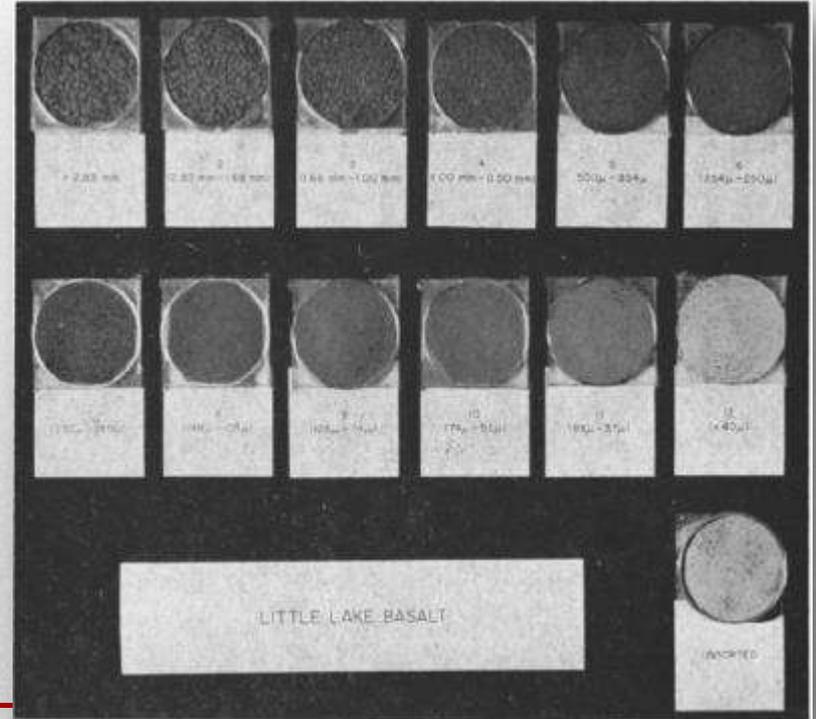
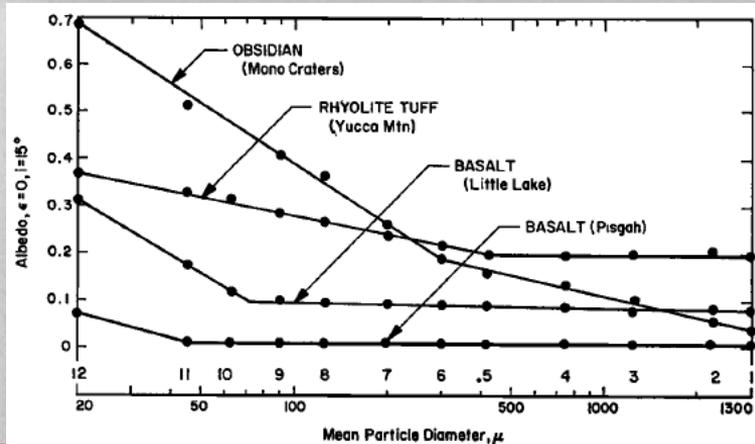
VOL. 72, No. 22

NOVEMBER 15, 1967

## Spectral Reflectance 0.4 to 2.0 Microns of Silicate Rock Powders

JOHN B. ADAMS AND ALAN L. FILICE

Jet Propulsion Laboratory, California Institute of Technology  
Pasadena, California 91103



# La méthode CaliPhoto<sup>©</sup>

Principe: utilisation d'une référence interne permettant de calibrer les images à comparer afin de s'affranchir des conditions d'éclairage.



Image A  
référence



Image B  
avant calibration

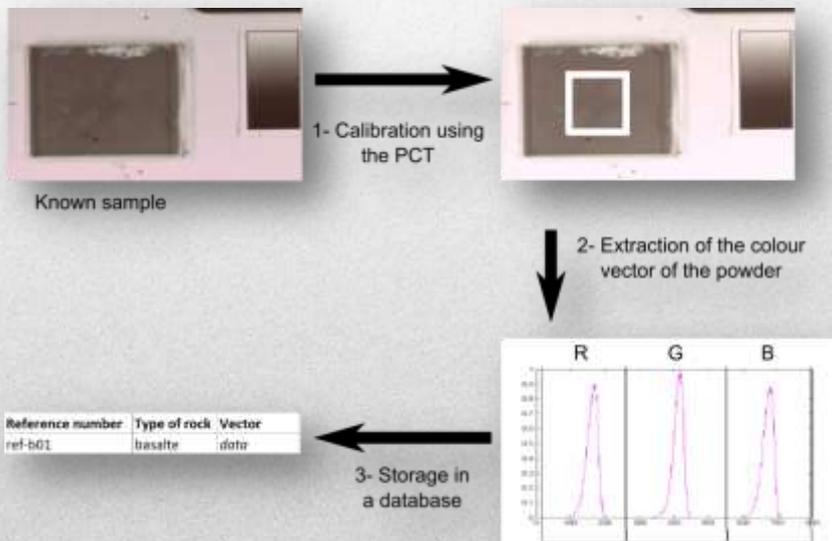


Image B  
après calibration

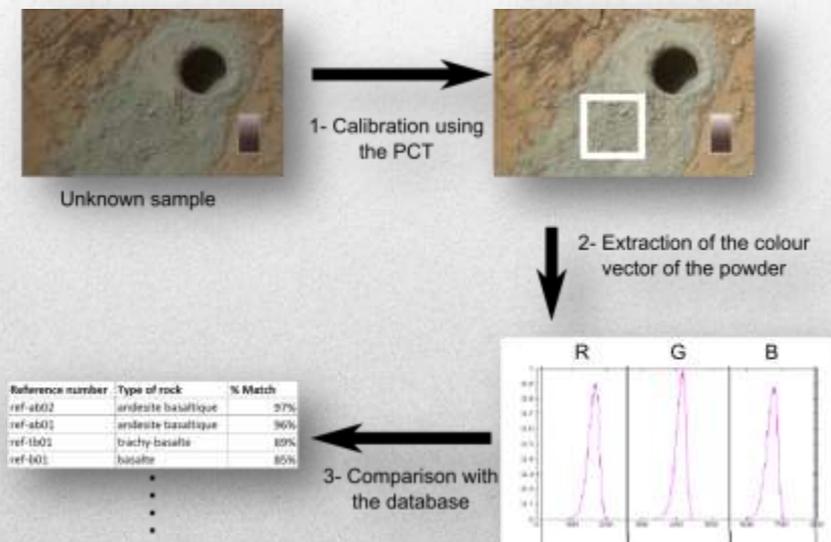


# 2 étapes

## Etape 1: apprentissage



## Etape 2: identification



## Remerciements

L'équipe d'exobiologie du CBM: Frances, Thomas, Keyron et Avinash,

Pour CaliPhoto: Guillaume, Nicolas, Lydie, Aurélie, Etienne, Philippe, Jean-Luc, Antoine, Marie, Audrey, Nicole, Frances, Sylvain, Matthieu et Steven, et la Société d'Accélération de Transfert de Technologie: Laurent, Natacha, Flavien, et Gabriel.

Pour le GT-repo et col.: Isabelle, Astrid, Isabelle, Lorena, Adeline, Sylvain, Anna, Jean-François, David, Maïtine, et Luc.

La Maison du Parc des Volcans d'Auvergne pour l'autorisation de prélèvement  
Le CNES pour le financement.



**Merci**