

LES CAMERAS

Principes

Marc Moreau, Directeur de recherche CNRS

Catherine Leclerc, Chargée de recherche CNRS

Centre de Biologie du Développement, UMR 5547, Université Paul Sabatier, 118 route de Narbonne, 31062 Toulouse CEDEX 09

marc.moreau@univ-tlse3.fr

catherine.leclerc@univ-tlse3.fr

Depuis les 20 dernières années, l'imagerie a subi une révolution avec l'arrivée des capteurs numériques. Les films argentiques utilisés autrefois dans les appareils photos équipant les microscopes n'enregistraient, au maximum, que de deux à trois pour-cent de la lumière qui les atteignaient. Actuellement les caméras classiques utilisées en microscopie captent environ 80% de la lumière. C'est en 1950 que les premières caméras électroniques sont apparues. Elles ont été conçues pour la télévision et utilisaient un tube à vide avec un canon à électrons.

Le CCD (Charge Coupled Device) a été inventé à la fin des années 60 dans les laboratoires Bell, à l'origine pour construire des mémoires d'ordinateurs, en utilisant les propriétés photoélectriques du silicium. En 1973, le *Jet Propulsion Laboratory* (JPL) développe une matrice CCD pour des instruments d'imagerie. Ce n'est que vers 1980 que les caméras CCD ont commencé à se développer pour commencer à remplacer les caméras à tubes.

Le succès du CCD vient des nombreux avantages que possède ce capteur sur l'observation visuelle classique (sensibilité, dynamique, analyse, enregistrement de données...)

1. Le capteur de photons

Tout d'abord comment peut-on détecter un signal lumineux avec le silicium? Les atomes de silicium sont liés entre eux par une liaison de covalence. Les photons de longueur d'onde inférieure à 1000nm possèdent suffisamment d'énergie pour casser cette liaison de covalence, créer un électron-trou et libérer des électrons dont le nombre est fonction de la lumière incidente. Pour stocker ce signal on associe à la première couche de silicium une couche dopée, c'est à dire contenant un certain nombre d'impuretés qui ne possèdent que 3 électrons sur leur couche externe. Ce trou peut donc être occupé par un électron (Fig 1). Cette couche constitue le puits de potentiel. Un élément constitue un photodétecteur ou pixel. La taille du pixel varie de 3 à 20 μm . Le CCD est constitué d'une matrice 2D de photodétecteurs. L'image produite sera monochrome.

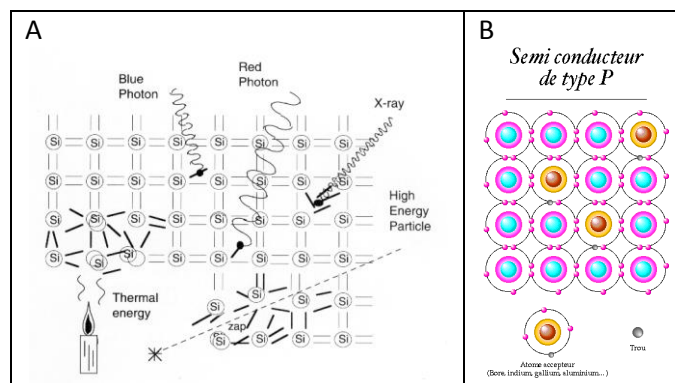


Figure 1 (A) Cristal de silicium et ses liaisons covalentes pouvant être rompues par l'énergie lumineuse. (B) Élément dopé de type P.

2. Lecture

Pour exploiter l'image il faut pouvoir lire le contenu de chaque pixel.

Les matrices CCD sont composées de quatre parties:

- la zone image (zone photosensible)
- la zone de lecture permettant la lecture ligne par ligne de la zone mémoire
- l'étage de sortie assurant l'extraction des charges et leur conversion en tension (registre série)
- Des «horloges» verticales et horizontales pour contrôler le déplacement des charges vers le registre série. Le registre série, est constitué par une rangée de pixels de même longueur que le capteur. Les pixels sont transférés rangée par rangée dans le registre série, puis chaque pixel du registre série est lu et converti en un signal exploitable par un ordinateur.

3. Les différents capteurs (Fig 2)

Il existe trois types de capteurs correspondant à des types de mode de transfert différents.

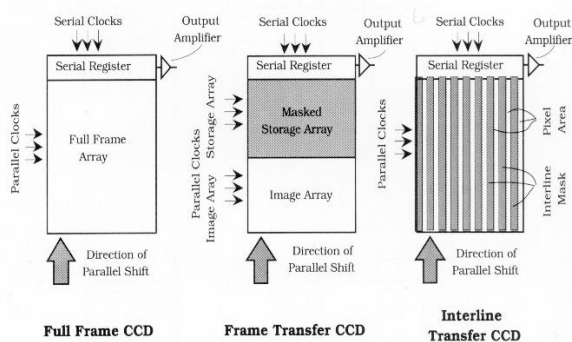


Figure 2 : Les différentes architectures de CCD

- les capteurs **pleine trame** (Full frame)
Ces capteurs nécessitent l'utilisation d'un obturateur coupant la lumière pendant la phase de lecture. Ils offrent la meilleure résolution spatiale car les pixels sont continus.
- les capteurs à **transfert de trame** (Frame transfert)
Ces capteurs sont divisés en deux parties égales, une zone image et une zone mémoire. Ce type de capteur permet de lire les données dans la zone mémoire simultanément à l'exposition de la zone image d'où une fréquence de saisie plus importante que pour les capteurs pleine trame, de plus l'obturateur n'est plus nécessaire.
- Les capteurs à **transfert interligne** (Interline transfert)
La **zone mémoire (ou masque) est en forme de bande** et le transfert de la zone image à la zone mémoire se fait simultanément en moins d' $1\mu s$. La saisie est très rapide et permet de filmer à des cadences de 30 images par seconde voire plus. Pour augmenter le rendement quantique la société Sony a mis au point un système de microlentille devant chaque pixel. Ces micro-lentilles collectent la lumière qui est dirigée sur les régions masquées et la dirigent vers un élément photosensible.

4. Caractéristiques des capteurs CCD

Dynamique du capteur (dynamic range)

La dynamique d'une caméra est définie de la façon suivante :

Dynamique = $FWC (e^-) / \text{bruit de lecture} (e^-)$ Avec FWC : Full-Well Capacity : capacité de remplissage d'un puits. Ce paramètre caractérise la capacité de la caméra à faire l'acquisition d'images contrastées (sur une même image, présence d'élément très lumineux et d'éléments très peu lumineux).

Linéarité

Le nombre d'électrons émis doit être en relation linéaire avec le nombre de photons reçus.

Rendement quantique

Il correspond au nombre d'électrons libérés par rapport au nombre de photons reçus (toujours inférieur à 1). Le rendement quantique est dépendant de la longueur d'onde. La majorité des capteurs CCD sont beaucoup plus sensibles dans le rouge et l'infrarouge que dans le bleu et l'ultra-violet. Le capteur peut être muni d'un filtre pour éliminer les infra-rouges.

5. Les caméras couleur

Les capteurs CCD produisent des images monochromes. C'est James Clark Maxwell, qui, en 1881 montra qu'on pouvait reconstituer par projection une image en couleur à l'aide de filtres, rouge, vert et bleu.

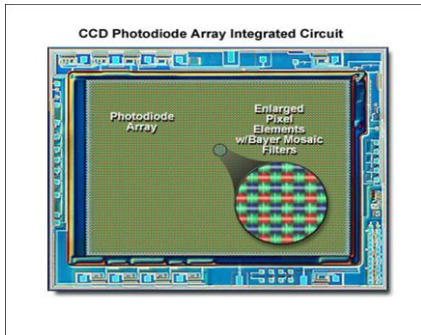


Figure 3 : capteur CCD et filtre de Bayer

La méthode la plus classique pour réaliser des prises de vues en couleur avec un seul capteur CCD consiste à recouvrir les éléments sensibles d'une mosaïque de filtres colorés Rouge/Vert/ Bleu : le filtre de Bayer (fig3). La formation de l'image couleur est effectuée par l'électronique de la caméra. Cette opération est appelée dématricage (*demosaicing*). Une étape suivante d'interpolation utilisant des algorithmes mathématiques plus ou moins élaborés permet alors d'affecter une valeur RVB à chaque pixel en prenant en compte la sensibilité de l'œil aux différentes couleurs

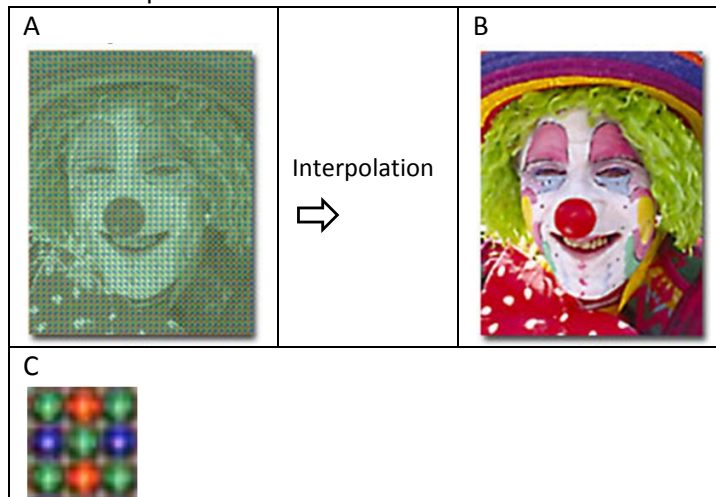


Figure 3 : (A) capture de l'image sur le CCD équipé d'un filtre de Bayer. (B) Image obtenue par interpolation. (C) Arrangement des filtres sur le CCD. Le vert est sur-représenté par rapport au rouge et au bleu.

Le nombre de photosites sensibles au vert est deux fois plus élevé que ceux sensibles au bleu ou au rouge, ce qui correspond à la sensibilité de l'œil (59 % de vert, 30 % de rouge et 11 % de bleu) (fig.4) L'inconvénient de ce procédé réside dans le fait que la lumière qui tombe sur chaque pixel est très faible. Ces caméras sont peu sensibles.

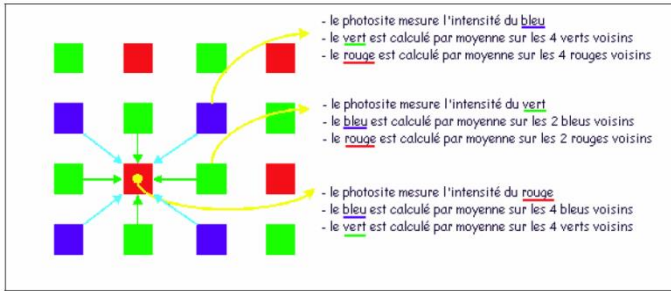


Figure 4 : principe d'interpolation des couleurs

Dans le matériel professionnel haut de gamme on peut utiliser un CCD classique et faire passer successivement 3 filtres devant le CCD (roue à filtres). Le rendement est meilleur, les images de meilleure qualité, mais les prises de vues sont plus lentes et la roue de filtres peut introduire des vibrations.

L'autre alternative consiste à l'aide de prismes et de filtres à séparer les composantes RVB et de les envoyer sur 3 CCD.

6. Capteurs CMOS

Un autre type de capteurs a fait des progrès considérables dans les 5 dernières années : le CMOS (Complementary metal oxide semiconductor) ou « active pixel sensor » (APS). La principale différence entre ces deux techniques réside dans la façon d'exploiter les charges collectées dans les puits de potentiel. Pour un capteur CCD, les charges sont transférées dans un registre série, puis vers un amplificateur de sortie (unique). En revanche, pour un capteur CMOS, la conversion est réalisée directement au niveau du pixel. Chaque pixel dispose donc d'un convertisseur mais également d'un grand nombre de fonction de traitement, contrôle, timing, exposition, convertisseur analogique, balance des blancs, gain...(fig5)

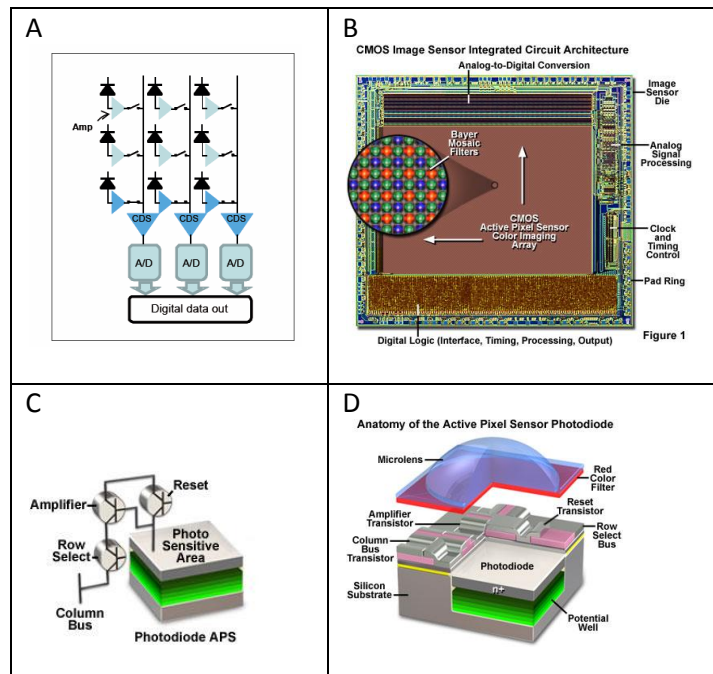


Figure 5 : architecture des CMOS (A) Principe de lecture (B) Capteur CMOS et son filtre Bayer. (C) Principe de fonctionnement du CMOS. (D) Architecture du CMOS, seuls 30% de la surface correspondent à la surface active, le reste correspond à l'encombrement dû à l'électronique.

Ces capteurs possèdent des propriétés intéressantes (consommation d'énergie réduite, vitesse de lecture plus rapide, fonctions intégrées...) mais chaque pixel contient une électronique qui réduit la zone photosensible du pixel et donc le rendement quantique (voir paragraphe suivant). Dans un avenir proche certainement que ces capteurs pourront rivaliser avec les meilleures caméras CCDs.

7. Augmenter la sensibilité

Souvent les quantités de lumière sont exprimées en lux. C'est une unité difficile à manier, mais 1 lux est l'équivalent de la lumière émise par une bougie à 1 mètre. Une caméra avec une sensibilité de $4 \cdot 10^{-4}$ lux, peut donc théoriquement détecter la lumière d'une bougie placée à 40 km.

Nous avons vu que le CCD est sensible, mais souvent pas encore assez pour mesurer des signaux faibles (comptage de photons, astronomie...).

Il existe plusieurs techniques pour augmenter la sensibilité

- La modification du rendement quantique (QE) du CCD
- L'intensification
- La caméra EMCCD

Modification du rendement quantique (QE) du CCD

Les capteurs Full-frame et frame transfert peuvent être illuminés par l'avant ou par l'arrière. il est possible de réaliser un CCD suffisamment fin (de l'ordre de quelques μm) et réaliser la mise au point sur la face arrière du CCD. De cette manière, il est possible d'améliorer considérablement le rendement quantique. (fig6)

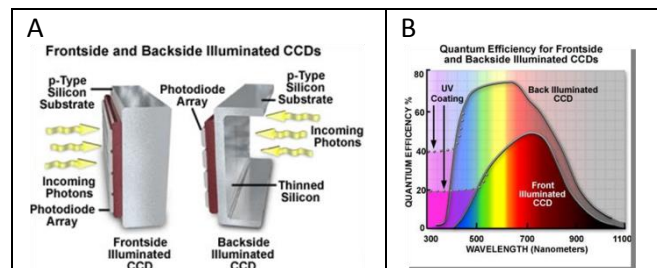


Figure 6 : les CCD back illuminated (A) architecture du CCD (B) comparaison des rendements quantiques des CCD classiques et back-illuminated

L'intensificateur (fig 7)

Cet appareillage repose sur le principe du photomultiplicateur (PMT). Les photons viennent frapper une photocathode et les photon-électrons sont recueillis par un ensemble de microcanaux qui se comportent comme un PMT. Les tubes sont inclinés pour permettre l'émission secondaire. Les électrons viennent ensuite bombarder un écran de phosphore analogue à celui des tubes de télévision. Une caméra CCD classique filme l'écran. Le gain est compris entre 10^3 et 10^4 et on peut associer plusieurs étages de MCP.

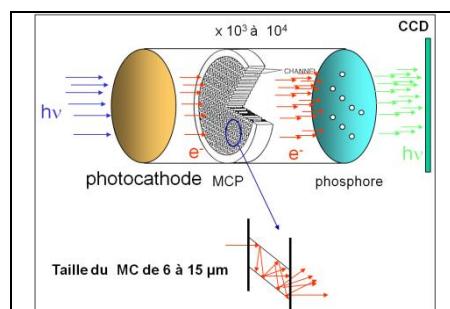


Figure 7 : principe de l'intensificateur

Le couplage de l'intensificateur avec le CCD se fait de 2 manières : par fibres optiques ou par lentille. Dans le premier cas on perd peu de lumière, mais attention aux erreurs d'adressage des fibres. Dans le second cas l'image est bien adressée, mais il y a perte de lumière.

EMCCD

Les EMCCD (CCD à multiplication d'électron) sont des caméras CCD auxquelles on a ajouté un étage à multiplication d'électrons entre le registre série et l'amplificateur de sortie. Nous appellerons cette structure le registre de gain. A ce niveau, un champ électrique important délivré au moment du transfert d'électrons va produire une ionisation et générer de nouveaux électrons. La probabilité de multiplication est relativement faible mais en répétant cette opération un grand nombre de fois peut conduire à un gain de 100.

8. Caméra vidéo/image vidéo

Ce standard a été développé pour la télévision. Un flux vidéo est composé d'une succession d'images qui défilent à un rythme fixe (par exemple 25 par seconde dans la norme Française). Chaque image est décomposée en lignes horizontales, chaque ligne étant une succession de points.

L'image se constitue en 2 temps Un premier balayage affiche toutes les lignes impaires en deux fois moins de temps que pour une image entière et un second balayage affiche les lignes paires : c'est ce que l'on appelle l'entrelacement. (fig.8)

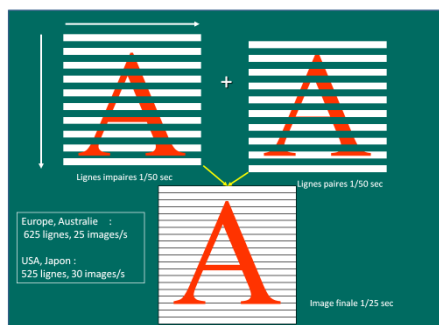


Figure 8 : Principe de la formation de l'image vidéo

Inconvénients

Les deux prises de vues sont distantes dans le temps (d'une moitié d'image). Et même si ces deux prises de vue sont complémentaires d'un point de vue spatial ces deux prises de vue n'affichent pas le même contenu ! Si un sujet se déplace dans le champ, il aura une position différente sur chacune des deux trames (fig9)

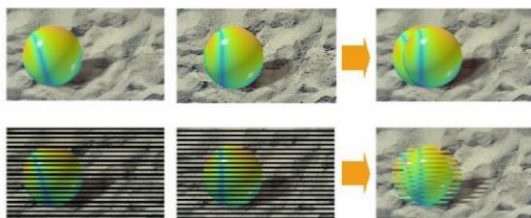


Figure 9 : artéfacts produits sur un enregistrement vidéo lorsque le sujet se déplace rapidement

Ces caméras ne sont pas à bas niveau de lumière car elles ont un faible rendement quantique (10 à 20%)

9. Le choix d'une caméra

Certains critères sont incontournables pour choisir une caméra pour une application donnée.

Le logiciel

Le logiciel est important, se méfier des caméras qui ne peuvent être pilotées que par un seul logiciel. Être attentif au format des images (tif, jpeg etc...), se méfier des formats constructeur, car souvent l'image sera sans doute retraitée sous un logiciel courant (Photoshop, Image J, etc...).

La résolution spatiale

La résolution d'une image en microscopie est fonction de la résolution du système optique. L'image enregistrée doit donc garder la résolution du microscope. Le CCD est une matrice de photodétecteurs de taille fixe. La géométrie du pixel a donc une influence sur la résolution de l'image. Le détecteur doit satisfaire au critère d'échantillonnage de Nyquist : le disque de Airy doit être recouvert par 2.5 à 3 pixels. Par exemple pour obtenir la meilleure résolution avec un objectif 60X et d'ouverture numérique 1.4 la taille du pixel ne devra pas dépasser 6 μm .

La résolution temporelle

La fréquence de lecture (Readout Rate) correspond à l'inverse du temps nécessaire pour réaliser la digitalisation d'un pixel. Ce paramètre est donné en pixels/seconde ou en MHz.

L'augmentation du nombre de pixel va augmenter la résolution mais aussi augmenter le temps de lecture de cette image et donc réduire la fréquence d'échantillonnage en time lapse. Les paramètres résolution et vitesse sont donc à prendre en considération simultanément lors du choix d'un capteur CCD.

Amélioration de la vitesse de lecture

Subarray Readout :

On peut améliorer la vitesse de lecture en lisant moins de pixels. Dans de nombreux cas, la totalité de l'image n'est pas nécessaire pour l'acquisition envisagée, on peut isoler une partie de l'image. Cette technique permet alors de réduire considérablement le temps de transfert de l'image, ainsi que sa taille.

CCD Binning :

Réaliser un binning consiste à regrouper des pixels adjacents (2x2, 3x3, 4x4...) pendant la phase de transfert. Cette opération est réalisée avant la phase de numérisation de l'image. Le principal avantage de cette technique est de réduire le rapport Signal/Bruit, en revanche, la résolution spatiale est réduite. (fig10)

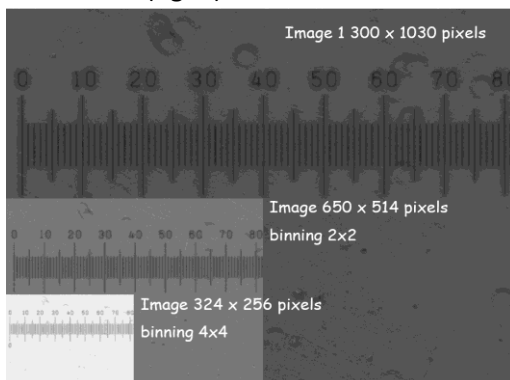


Figure 10 : Comparaison d'images obtenues avec et sans binning. On peut remarquer la diminution du bruit de fond et la perte de résolution pour le binning 4x4.

Le rapport signal bruit

Bruit photonique:

Le bruit photonique (photon noise ou encore photon shot noise) est une propriété fondamentale de la nature quantique de la lumière. Il résulte des variations statistiques du nombre de photons incidents. L'intervalle entre chaque photon incident est régi par une loi de distribution de poisson. Le bruit photonique est égal à la racine carrée du signal incident. Ce bruit n'est pas dépendant de la caméra, et ne peut pas être réduit par un nouveau design.

Dark noise

Le Dark Noise (bruit d'obscurité) est issu des électrons générés par effet thermique au sein de la structure silicium du CDD. Ce phénomène est indépendant du flux de photons incidents. Ce bruit est réduit par refroidissement du CCD

Read noise

Le Read Noise (ou bruit de lecture) est le bruit généré par l'électronique de la caméra permettant de convertir les charges en valeur numérique. Le principal composant électronique générateur de bruit est le préamplificateur de sortie situé sur le capteur. Ce bruit peut être réduit avec des composants électroniques de précision ou des systèmes de conversion et d'amplification innovants.

Mesure du bruit

Le rapport Signal/Bruit (S/N) peut être aussi exprimé en décibels. La conversion est la suivante : $(S/N)_{db} = 20 \log (S/N)$

Pour exprimer le rapport S/N en bits, il faut diviser le rapport S/N en décibels par 6 (1 bit est équivalent à 6 db) $(S/N)_{bits} = (S/N)_{db} / 6$

10. Dynamique de l'image

La notion de dynamique a un intérêt important dans le choix de la caméra afin d'obtenir le meilleur rendu de l'image. L'image numérique est digitalisée, c'est-à-dire que les niveaux de gris sont lus par paquets, donc la caméra va réaliser des classes de gris. L'ordinateur ne représentera pas des valeurs fondues. La dynamique est définie en bits. Si $n = nb$ de bits, le nombre de niveaux de gris sera 2^n . Par exemple 8 bits = 256 niveaux. Actuellement on trouve des caméras à 2^{12} bits soit 4096 niveaux.

Attention : si les caméras font 12 bits, bien souvent les logiciels fournis par certains constructeurs traitent les images sur 8 bits, il faut vérifier l'adéquation.

11. LUT

L'œil est sensible à une trentaine de niveau de gris. Une caméra simple en propose au moins 256. L'œil ne distinguera donc pas les différentes subtilités fournies par la caméra. Pour les mesures biologiques, lorsque la caméra est utilisée en appareil de quantification, en particulier en fluorescence, le CCD est N et B. Pour distinguer les niveaux de gris on peut coder les paquets de gris par des couleurs arbitraires. On applique ce qu'on appelle une LUT (look up table). En général les faibles signaux sont codés en bleu et les plus forts en rouge ou blanc, c'est l'échelle thermique. Cette représentation ne permet pas de faire des analyses morphologiques, mais les calculs sont faits sur les valeurs réelle, la LUT n'est qu'un confort de visualisation.

Conclusion

Les capteurs sont de plus en plus performants et les prix croissent avec les performances. Il n'existe pas aujourd'hui de capteur capable de répondre à toutes les applications et l'utilisateur est souvent contraint de trouver un compromis et d'optimiser son choix.