



Université Claude Bernard



# DIPLÔME NATIONAL DE DOCTORAT

(Arrêté du 25 mai 2016)

Date de la soutenance : **12 octobre 2022**

Nom de famille et prénom de l'auteur : **Monsieur CROMBEZ Sébastien**

Titre de la thèse : « *Microscopie computationnelle hyperspectrale par feuillet de lumière structurée et réseaux de neurones convolutionnels profonds* »

## Résumé



Mots-clefs : *imagerie hyperspectrale, microscopie à fluorescence, imagerie computationnelle, illumination structurée, spectroscopie d'Hadamard, reconstruction d'images, sous-échantillonnage, apprentissage profond.*

La microscopie en fluorescence est un puissant outil de l'étude du vivant qui permet d'étudier des objets de taille microscopique : du petit organisme vivant (1 à 10 millimètres) à la cellule (10 à 100 micromètres). L'avantage principal de ce type de microscopie est qu'il permet d'obtenir des images à fort contraste en fond sombre avec un ciblage différencié des structures d'intérêt grâce à l'utilisation de fluorochromes.

Aujourd'hui, il existe de nombreux types de microscopes qui ont été développés afin d'augmenter le type de données mesurables et la résolution de celle-ci (super-résolution, microscopie volumique, marquage intrinsèque...).

Dans le cadre de cette thèse, nous avons développé un microscope à feuillet de lumière hyperspectral. Ce type d'instrument permet de mesurer un cube de données hyperspectrales qui correspond aux spectres de la fluorescence émise par un échantillon en tout point de celui-ci. Or, on ne dispose pas de capteur quadridimensionnel à haute résolution pour mesurer les quatre dimensions du cube de données hyperspectrales (trois dimensions spatiales et une dimension spectrale). Néanmoins on peut faire l'acquisition du cube hyperspectral par balayage des dimensions, mais cela se fera au prix d'un compromis entre temps d'acquisition et résolution spatiale et spectrale.

Afin d'optimiser ce compromis, nous avons choisi de faire de la spectroscopie d'Hadamard, de sorte à maximiser le rapport signal à bruit. Nous avons aussi choisi de sous-échantillonner les mesures pour réduire les temps d'acquisition. Or les mesures obtenues par spectroscopie d'Hadamard nécessitent d'être reconstruites et le sous-échantillonnage induit une perte en résolution. Nous avons donc intégré du "Physics-informed deep learning" à nos algorithmes de reconstruction pour améliorer la qualité des images.

Durant ma thèse, j'ai développé deux montages expérimentaux basés sur le concept d'acquisition computationnelle par illumination structurée qui permet de faire de la spectroscopie d'Hadamard. Le premier montage nous a permis de valider ce concept et ainsi de produire le premier microscope computationnel hyperspectral par feuillet de lumière. Néanmoins, ce montage présente une résolution spatiale limitée. C'est pourquoi j'ai mis au point un second montage basé sur une autre méthode de génération du feuillet de

lumière structurée, j'ai également ajouté dans les algorithmes de reconstruction d'images une architecture de réseaux de neurones convolutionnelle. Grâce à cette approche, nous avons amélioré la résolution spatiale de notre système d'acquisition. De plus, la dernière version du montage expérimental permet de structurer le faisceau d'illumination selon une dimension supplémentaire. Ce qui permettrait de réduire les temps d'acquisition selon une dimension supplémentaire.

Dans des travaux ultérieurs, il serait intéressant d'orienter les développements en vue d'une application à un type d'organisme précis ou une problématique biologique. Pour ce faire, sur la base de ces travaux un travail sur la puissance et la structuration de l'illumination serait nécessaire. Il serait aussi pertinent de poursuivre le développement des algorithmes de reconstruction afin d'améliorer la qualité des reconstructions.