(12) DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIÉE EN VERTU DU TRAITÉ DE COOPÉRATION EN MATIÈRE DE BREVETS (PCT)

(19) Organisation Mondiale de la Propriété Intellectuelle
Bureau international

(43) Date de la publication internationale
10 juin 2021 (10.06.2021)

WIPO | PCT

(10) Numéro de publication internationale
WO 2021/110595 A1

(51) Classification internationale des brevets :
G02B 21/00 (2006.01) *G01B 9/02* (2006.01)
G02B 21/36 (2006.01) *G01B 9/04* (2006.01)
G01N 21/45 (2006.01)

(21) Numéro de la demande internationale :
PCT/EP2020/083951

(22) Date de dépôt international :
30 novembre 2020 (30.11.2020)

(25) Langue de dépôt : français

(26) Langue de publication : français

(30) Données relatives à la priorité :
FR1913670 03 décembre 2019 (03.12.2019) FR

(71) Déposant : **DAMAE MEDICAL** [FR/FR] ; 14 Rue Sthrau, 75013 Paris (FR).

(72) Inventeur : **OGIEN, Jonas** ; 58 rue de L'Amiral Mouchez, 75014 Paris (FR).

(74) Mandataire : **OSHA LIANG** ; 2, rue de la Paix, 75002 PARIS (FR).

(81) États désignés *(sauf indication contraire, pour tout titre de protection nationale disponible)* : AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, IT, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA,

(54) **Title:** DEVICES AND METHODS FOR LINE-SCANNING MICROSCOPY

(54) **Titre :** DISPOSITIFS ET PROCÉDÉS DE MICROSCOPIE À BALAYAGE LINÉAIRE

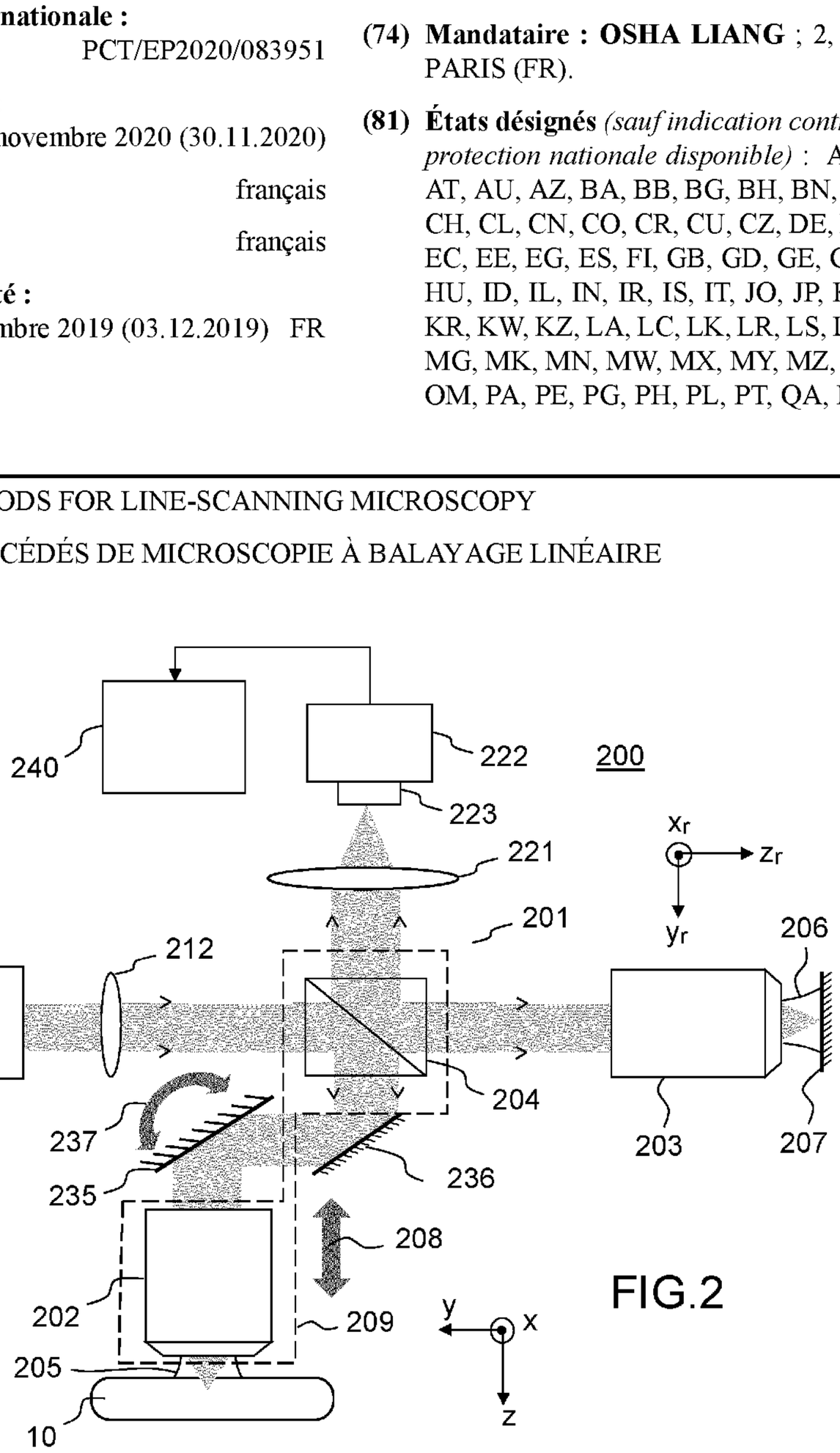


FIG.2

(57) **Abstract:** The present description relates to a device (200) for line-scanning optical-coherence-tomography microscopy. The device comprises an interferometric microscope (201) comprising a reference arm, an object arm configured to receive an object (10), a beam splitter (204) coupling said object and reference arms to a light source (210) and to a detector (222), and a first microscope objective (202) arranged on said object arm. The device further comprises a one-dimensional confocal spatial filtering device configured to interact with the light source in order to illuminate the object along a focal line located in an object space of the first microscope objective, and a device (235, 237) for scanning the focal line in one direction, which device is arranged on the object arm upstream of the first microscope objective and configured to scan the focal line in a lateral direction (y) substantially perpendicular to an optical

[Suite sur la page suivante]

WO 2021/110595 A1

SC, SD, SE, SG, SK, SL, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, WS, ZA, ZM, ZW.

(84) États désignés *(sauf indication contraire, pour tout titre de protection régionale disponible)* : ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), eurasien (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), européen (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Publiée:

— *avec rapport de recherche internationale (Art. 21(3))*

axis (z) of said first microscope objective.

(57) Abrégé : La présente description a pour objet un dispositif (200) de microscopie tomographique par cohérence optique à balayage linéaire. Il comprend un microscope interférométrique (201) comprenant un bras de référence, un bras objet configuré pour recevoir un objet (10), un séparateur de faisceaux (204) couplant lesdits bras objet et de référence à une source de lumière (210) et à un détecteur (222), et un premier objectif de microscope (202) agencé sur ledit bras objet. Il comprend en outre un dispositif de filtrage spatial confocal unidimensionnel configuré pour coopérer avec ladite source de lumière pour éclairer ledit objet selon une ligne de focalisation située dans un espace objet du premier objectif de microscope, et un dispositif de balayage unidirectionnel (235, 237) de ladite ligne de focalisation, agencé sur ledit bras objet en amont dudit premier objectif de microscope, et configuré pour un balayage de la ligne de focalisation selon une direction latérale (y) sensiblement perpendiculaire à un axe optique (z) dudit premier objectif de microscope.

Dispositifs et procédés de microscopie à balayage linéaire

Domaine technique de l'invention

La présente description concerne des dispositifs et procédés de microscopie à balayage linéaire. Plus précisément, les dispositifs et procédés sont basés sur la microscopie tomographique par cohérence optique à balayage linéaire.

Etat de la technique

La tomographie par cohérence optique ou OCT (abréviation de l'expression anglo-saxonne « *Optical Coherence Tomography* ») repose sur l'utilisation d'un interféromètre à faible cohérence.

Cette technique d'imagerie, décrite par exemple dans D. Huang et al. [Réf.1] permet de réaliser des images en coupe de tissus, avec une résolution axiale de quelques microns.

Plus précisément, on connait notamment des techniques d'OCT à balayage.

Dans une version de l'OCT dans le domaine temporel (ou « Time Domain OCT »), telle que décrite dans [Réf. 1], un faisceau de lumière blanche est divisé en deux parties, l'une focalisée sur le tissu à étudier et l'autre sur un miroir de référence. La lumière réfléchie (rétrodiffusée) par l'objet observé est combinée avec celle réfléchie par le miroir de référence et détectée par un photodétecteur. Une interférence se produit seulement lorsque la différence de chemin optique est tout au plus de l'ordre de la longueur de cohérence du rayonnement ; en modifiant la longueur optique du bras de référence de l'interféromètre on accède à des profondeurs différentes dans l'objet. Une image à 2 voire 3 dimensions peut être construite grâce à l'interférométrie (qui permet l'acquisition selon la dimension axiale, c'est-à-dire la profondeur) et au balayage (qui permet l'acquisition selon une ou deux dimensions latérales). Dans l'OCT à balayage dans le domaine fréquentiel (ou « Frequency Domain OCT »), le bras de référence a une longueur optique fixe et le signal interférométrique est analysé spectralement. Voir à ce propos l'article de A. F. Fercher *et al.* [Réf. 2]. En pratique, l'OCT à balayage permet difficilement d'obtenir des résolutions latérales meilleures qu'environ quelques micromètres.

Dans le but notamment d'améliorer la résolution latérale, l'article de J. A. Izatt *et al.* [Réf. 3] décrit une technique améliorée combinant la tomographie par cohérence optique et la microscopie confocale. La microscopie confocale permet de réduire sensiblement le

nombre de photons rétrodiffusés par des zones de l'échantillon situées en dehors du volume de cohérence et perçus par le capteur, ce qui permet d'augmenter le rapport signal sur bruit.

Plus récemment, l'article de Y. Chen *et al.* [Réf. 4] a proposé un dispositif LS-OCM de microscopie tomographique par cohérence optique à balayage linéaire. Un tel dispositif est représenté sur la Fig. 1.

Le dispositif LS-OCM 100 illustré sur la Fig. 1 comprend un microscope interférométrique 101 de type Linnik avec deux objectifs de microscope 102, 103 respectivement dans les bras objet et bras de référence de l'interféromètre, lesdits bras objet et de référence étant séparés par un cube séparateur de faisceaux 104. Le dispositif 100 comprend en outre une source laser 110, dans cet exemple une source laser femtoseconde émettant des impulsions de large bande spectrale (80 nm). Un éclairage linéaire de l'échantillon 10 est obtenu avec un arrangement d'une lentille cylindrique 111 et de lentilles sphériques 112, 113. La puissance optique dans le bras de référence est contrôlée par un filtre de densité neutre 105 et une lame de verre 106 est agencée dans le bras objet pour compenser la dispersion. La lumière provenant des bras objet et de référence est recombinée par le cube séparateur de faisceaux 104 et projetée au moyen d'une lentille 121 sur une caméra linéaire 122, permettant d'obtenir un signal interférométrique. Le signal interférométrique est modulé en actionnant de manière sinusoïdale un miroir de référence 107 agencé dans un plan focal de l'objectif de microscope 103 du bras de référence, au moyen d'un transducteur piézoélectrique 108, et une image d'une ligne de l'échantillon est reconstruite à partir d'une combinaison de quatre signaux d'interférence résultant de la modulation.

Le dispositif de microscopie décrit sur la Fig. 1 présente une configuration de filtrage confocal linéaire ou unidimensionnel (dans une direction) ; en effet, la ligne d'éclairage est conjuguée optiquement avec un détecteur linéaire dont la surface de détection présente une largeur sensiblement identique à une largeur de l'image de la ligne, résultant en un filtrage spatial d'une région de l'objet à observer.

Ainsi, le dispositif de microscopie décrit sur la Fig. 1 présente des avantages liés au filtrage confocal mais permet de gagner en vitesse d'acquisition par rapport à la microscopie tomographique par cohérence optique à balayage décrit dans [Réf. 3] du fait de l'acquisition parallèle sur une ligne.

Par ailleurs, dans la [Réf. 4], des images *en face* de l'échantillon peuvent également être générées en balayant l'échantillon 10 selon une direction perpendiculaire à la ligne d'éclairage, au moyen d'une platine de translation 109.

Bien que permettant la formation d'images *en face* de l'échantillon avec une résolution axiale, c'est-à-dire dans la direction de l'axe optique de l'objectif de microscope 102, d'environ 3 µm, et une résolution latérale, c'est-à-dire dans une direction contenue dans un plan perpendiculaire à l'axe optique de l'objectif de microscope, d'environ 2 µm, le dispositif décrit dans [Réf. 4] n'est cependant pas adapté à la microscopie d'échantillons *in vivo*, l'échantillon devant être déplacé pour la réalisation d'images *en face*. Par ailleurs, s'ils étaient envisagés, des mécanismes de balayage des faisceaux d'illumination et de détection entraîneraient un surcroît d'encombrement du dispositif que l'on cherche à éviter en vue d'une industrialisation.

La présente description propose des dispositifs et procédés de microscopie tomographique par cohérence optique à balayage linéaire permettant de former des images *en face* d'un échantillon *in vivo*, avec une acquisition rapide des images et un encombrement réduit pour le dispositif.

Résumé de l'invention

Dans la présente description, le terme « comprendre » signifie la même chose que « inclure », « contenir », et est inclusif ou ouvert et n'exclut pas d'autres éléments non décrits ou représentés. En outre, dans la présente description, le terme « environ » ou « sensiblement » est synonyme de (signifie la même chose que) une marge inférieure et/ou supérieure de 10%, par exemple 5%, de la valeur respective.

Selon un premier aspect, la présente description concerne un dispositif de microscopie tomographique par cohérence optique à balayage linéaire, comprenant :

- une source de lumière à large bande spectrale;
- un détecteur avec une surface de détection linéaire;
- un microscope interférométrique comprenant un bras de référence à l'extrémité duquel est agencé une surface réfléchissante de référence, un bras objet configuré pour recevoir un objet à imager, un séparateur de faisceaux couplant lesdits bras objet et de référence à ladite source de lumière et audit détecteur, et au moins un premier objectif de microscope agencé sur ledit bras objet ;

- un dispositif de filtrage spatial confocal unidimensionnel configuré pour coopérer avec ladite source de lumière pour éclairer ledit objet selon une ligne de focalisation située dans un espace objet dudit premier objectif de microscope, et configuré pour sélectionner la lumière rétrodiffusée par ledit objet et provenant de ladite ligne de focalisation pour former une image unidimensionnelle de ladite ligne de focalisation sur la surface de détection ;
- un dispositif de balayage unidirectionnel de ladite ligne de focalisation, agencé sur ledit bras objet en amont dudit premier objectif de microscope, et configuré pour un balayage de la ligne de focalisation selon une direction latérale sensiblement perpendiculaire à un axe optique dudit premier objectif de microscope ;
- une unité de traitement configurée pour produire au moins une image tomographique bidimensionnelle *en face* dudit objet à observer, agencée dans un plan sensiblement perpendiculaire audit axe optique de l'objectif de microscope, à partir d'une pluralité d'images interférométriques unidimensionnelles de l'objet produites par le microscope interférométriques pour différentes positions de ladite ligne de focalisation au cours dudit balayage unidirectionnel et acquises par ledit détecteur.

Dans la présente description, un axe optique du premier objectif de microscope agencé dans le bras objet est défini par une ligne passant par le centre d'une pupille dudit objectif et sensiblement perpendiculaire au plan de ladite pupille. Celle ligne peut être une ligne brisée s'il y a dans le dispositif des miroirs de renvoi ou autres éléments de déflexion de la lumière.

Ainsi, on appellera de façon générale « direction axiale » dans un espace donné du dispositif, une direction colinéaire à l'axe optique dudit premier objectif de microscope, considéré dans ledit espace.

On appellera de façon générale « direction latérale » dans un espace donné du dispositif, une direction perpendiculaire à l'axe optique dudit premier objectif de microscope, considéré dans ledit espace.

Dans la présente description, la « surface de focalisation » est la surface formée par la ligne de focalisation dans l'espace objet du premier objectif de microscope, pendant le balayage de ladite ligne. L'espace objet du premier objectif de microscope est défini ans la présente description par l'espace dans lequel se situe, en opération, l'objet d'étude. La surface de focalisation est généralement plane, sensiblement perpendiculaire à l'axe optique du premier objectif de microscope, et définie dans une région correspondant à la profondeur de champ dudit objectif de microscope.

La « surface de mise au point » est une surface, dans l'espace objet, conjuguée optiquement avec la surface de détection linéaire par le premier objectif de microscope et l'ensemble des éléments optiques présents entre le premier objectif de microscope et la surface de détection. Le dispositif est réglé en amont de la formation d'images pour que la surface de focalisation soit sensiblement confondue avec la surface de mise au point.

L'arrangement original du dispositif de microscopie tomographique par cohérence optique ainsi décrit, avec un dispositif de balayage unidirectionnel de ladite ligne de focalisation agencé sur le bras objet du microscope interférométrique, en amont dudit premier objectif de microscope, permet la formation d'images *en face* d'échantillons *in vivo*, en maintenant un encombrement réduit pour le dispositif.

L'objet d'étude est par exemple et de façon non limitative une région de peau et s'applique par exemple au diagnostic de différents types et sous-types de cancers de la peau, en particulier les mélanomes, carcinomes basocellulaires et carcinomes spinocellulaires, au diagnostic de pathologies inflammatoires et bulleuses de la peau, à l'évaluation de différents paramètres morphologiques de la peau saine, le suivi de l'évolution de lésions cutanés, l'examen des marges d'exérèse, etc.

Selon un ou plusieurs exemples de réalisation, la source de lumière à large bande spectrale comprend une diode électroluminescente ou une association de diodes électroluminescentes, une diode superluminescente ou une association de diodes superluminescentes, une lampe à filament halogène, une lampe à arc, une source laser à large bande spectrale (source par génération de « supercontinuum » par exemple). Dans tous les cas, la largeur spectrale (à mi-hauteur) de la source sera de préférence supérieure ou égale à 100 nm ; plus cette largeur spectrale est importante, meilleure pourra être la résolution axiale de l'appareil ; la longueur d'onde de centre bande peut être visible ou se situer dans le proche infrarouge ; dans les applications biologiques et médicales on préfère généralement le proche infrarouge, entre 700 nm et 1500 nm. La source peut être polarisée ou non polarisée, spatialement cohérente ou incohérente.

Les sources spatialement cohérentes (de types lasers ou diodes superluminescentes) peuvent être avantageuses en raison de leur plus grande luminance. Par ailleurs, elles permettent, en coopération avec une lentille cylindrique, de former la ligne de focalisation.
Selon un ou plusieurs exemples de réalisation, ledit microscope interférométrique est un microscope de Linnik, comprenant en outre un deuxième objectif de microscope agencé sur ledit bras de référence, lesdits bras de référence et objet étant disjoints. Par exemple, le

premier objectif de microscope et le deuxième objectif de microscope sont identiques, permettant d'avoir une compensation des effets d'une dispersion chromatique entre les deux bras de l'interféromètre.

Selon un ou plusieurs exemples de réalisation, le bras de référence ne comprend pas d'objectif de microscope. Dans ce cas notamment, le dispositif peut comprendre en outre un élément de compensation de la dispersion chromatique agencé sur l'un et/l'autre desdits bras objet et de référence.

Selon un ou plusieurs exemples de réalisation, ledit premier objectif de microscope et/ou ledit deuxième objectif de microscope, lorsqu'il est présent, est un objectif de microscope à immersion, c'est-à-dire un objectif de microscope immergé dans un milieu dont l'indice de réfraction est sensiblement égal à l'indice de réfraction de l'objet d'étude.

Selon un ou plusieurs exemples de réalisation, ladite surface réfléchissante de référence comprend une surface configurée pour réfléchir environ 5% ou moins de la lumière incidente. Une telle surface réfléchissante de référence comprend par exemple une interface verre /air d'une lame de verre (e.g. du quartz). Bien entendu, d'autres surfaces réfléchissantes avec des coefficients de réflexion plus élevés peuvent être utilisés, comme des miroirs par exemple.

Selon un ou plusieurs exemples de réalisation, le dispositif de microscopie comprend en outre un élément d'atténuation de la puissance optique, agencé sur le bras de référence, permettant de contrôler la différence de puissance optique des faisceaux lumineux se propageant dans chacun des bras du microscope interférométrique. L'élément d'atténuation est par exemple un filtre de densité neutre. Un élément de compensation de la dispersion chromatique, par exemple une lame de verre, peut alors être agencée sur le bras objet pour compenser la dispersion introduite par l'élément d'atténuation.

Selon un ou plusieurs exemples de réalisation, un détecteur avec une surface de détection linéaire est un détecteur linéaire, par exemple une caméra linéaire, de type CCD ou CMOS, comprenant une pluralité de détecteurs élémentaires (ou « pixels ») agencés selon une ou plusieurs lignes pour former une surface de détection unidimensionnelle de largeur donnée. Un détecteur avec une surface de détection linéaire comprend également un détecteur bidimensionnel dont seule une ou plusieurs lignes de pixels sont prises en compte par exemple dont seule une ou plusieurs lignes de pixels sont activées électroniquement.

Selon un ou plusieurs exemples de réalisation, la sélection de la lumière rétrodiffusée par ledit objet et provenant de ladite ligne de focalisation pour le filtrage spatial confocal

unidimensionnel est obtenue au moyen de ladite surface de détection linéaire, conjuguée optiquement avec ladite ligne de focalisation, par exemple au moyen du premier objectif de microscope et d'une lentille de tube agencée en aval du microscope interférométrique, et dont la largeur est adaptée à la largeur de l'image de la ligne de focalisation sur la surface de détection. La surface de détection linéaire fait donc partie du dispositif de filtrage spatial confocal unidimensionnel.

Selon un ou plusieurs exemples de réalisation, la sélection de la lumière rétrodiffusée par ledit objet et provenant de ladite ligne de focalisation pour le filtrage spatial confocal unidimensionnel est obtenue au moyen d'un élément de filtrage spatial, par exemple une fente, conjugué optiquement avec ladite ligne de focalisation par le premier objectif de microscope et une lentille de tube agencée en aval du microscope interférométrique. Dans cet exemple, les dimensions de l'élément de filtrage spatial, par exemple la largeur de la fente, est adaptée à la largeur de l'image de la ligne de focalisation dans un plan dudit élément de filtrage spatial. L'élément de filtrage spatial est par exemple conjugué optiquement avec la surface de détection du détecteur.

Dans l'un ou l'autre des deux cas respectivement, la largeur de la surface de détection linéaire ou de la fente pourra être inférieure à 10 fois, avantageusement inférieure à 5 fois la largeur de l'image de la ligne de focalisation. Par exemple, la largeur de la surface de détection linéaire ou de la fente pourra être sensiblement égale à la largeur de l'image de la ligne de focalisation.

Selon un ou plusieurs exemples de réalisation, le dispositif de filtrage spatial confocal unidimensionnel comprend une lentille cylindrique, agencée en amont du microscope interférométrique, et qui coopère avec la source de lumière à large bande spectrale pour former ladite ligne de focalisation dans un espace objet du premier objectif de microscope. La source de lumière à large bande spectrale est par exemple une source de lumière cohérente spatialement, par exemple un laser supercontinuum ou une diode superluminescente. Un tel dispositif de filtrage spatial confocal unidimensionnel est avantageux en ce qu'il permet un éclairage de l'objet selon une ligne avec une puissance optique satisfaisante, par exemple de l'ordre de quelques milliwatts. Cependant, le dispositif de filtrage spatial confocal unidimensionnel peut comprendre, dans d'autres exemples de réalisation, une ouverture linéaire agencée dans un plan conjugué optiquement avec un plan de la source, par exemple une fente, et un objectif en amont du microscope interférométrique qui coopère avec ledit premier objectif de microscope pour former ladite ligne de focalisation.

Selon un ou plusieurs exemples de réalisation, le dispositif de balayage unidirectionnel de la ligne de focalisation comprend une surface réfléchissante, par exemple un miroir, et des moyens de rotation de ladite surface réfléchissante selon un axe de rotation sensiblement perpendiculaire à l'axe optique du premier objectif de microscope.

Le dispositif de balayage unidirectionnel de la ligne de focalisation est agencé sur le bras objet, en amont du premier objectif de microscope.

Selon un ou plusieurs exemples de réalisation, la surface réfléchissante du dispositif de balayage est conjuguée optiquement avec une pupille d'entrée du premier objectif de microscope pour limiter tout effet de vignettage.

Selon d'autres exemples de réalisation, la surface réfléchissante du dispositif de balayage est simplement agencée à proximité dudit premier objectif de microscope pour limiter un vignettage possible du faisceau d'éclairage au niveau de la pupille d'entrée du premier objectif de microscope et limiter un vignettage de la lumière rétrodiffusée par l'objet. En particulier, aucun élément optique pour la conjugaison optique de la surface réfléchissante du dispositif de balayage et de la pupille d'entrée du premier objectif de microscope n'est introduit, ce qui permet de favoriser la compacité du dispositif.

Selon un ou plusieurs exemples de réalisation, l'unité de traitement comprend une ou plusieurs entités physiques, par exemple un ou plusieurs ordinateurs. Lorsque dans la présente description, il est fait référence à des étapes de calcul ou traitement pour la mise en œuvre notamment d'étapes de procédés, il est entendu que chaque étape de calcul ou traitement peut être mis en œuvre par logiciel, hardware, firmware, microcode ou toute combinaison appropriée de ces technologies. Lorsqu'un logiciel est utilisé, chaque étape de calcul ou traitement peut être mise en œuvre par des instructions de programme d'ordinateur ou du code logiciel. Ces instructions peuvent être stockées ou transmises vers un support de stockage lisible par l'unité de traitement et/ou être exécutées par l'unité de traitement afin de mettre en œuvre ces étapes de calcul ou traitement. Selon un ou plusieurs exemples de réalisation, l'unité de traitement est reliée à un écran et/ou interface pour l'interface avec un utilisateur.

Selon un ou plusieurs exemples de réalisation, une image tomographique unidimensionnelle est générée à partir d'une pluralité d'images interférométriques unidimensionnelles en déterminant une dispersion des valeurs entre des images successives de ladite pluralité d'images. La dispersion est déterminée sur la pluralité d'images interférométriques unidimensionnelles successives en parallèle pour chaque point. Par

exemple, la détermination de ladite image tomographique unidimensionnelle comprend le calcul de la variance de ladite pluralité d'images interférométriques unidimensionnelles successives. Selon un ou plusieurs exemples de réalisation, ladite pluralité d'images interférométriques unidimensionnelles comprend entre 2 et 20, avantageusement entre 2 et 10 images interférométriques unidimensionnelles.

Selon un ou plusieurs exemples de réalisation, l'unité de traitement est configurée pour :

- produire une pluralité d'images tomographiques unidimensionnelles dudit objet, chaque image de ladite pluralité d'images tomographiques unidimensionnelles étant produite à partir d'une pluralité d'images interférométriques unidimensionnelles acquises par ledit détecteur pour différentes positions de ladite ligne de focalisation au cours dudit balayage unidirectionnel; et
- produire ladite image tomographique bidimensionnelle *en face* dudit objet à partir d'une pluralité desdites images tomographiques unidimensionnelles.

Dans ces exemples de réalisation, un déplacement de la surface réfléchissante de référence n'est pas nécessaire pour l'acquisition d'une image tomographique unidimensionnelle ; en effet, du fait du balayage de la ligne de focalisation, et si la surface réfléchissante du dispositif de balayage de la ligne de focalisation n'est pas conjuguée optiquement avec la pupille d'entrée du premier objectif de microscope, une pluralité d'images interférométriques unidimensionnelles (ou signaux interférométriques unidimensionnelles) peuvent être produites par le microscope interférométrique et acquises par le détecteur pour une pluralité de positions successives de la ligne de focalisation dans l'objet, les images interférométriques de ladite pluralité d'images interférométriques présentant en chaque point des états d'interférence différents correspondant à des différences de marche différentes entre la lumière issue du bras de référence et la lumière issue du bras objet. A partir de ladite pluralité d'images interférométriques unidimensionnelles, il est possible de produire une image tomographique unidimensionnelle.

Selon un ou plusieurs exemples de réalisation, le dispositif de microscopie selon le premier aspect comprend des moyens de déplacement unidirectionnel de ladite surface réfléchissante de référence selon une direction axiale.

Selon un ou plusieurs exemples de réalisation, l'unité de traitement est configurée pour :

- produire une pluralité d'images tomographiques unidimensionnelles dudit objet, chaque image de ladite pluralité d'images tomographiques unidimensionnelles étant produite à partir d'une pluralité d'images interférométriques unidimensionnelles acquises par ledit détecteur pour différentes positions de la surface réfléchissante de référence ; et
- produire ladite image tomographique bidimensionnelle *en face* dudit objet à partir d'une pluralité desdites images tomographiques unidimensionnelles.

Dans ces exemples de réalisation, une image tomographique unidimensionnelle est produite à partir d'une pluralité d'images interférométriques unidimensionnelles acquises par ledit détecteur pour différentes positions de la surface réfléchissante de référence, entraînant des différences de marche différentes entre la lumière issue du bras de référence et la lumière issue du bras objet, et donc des états d'interférence différents pour les images interférométriques de ladite pluralité d'images interférométriques unidimensionnelles. Dans ces exemples de réalisation, le déplacement de la ligne de focalisation pendant la production d'une image interférométrique unidimensionnelle est avantageusement sensiblement nul ou suffisamment faible pour ne pas détériorer l'image tomographique ainsi produite.

Selon un ou plusieurs exemples de réalisation, lesdits moyens de déplacement de ladite surface réfléchissante de référence sont configurés pour introduire en outre un déplacement axial additionnel de ladite surface réfléchissante de référence permettant de compenser un déphasage introduit par le dispositif de balayage de la ligne de focalisation.

La déposante a montré en effet que lors du balayage unidirectionnel de la ligne de focalisation pour la production d'une image *en face*, la « surface de cohérence », c'est à dire la surface de différence de marche nulle qui est la surface effectivement observable, n'est pas rigoureusement plane mais prend la forme d'une surface parabolique. Il peut en résulter une image *en face* « floue ». L'introduction d'un déplacement axial additionnel de ladite surface réfléchissante de référence permet alors d'introduire un déphasage de compensation afin d'obtenir une meilleure superposition de la surface de cohérence et de la surface de focalisation, et de produire une image *en face* sensiblement plane et avec une meilleure netteté.

Selon un ou plusieurs exemples de réalisation, le dispositif de microscopie selon le premier aspect comprend en outre une surface réfléchissante de renvoi agencé dans le bras de référence et des moyens de déplacement de ladite surface réfléchissante de renvoi, selon l'une et/ou l'autre d'une direction axiale et d'une direction latérale.

Selon un ou plusieurs exemples de réalisation, ladite unité de traitement est configurée pour :

- produire une pluralité d'images tomographiques unidimensionnelles dudit objet, chaque image de ladite pluralité d'images tomographiques unidimensionnelles étant produite à partir d'une pluralité d'images interférométriques unidimensionnelles acquises par ledit détecteur pour différentes positions de ladite surface réfléchissante de renvoi ; et
- produire ladite image tomographique bidimensionnelle *en face* dudit objet à partir d'une pluralité desdites images tomographiques unidimensionnelles.

Déplacer une surface réfléchissante de renvoi agencée dans le bras de référence du microscope interférométrique permet de gagner encore en encombrement du dispositif de microscopie puisqu'on peut s'affranchir ainsi d'un déplacement de la surface réfléchissante de référence. Par ailleurs, notamment lorsque la surface réfléchissante de référence est dans un plan focal d'un objectif de microscope, on limite le risque de variation de l'intensité lumineuse de la lumière issue du bras de référence lors d'un déplacement de ladite surface réfléchissante de référence, une telle variation pouvant résulter d'impuretés sur la surface réfléchissante de référence et pouvant entraîner des artefacts dans l'image.

Selon un ou plusieurs exemples de réalisation, pour chaque image de ladite pluralité d'images tomographiques unidimensionnelles, lesdits moyens de déplacement de ladite surface réfléchissante de renvoi sont configurés pour introduire en outre un déplacement additionnel de ladite surface réfléchissante de renvoi permettant de compenser un déphasage introduit par le dispositif de balayage de la ligne de focalisation.

Bien entendu, la compensation d'un déphasage introduit par le dispositif de balayage de la ligne de focalisation peut également être obtenu au moyen d'un déplacement axial additionnel de ladite surface réfléchissante de référence même lorsque les images tomographiques unidimensionnelles sont produites par acquisition d'une pluralité d'images interférométriques unidimensionnelles pour différentes positions de ladite surface réfléchissante de renvoi. Inversement, la compensation d'un déphasage introduit par le dispositif de balayage de la ligne de focalisation peut être obtenu au moyen d'un déplacement additionnel de ladite surface réfléchissante de renvoi même lorsque les images tomographiques unidimensionnelles sont produites par acquisition d'une pluralité d'images interférométriques unidimensionnelles pour différentes positions de la surface réfléchissante de référence.

Selon un ou plusieurs exemples de réalisation, le dispositif de microscopie tomographique selon le premier aspect comprend en outre des moyens de déplacement axial de ladite ligne de focalisation, selon une direction parallèle audit axe optique dudit premier objectif de microscope pour un déplacement de ladite ligne de focalisation en profondeur dans l'objet. On déplace alors la surface de focalisation en profondeur dans l'objet.

Selon un ou plusieurs exemples de réalisation, l'unité de traitement est configurée pour produire en outre une image tridimensionnelle dudit objet à observer, à partir d'une pluralité d'images *en face* produites pour différentes surfaces de focalisation.

Selon un ou plusieurs exemples de réalisation, lesdits moyens de déplacement axial de la ligne de focalisation comprennent des moyens de déplacement solidaire d'un ensemble comprenant ledit premier objectif de microscope et ledit séparateur de faisceaux, selon une direction parallèle audit axe optique dudit premier objectif de microscope. Une telle configuration est avantageuse en ce qu'elle permet de déplacer simultanément et solidairement la surface de cohérence et la surface de focalisation, au cours du balayage axial, tout en minimisant le poids à déplacer.

Bien entendu, d'autres moyens de déplacement axial de la ligne de focalisation peuvent être envisagés.

Par exemple, et de façon non limitative, lesdits moyens de déplacement axial de la ligne de focalisation peuvent comprendre des moyens de déplacement solidaire d'un ensemble comprenant ledit premier objectif de microscope et ledit dispositif de balayage unidirectionnel de la ligne de focalisation ou d'un ensemble comprenant ledit premier objectif de microscope ladite surface réfléchissante de renvoi du bras de référence lorsqu'elle est présente, ou d'un ensemble comprenant tous les éléments dudit microscope interférométrique.

Dans les exemples cités ci-dessus, on pourra choisir pour ledit premier objectif de microscope et le dit deuxième objectif de microscope s'il est présent, un objectif de microscope à immersion. En effet, dans ces exemples, les mouvements de la surface de cohérence et de la surface de focalisation sont solidaires ; l'adaptation de l'indice de réfraction de l'objet d'étude avec celui du milieu dans lequel est immergé le premier objectif de microscope permet de les maintenir confondus.

Selon d'autres exemples de réalisation, lesdits moyens de déplacement axial de la ligne de focalisation peuvent comprendre des moyens de déplacement indépendants du premier objectif de microscope d'une part et de l'ensemble formé du deuxième objectif de

microscope, lorsqu'il est présent, avec la surface réfléchissante de référence, d'autre part. lesdits moyens de déplacement axial de la ligne de focalisation peuvent également comprendre des moyens de déplacement indépendants du premier objectif de microscope d'une part et d'une surface réfléchissante de renvoi agencée sur le bras de référence, d'autre part.

Dans ces exemples, les mouvements de la surface de cohérence et de la surface de focalisation sont désolidarisés et on peut déplacer les deux plans d'une quantité différente de manière à les maintenir confondus.

Selon un deuxième aspect, la présente description concerne un procédé de microscopie tomographique par cohérence optique à balayage linéaire, mis en œuvre par un dispositif selon le premier aspect.

Selon un ou plusieurs exemples de réalisation, ledit procédé selon le deuxième aspect comprend :

- la formation d'un faisceau d'éclairage au moyen d'une source de lumière à large bande spectrale;
- la séparation du faisceau d'éclairage, au moyen d'un séparateur de faisceaux, en une première fraction de lumière et une deuxième fraction de lumière, ladite première fraction de lumière étant envoyée dans un bras de référence à l'extrémité duquel est agencé une surface réfléchissante de référence, ladite deuxième fraction de lumière étant envoyée dans un bras objet recevant un objet à imager;
- la focalisation de ladite deuxième fraction de lumière, au moyen d'un premier objectif de microscope agencé sur ledit bras objet et coopérant avec un dispositif de filtrage spatial confocal, pour éclairer ledit objet à imager selon une ligne de focalisation située dans un espace objet dudit objectif de microscope;
- la sélection, au moyen dudit dispositif de filtrage spatial confocal, de la lumière rétrodiffusée par l'objet et provenant de ladite ligne de focalisation pour former une image unidimensionnelle de ladite ligne de focalisation sur une surface de détection linéaire d'un détecteur;
- la combinaison, au moyen dudit séparateur de faisceaux, de la lumière rétrodiffusée par l'objet ainsi sélectionnée et de la lumière issue de la réflexion par la surface réfléchissante du bras de référence de ladite première fraction de lumière, pour générer une image interférométrique unidimensionnelle ;
- le balayage unidirectionnel de ladite ligne de focalisation selon une direction latérale

sensiblement perpendiculaire à un axe optique dudit premier objectif de microscope, au moyen d'un dispositif de balayage agencé sur ledit bras objet en amont dudit premier objectif de microscope;

- la production, au moyen d'une unité de traitement d'au moins une image tomographique bidimensionnelle *en face* dudit objet à observer, agencée dans un plan sensiblement perpendiculaire audit axe optique de l'objectif de microscope, à partir d'une pluralité d'images interférométriques unidimensionnelles acquises par ledit détecteur pour différentes positions de ladite ligne de focalisation au cours dudit balayage unidirectionnel.

Selon un ou plusieurs exemples de réalisation, la production de ladite au moins une image tomographique bidimensionnelle *en face* dudit objet comprend :

- la production d'une pluralité d'images tomographiques unidimensionnelles dudit objet, chaque image de ladite pluralité d'images tomographiques unidimensionnelles étant produite à partir d'une pluralité d'images interférométriques unidimensionnelles acquises par ledit détecteur pour différentes positions de ladite ligne de focalisation au cours dudit balayage unidirectionnel; et
- la production de ladite image tomographique bidimensionnelle *en face* dudit objet à partir d'une pluralité desdites images tomographiques unidimensionnelles.

Selon un ou plusieurs exemples de réalisation, la production de ladite au moins une image tomographique bidimensionnelle *en face* dudit objet comprend :

- la production d'une pluralité d'images tomographiques unidimensionnelles dudit objet, chaque image de ladite pluralité d'images tomographiques unidimensionnelles étant produite à partir d'une pluralité d'images interférométriques unidimensionnelles acquises par ledit détecteur pour différentes positions de la surface réfléchissante de référence ou pour différentes positions d'une surface réfléchissante de renvoi agencé dans le bras de référence; et
- la production de ladite image tomographique bidimensionnelle *en face* dudit objet à partir d'une pluralité desdites images tomographiques unidimensionnelles.

Selon un ou plusieurs exemples de réalisation, le procédé comprend en outre, pour chaque image de ladite pluralité d'images tomographiques unidimensionnelles, l'introduction d'un déplacement axial additionnel de ladite surface réfléchissante de référence ou l'introduction d'un déplacement additionnel de ladite surface réfléchissante de renvoi, pour compenser un déphasage introduit par le dispositif de balayage de la ligne de

focalisation.

Selon un ou plusieurs exemples de réalisation, le procédé comprend en outre :

- le déplacement axial de ladite ligne de focalisation en profondeur dans l'objet, selon une direction parallèle audit axe optique dudit premier objectif de microscope ;
- la production d'une image tridimensionnelle dudit objet à observer, à partir d'une pluralité d'images *en face* produites pour différentes profondeurs de la ligne de focalisation.

Brève description des figures

D'autres avantages et caractéristiques de l'invention apparaîtront à la lecture de la description, illustrée par les figures suivantes :

[Fig. 1], déjà décrite, représente un schéma illustrant un dispositif de microscopie tomographique par cohérence optique à balayage linéaire (LS-OCM) d'un objet, connu de l'état de l'art ;

[Fig. 2] représente un schéma illustrant un exemple de dispositif de microscopie tomographique par cohérence optique à balayage linéaire, selon la présente description ;

[Fig. 3A] illustre selon une première vue, le fonctionnement de moyens de filtrage spatial confocal unidimensionnel dans un dispositif de microscopie tomographique par cohérence optique à balayage linéaire, selon un exemple de la présente description ;

[Fig. 3B] illustre des moyens de filtrage spatial confocal unidimensionnel tels qu'illustrés sur la Fig. 3A, selon une deuxième vue ;

[Fig. 4A] représente un schéma illustrant un exemple de dispositif de microscopie tomographique par cohérence optique à balayage linéaire, selon la présente description ;

[Fig. 4B] représente un schéma illustrant un exemple de dispositif de microscopie tomographique par cohérence optique à balayage linéaire, selon la présente description ;

[Fig. 4C] représente un schéma illustrant un exemple de dispositif de microscopie tomographique par cohérence optique à balayage linéaire, selon la présente description ;

[Fig. 5A] représente un schéma illustrant selon un exemple le balayage unidirectionnel de la ligne de focalisation, en fonction du temps ;

[Fig. 5B] représente un schéma illustrant, selon un exemple, une coupe de la surface de cohérence lorsque la ligne de focalisation est déplacée latéralement selon le balayage illustré sur la Fig. 5A et la surface de cohérence lorsque la ligne de focalisation est déplacée latéralement selon le balayage illustré sur la Fig. 5A, avec compensation au moyen d'une

variation de position axiale de la surface réfléchissante de référence, également représentée sur la Fig.5B ;

[Fig. 5C] représente un schéma illustrant, selon un exemple, une coupe de la surface de cohérence lorsque la ligne de focalisation est déplacée latéralement selon le balayage illustré sur la Fig. 5A et la surface de cohérence lorsque la ligne de focalisation est déplacée latéralement selon le balayage illustré sur la Fig. 5A, avec compensation par paliers au moyen d'une variation de position axiale de la surface réfléchissante de référence, également représentée sur la Fig.5C ;

[Fig. 6A] représente un schéma illustrant selon un exemple la surface de cohérence dans un exemple de dispositif de microscopie tomographique par cohérence optique à balayage linéaire selon la présente description, sans compensation ;

[Fig. 6B] représente un schéma illustrant selon un exemple la surface de cohérence dans un exemple de dispositif de microscopie tomographique par cohérence optique à balayage linéaire selon la présente description, avec compensation ;

[Fig. 7] représente des images d'un échantillon obtenues au moyen d'un exemple de procédé selon la présente description, avec et sans compensation.

Description détaillée de l'invention

Dans la description détaillée qui suit, de nombreux détails spécifiques sont exposés afin de fournir une compréhension plus approfondie de la présente description. Cependant, il apparaîtra à l'homme du métier que la présente description peut être mise en œuvre sans ces détails spécifiques. Dans d'autres cas, des caractéristiques bien connues n'ont pas été décrites en détail pour éviter de compliquer inutilement la description.

Par ailleurs, sur les figures, les éléments ne sont pas représentés à l'échelle pour une meilleure visibilité.

La Fig. 2 représente un schéma illustrant un exemple de dispositif de microscopie tomographique par cohérence optique à balayage linéaire, selon la présente description.

Le dispositif de microscopie tomographique 200 représenté sur la Fig. 2 comprend une source de lumière 210 à large bande spectrale, un détecteur 222 avec une surface de détection linéaire 223, par exemple une caméra linéaire de type CCD ou CMOS, une unité de traitement 240 configurée notamment pour traiter des signaux issus du détecteur 222 et un microscope interférométrique 201.

Le microscope interférométrique 201 comprend notamment un bras de référence à l'extrémité duquel est agencée une surface réfléchissante de référence 207, un bras objet configuré pour recevoir un objet à imager 10, un séparateur de faisceaux 204 couplant les bras objet et de référence à la source de lumière 210 et au détecteur, et au moins un premier objectif de microscope 202 agencé sur ledit bras objet. Le microscope interférométrique est pas exemple un microscope de type Linnik, comme illustré sur la Fig. 2, avec un deuxième objectif de microscope 203 identique au premier objectif de microscope 202, agencé sur le bras de référence et dans le plan focal duquel se trouve la surface réfléchissante de référence 207. Dans l'exemple de la Fig. 2, les objectifs de microscope 202, 203 sont des objectifs à immersion, immergés dans un liquide d'indice 205, 206, c'est à dire un liquide dont l'indice de réfraction est adapté à l'indice de réfraction de l'objet 10. Le microscope interférométrique 201 peut comprendre en outre de façon connue un élément d'atténuation de la puissance optique (non représenté), agencé sur le bras objet et/ou un élément de compensation de la dispersion chromatique (non représenté) agencé sur l'un et/l'autre desdits bras objet et de référence.

Le dispositif de microscopie tomographique 200 comprend en outre un dispositif de filtrage spatial confocal unidimensionnel, comprenant notamment une lentille cylindrique 212. Le dispositif de filtrage confocal est configuré pour coopérer avec la source de lumière pour éclairer l'objet 10 selon une ligne de focalisation située dans un espace objet du premier objectif de microscope (ici l « espace objet » est défini du point de vue de l'imagerie, c'est-à-dire l'espace de l'objectif de microscope dans lequel, en opération, l'objet d'étude se situe). Il est configuré également pour sélectionner la lumière rétrodiffusée par l'objet et provenant de ladite ligne de focalisation pour former une image unidimensionnelle de la ligne de focalisation sur la surface de détection 223. Des exemples de dispositif de filtrage spatial confocal unidimensionnel seront décrits plus en détails en référence aux Figs 3A et 3B.

Dans l'exemple de la Fig. 2, l'axe optique du premier objectif de microscope 202, défini par une ligne passant par le centre d'une pupille de l'objectif et sensiblement perpendiculaire au plan de ladite pupille, est référencé par un axe z dans l'espace de l'objet 10. Les axes x et y correspondent, dans l'exemple de la Fig. 2, à deux directions latérales dans l'espace de l'objet 10, c'est-à-dire deux directions orthogonales entre elles et perpendiculaires à l'axe optique z du premier objectif de microscope 202. Dans l'espace de la surface réfléchissante de référence, on note z_r la direction axiale, c'est-à-dire la direction

colinéaire à l'axe optique du premier objectif de microscope, considéré dans cet espace, et x_r, y_r, les directions latérales.

Dans un microscope interférométrique d'un dispositif selon la présente description, du fait de la faible longueur de cohérence temporelle de la source à large bande spectrale, les interférences entre la lumière réfléchie par la surface réfléchissante de référence 207 et celle rétrodiffusée par l'objet 10 ne se produisent que lorsque les chemins optiques dans les bras objet et de référence sont égaux, avec une tolérance égale à la longueur de cohérence de la source.

On appelle « surface de cohérence » (ou « surface de différence de marche nulle ») dans la présente description, la tranche virtuelle dans l'objet pour laquelle des interférences peuvent se produire. La surface de cohérence est la surface que l'on peut effectivement observer. On appelle « image interférométrique », le signal d'interférence résultant de l'acquisition par le détecteur des interférences formées sur la surface de détection. Ainsi, chaque point d'une image interférométrique présente un « état d'interférence » donné, c'est à dire une différence de marche entre la lumière issue des bras objet et de référence pour ledit point inférieure à la longueur de cohérence. Dans la présente description, l'image interférométrique est unidimensionnelle du fait de l'éclairage et de la détection confocaux linéaires. La lumière rétrodiffusée par l'objet de part et d'autre de la surface de cohérence contribue à créer un fond lumineux constant dans le signal d'interférence. En modifiant la différence de marche entre les deux bras du microscope interférométrique, selon des moyens qui seront décrits pas la suite, on peut moduler les états d'interférence des points entre des images successives. Une combinaison des images interférométriques unidimensionnelles acquises par le détecteur permet alors de former une image tomographique unidimensionnelle.

Différents moyens mis en œuvre pour modifier la différence de marche entre les deux bras du microscope interférométrique sont notamment décrits en référence aux Figs 4A, 4B et 4C ci-dessous.

En pratique, lorsque la différence de marche entre des images interférométriques unidimensionnelles successives est générée selon une loi connue, on peut déterminer l'image tomographique unidimensionnelle à partir desdites images interférométriques en se basant sur cette loi.

Par exemple, une approche simple pour la formation de l'image tomographique unidimensionnelle est basée sur l'utilisation d'une méthode dite d'interférométrie à décalage

de phase, consistant à combiner numériquement plusieurs images interférométriques unidimensionnelles déphasées. Par exemple, on peut combiner quatre images interférométriques unidimensionnelles correspondant à des positions de la ligne de focalisation espacées de $\lambda/8n$ dans la direction axiale, λ étant la longueur d'onde centrale de la lumière d'éclairage dans l'objet et n l'indice dans lequel le premier objectif de microscope est immergé. Cela correspond à un déphasage de $\pi/2$ entre deux images adjacentes. Si l'on indique par E_1, E_2, E_3, E_4 ces images, $(E_1- E_3)^2 + (E_2- E_4)^2$ correspond à l'amplitude du signal d'interférence – c'est-à-dire à l'amplitude de l'image reconstituée – et $(E_1- E_3)/ (E_2- E_4)$ correspond à la phase du signal d'interférence. Cette phase peut fournir d'autres informations que des informations structurelles et tomographiques sur l'objet. Il faut noter qu'il n'y a pas de contradiction entre la notion de décalage de phase, ou déphasage, et le fait, mentionné plus haut, que la ligne de focalisation correspond toujours à une différence de chemin optique entre les bras objet et de référence égale à zéro. En effet, une structure quelconque de l'objet, susceptible de rétrodiffuser la lumière, n'est pas observée uniquement lorsqu'elle coïncide avec la ligne de focalisation, mais également avant et après (car la « porte » de cohérence et celle introduite par le filtrage confocal ont une largeur supérieure à λ). Il y a donc bien un décalage de phase entre les contributions de cette structure aux images acquises successivement au cours du balayage axial.

En variante, on peut également utiliser un algorithme adapté à un déphasage sinusoïdal entre les images successives. Par exemple, une pluralité d'images interférométriques unidimensionnelles peut être traitée par analyse de Fourier afin d'extraire l'enveloppe des franges d'interférence (l'amplitude du signal d'interférence) et éliminer la partie non modulée du signal (signal non interférométrique). Un déphasage sinusoïdal peut être obtenu par exemple, mais non exclusivement, dans le cas où la surface de référence est modulée de façon sinusoïdale.

De façon générale, la déposante a montré qu'on pouvait générer une image tomographique unidimensionnelle à partir d'une pluralité d'images interférométriques unidimensionnelles en déterminant la dispersion entre les images successives de ladite pluralité d'images interférométriques unidimensionnelles. Il n'est alors pas nécessaire de connaître précisément la loi de variation de la différence de marche entre les images interférométriques unidimensionnelles successives. Par exemple, pour générer une image tomographique unidimensionnelle, on pourra calculer la variance de N images

interférométriques unidimensionnelles successives, N étant compris par exemple entre 2 et 20, avantageusement entre 2 et 10, par exemple autour de 5.

La source 210 à large bande spectrale comprend par exemple un laser supercontinuum, la longueur de cohérence étant typiquement comprise entre 1 et 5 µm.

Le dispositif de microscopie tomographique 200 comprend en outre un dispositif 235, 237 de balayage unidirectionnel de ladite ligne de focalisation, agencé sur le bras objet en amont du premier objectif de microscope 202. Le dispositif de balayage unidirectionnel comprend par exemple, et de façon non limitative, une surface réfléchissante 235 et des moyens de rotation 237 de la surface réfléchissante, selon un axe de rotation perpendiculaire à l'axe optique du premier objectif de microscope. Le dispositif de balayage est par exemple formé d'un miroir galvanométrique. Le dispositif de balayage unidirectionnel de la ligne de focalisation est configuré pour un balayage de la ligne de focalisation selon une direction latérale (référencée y dans l'exemple de la Fig. 2) sensiblement perpendiculaire à l'axe optique z dudit premier objectif de microscope.

Il est alors possible, selon la présente description, de produire, au moyen de l'unité de traitement 240, au moins une image tomographique bidimensionnelle *en face* de l'objet 10, c'est-à-dire une image tomographique bidimensionnelle agencée dans un plan x, y sensiblement perpendiculaire à l'axe optique de l'objectif de microscope, à partir d'une pluralité d'images interférométriques unidimensionnelles de l'objet acquises par le détecteur pour différentes positions de ladite ligne de focalisation au cours du balayage unidirectionnel.

Du fait du positionnement du dispositif de balayage unidirectionnel de la ligne de focalisation dans le bas objet du microscope interférométrique 201, l'encombrement du dispositif 200 pour l'acquisition de l'image en face est réduit.

Selon un exemple de réalisation, la surface réfléchissante du dispositif de balayage de la ligne de focalisation est conjuguée optiquement avec la pupille d'entrée du premier objectif de microscope 202, par exemple au moyen d'une lentille optique. Cela permet d'éviter un vignettage du faisceau d'éclairage au niveau de la pupille d'entrée du premier objectif de microscope ainsi qu'un vignettage de la lumière rétrodiffusée par l'objet. Cependant, cette configuration complexifie le montage et augmente l'encombrement du dispositif. On préféra de ce fait, comme illustré sur la Fig. 2, positionner la surface réfléchissante du dispositif de balayage en amont du premier objectif de microscope 202, à proximité du premier objectif de microscope pour limiter le vignettage, c'est-à-dire au plus

proche de la pupille de l'objectif selon ce qui est accessible au vu des contraintes mécanique d'intégration du dispositif de balayage.

L'unité de traitement 240 est de façon générale configurée pour la mise en œuvre d'étapes du procédé selon la présente description. L'unité de traitement 240 peut être reliée à un écran et/ou interface (non représentés sur la Fig. 2) pour l'interface avec un utilisateur. L'unité de traitement peut également comprendre des moyens de contrôle des moyens de rotation 237 de la surface réfléchissante et/ou des moyens de contrôle d'autres éléments mobiles du dispositif de microscopie tomographique selon la présente description.

Les Fig. 3A et 3B illustrent selon deux plans de coupe perpendiculaires (respectivement les plans yz et xz contenant l'axe optique z de l'objectif de microscope 202), le filtrage spatial confocal unidimensionnel dans un dispositif de microscopie tomographique par cohérence optique à balayage linéaire, selon un exemple de la présente description. Sur ces figures, seuls les éléments du dispositif de microscopie tomographique utiles à la compréhension du filtrage spatial confocal unidimensionnel sont représentés.

Dans cet exemple, le dispositif de filtrage spatial confocal unidimensionnel comprend une lentille cylindrique 212, agencée en amont du microscope interférométrique, et qui coopère avec la source de lumière à large bande spectrale pour former une ligne de focalisation 301 dans l'espace objet du premier objectif de microscope 202. Lors du balayage de la ligne de focalisation, la ligne de focalisation se déplace sur une surface de focalisation, sensiblement confondues avec une surface de mise au point. Une telle surface de focalisation est généralement plane, sensiblement confondue avec un plan focal du premier objectif de microscope 202 si le faisceau incident sur ledit premier objectif de microscope est collimaté. La source de lumière à large bande spectrale est par exemple une source de lumière cohérente spatialement, par exemple un laser supercontinuum. Un tel dispositif de filtrage spatial confocal unidimensionnel est avantageux en ce qu'il permet un éclairage de l'objet avec une puissance optique satisfaisante.

La sélection de la lumière rétrodiffusée par l'objet 10 et provenant de ladite ligne de focalisation 301 pour le filtrage spatial confocal unidimensionnel est obtenue en outre dans cet exemple au moyen d'une surface de détection 323 linéaire du détecteur 322, conjuguée optiquement avec la ligne de focalisation au moyen du premier objectif de microscope 202 et d'une lentille de tube 221 agencée en aval du microscope interférométrique. La largeur de la surface de détection 323 est déterminée en fonction de la largeur de l'image de la ligne de focalisation sur la surface de détection. La surface de détection linéaire se comporte ainsi

comme une fente de filtrage de largeur donnée, et fait donc partie du dispositif de filtrage spatial confocal unidimensionnel. A noter que la sélection de la lumière rétrodiffusée par l'objet 10 et provenant de ladite ligne de focalisation 301 peut être obtenue également par une fente de filtrage séparée de la surface de détection (non représentée dans l'exemple des Figs 3A, 3B), optiquement conjuguée avec la ligne de focalisation 301 et la surface de détection 323.

Ainsi, dans le plan yz (Fig. 3A) perpendiculaire à la fente de filtrage formée par la surface de détection 323, seule la lumière provenant de la région de l'objet où la ligne de focalisation 301 est formée par la lentille cylindrique 212 et le premier objectif de microscope 202 (faisceau représenté en trait continu) est détectée par le détecteur 222 tandis que la lumière provenant d'autres régions 302, 303 de l'objet (faisceaux en lignes pointillées par exemple) est très fortement atténuée. Dans un plan parallèle à la fente de filtrage (plan xz sur Fig. 3B), un tel filtrage ne se produit pas.

Le filtrage spatial confocal est complémentaire du filtrage « cohérent » résultant de l'interférométrie à faible longueur de cohérence avec une source à large bande spectrale, dont le principe est rappelé ci-dessus. Notamment, le filtrage confocal améliore les performances de l'imagerie interférométrique en supprimant le « fond » produit par la diffusion de la lumière provenant de zones de l'échantillon situées en dehors du plan de focalisation et par des réflexions parasites. Toute la dynamique du détecteur est ainsi utilisée pour détecter le signal interférométrique utile et le rapport signal à bruit est amélioré. Par ailleurs, l'interférométrie – même à faible longueur de cohérence – ne permet pas de distinguer entre un photon balistique provenant de la région imagée dans l'objet et un photon provenant d'autres régions de l'objet et ayant parcouru un trajet optique de même longueur en raison des diffusions subies. Il en résulte un signal interférométrique parasite qui s'ajoute au signal interférométrique utile, créant des artefacts dans les images et limitant la profondeur d'imagerie accessible. Dans le dispositif selon la présente description, le filtrage confocal ne laisse passer que les photons balistiques, supprimant ce fond.

Par rapport à un filtrage confocal seul, l'utilisation d'une détection interférométrique permet une considérable amplification du signal utile (dans le cas de la microscopie confocale « pure », c'est le faible rapport signal sur bruit qui limite la profondeur d'acquisition). Dans le dispositif selon la présente description, il y a donc synergie – et non simple juxtaposition – entre les deux principes mis en jeu : microscopie par interférométrie à faible longueur de cohérence et microscopie confocale à fente.

Les Figs 4A, 4B, 4C illustrent trois exemples de dispositifs de microscopie tomographique pour la mise en œuvre de procédés selon la présente description.

Sur ces schémas, seuls les éléments du dispositif nécessaires à la compréhension du procédé selon la présente description sont illustrés. Notamment, les moyens d'éclairage et le dispositif de filtrage spatial confocal ainsi que l'unité de traitement ne sont pas illustrés. Bien que certains exemples de réalisation ne soient illustrés que sur certains des schémas, les différents modes de réalisation décrits ci-dessus peuvent être combinés.

Sur ces figures, les éléments identiques à ceux illustrés dans l'exemple de la Fig. 2 sont indiqués avec les mêmes références et ne sont pas décrits à nouveau.

La FIG.4A illustre un premier exemple de dispositif dans lequel le microscope interférométrique ne comprend qu'un seul objectif de microscope, à savoir le premier le premier objectif de microscope 202. Le bras objet comprend un élément 403 de compensation de la dispersion chromatique, par exemple une lame de verre.

Dans cet exemple, la surface réfléchissante de référence 207 est fixe.

Chaque image tomographique unidimensionnelle est produite dans cet exemple à partir d'une pluralité d'images interférométriques unidimensionnelles acquises par le détecteur pour différentes positions de ladite ligne de focalisation au cours du balayage unidirectionnel. Ceci est rendu possible du fait que la surface réfléchissante du dispositif de balayage de la ligne de focalisation n'est pas conjuguée optiquement avec la pupille d'entrée du premier objectif de microscope. Ainsi, pour une pluralité de positions successives différentes de la ligne de focalisation résultant du balayage de lignes d'observation, les points d'images interférométriques successives acquises par le détecteur présentent des états d'interférence différents correspondant à des différences de marche (ou déphasages) différentes entre la lumière issue du bras de référence et la lumière issue du bras objet. A partir de la pluralité d'images interférométriques unidimensionnelles, il est possible de produire une image tomographique unidimensionnelle.

Dans cet exemple, la loi de variation de différence de marche entre deux acquisitions d'images interférométriques n'est pas connue de façon aussi déterministe que lorsqu'on déplace, par exemple, la surface réfléchissante de référence.

La déposante a montré cependant qu'on pouvait générer des images tomographiques unidimensionnelles à partir d'une pluralité d'images interférométriques unidimensionnelles en déterminant la dispersion entre des images successives, comme décrit ci-dessus.

La FIG.4B illustre un deuxième exemple de dispositif dans lequel le microscope interférométrique est de type Linnik et comprend en plus du premier objectif de microscope 202 dans le bras objet, un deuxième objectif de microscope 203 dans le bras de référence. Avantageusement, les deux objectifs de microscope sont identiques.

Dans cet exemple, la surface réfléchissante de référence 207 est mobile en translation selon une direction axiale z_r grâce à des moyens de déplacement unidirectionnel de la surface réfléchissante de référence schématisés sur la Fig. 4B par une double flèche 405, ces moyens comprenant par exemple un moteur piézoélectrique.

Dans cet exemple, chaque image tomographique unidimensionnelle peut être produite à partir d'une pluralité d'images interférométriques unidimensionnelles acquises par le détecteur pour différentes positions de la surface réfléchissante de référence, entraînant des différences de marche différentes entre la lumière issue du bras de référence et la lumière issue du bras objet, et donc des états d'interférence différents pour les différentes images interférométriques unidimensionnelles. Dans ces exemples de réalisation, le déplacement de la ligne de focalisation pendant la production d'une image interférométrique unidimensionnelle est avantageusement sensiblement ou suffisamment faible pour ne pas dégrader l'image tomographique unidimensionnelle ainsi générée.

La FIG.4C illustre à nouveau un exemple de dispositif dans lequel le microscope interférométrique est de type Linnik.

Dans cet exemple, la surface réfléchissante de référence 207 est fixe.

Le microscope interférométrique comprend dans cet exemple une surface réfléchissante de renvoi 402 agencée dans le bras de référence et des moyens de déplacement 406, 408 de ladite surface réfléchissante de renvoi, selon l'une et/ou l'autre d'une direction axiale z_r et d'une direction latérale (y_r, dans l'exemple de la Fig. 4C). les moyens de déplacement 406, 408 comprennent par exemple un ou deux actionneurs piézoélectriques.

Il est possible au moyen de cet arrangement particulier, d'obtenir chaque image tomographique unidimensionnelle à partir d'une pluralité d'images interférométriques unidimensionnelles acquises par le détecteur pour différentes positions de la surface réfléchissante de renvoi.

Déplacer la surface réfléchissante de renvoi 402 permet d'acquérir une image tomographique unidimensionnel sans devoir faire osciller la surface de référence 207. Cela présente par exemple l'avantage de limiter le risque de variation de l'intensité lumineuse de la lumière issue du bras de référence lors d'un déplacement de la surface réfléchissante de

référence, en particulier lorsque la surface de référence est dans un plan focal du deuxième objectif de microscope 203, comme illustré sur la Fig. 4C, une telle variation pouvant résulter d'impuretés sur la surface réfléchissante de référence.

Par ailleurs, en supprimant le déplacement de la surface réfléchissante de référence 207, on peut limiter encore l'encombrement du dispositif.

Dans les exemples illustrés sur les Figs 4A à 4C, le dispositif de microscopie tomographique comprend en outre des moyens de déplacement axial de la ligne de focalisation, selon une direction parallèle à l'axe optique z dudit premier objectif de microscope 202. Il s'agit de déplacer la surface de focalisation pour imager une pluralité d'images *en face* de l'objet 10, selon un procédé selon la présente description, à différentes profondeurs. Une image tridimensionnelle de l'objet à observer pourra alors être produite à partir de la pluralité d'images *en face*.

Comme illustré dans les Figs. 4A à 4C, les moyens de déplacement axial de la ligne de focalisation peuvent comprendre des moyens de déplacement solidaire d'un ensemble 209 comprenant le premier objectif de microscope 202 et le séparateur de faisceaux 204, selon une direction parallèle à l'axe optique z du premier objectif de microscope 202. Une telle configuration est avantageuse en ce qu'elle permet de déplacer simultanément et solidairement la surface de cohérence et la surface de focalisation, au cours du balayage axial, tout en minimisant le poids à déplacer. Cela permet de rendre maximale la vitesse de déplacement et ainsi de l'acquisition.

Bien entendu, d'autres moyens de déplacement axial de la ligne de focalisation peuvent être envisagés, non représentés sur les figures.

Par exemple, et de façon non limitative, les moyens de déplacement axial de la ligne de focalisation peuvent comprendre des moyens de déplacement solidaire d'un ensemble comprenant le premier objectif de microscope 202 et le dispositif de balayage 235, 237 de la ligne de focalisation ou d'un ensemble comprenant le premier objectif de microscope 202 et la surface réfléchissante de renvoi 402 du bras de référence lorsqu'elle est présente (Fig. 4C), ou d'un ensemble comprenant tous les éléments du microscope interférométrique 201.

Dans les exemples cités ci-dessus, on choisira avantageusement pour le premier objectif de microscope 202 et le deuxième objectif de microscope 203 s'il est présent, un objectif de microscope à immersion. En effet, dans ces exemples, les mouvements de la surface de cohérence et de la surface de focalisation sont solidaires ; l'adaptation de l'indice de réfraction de l'objet d'étude 10 avec celui du milieu dans lequel est immergé le premier

objectif de microscope permet de les maintenir confondus.

Selon d'autres exemples (non représentés sur les figures), les moyens de déplacement axial de la ligne de focalisation peuvent comprendre des moyens de déplacement indépendants du premier objectif de microscope 202 d'une part et de l'ensemble formé du deuxième objectif de microscope 203, lorsqu'il est présent, avec la surface réfléchissante de référence 207, d'autre part. Les moyens de déplacement axial de la ligne de focalisation peuvent également comprendre des moyens de déplacement indépendants du premier objectif de microscope 202 d'une part et de la surface réfléchissante de renvoi 402 agencée sur le bras de référence, d'autre part (Fig. 4C).

Dans ces exemples, les mouvements de la surface de cohérence et de la surface de focalisation sont désolidarisés et on peut déplacer les deux plans d'une quantité différente de manière à les maintenir confondus.

La déposante a montré par ailleurs que, dans le cas notamment où, comme c'est illustré sur les Figs. 4A à 4C, la surface réfléchissante 235 du dispositif de balayage unidirectionnel de la ligne de focalisation n'est pas conjuguée optiquement avec la pupille d'entrée de l'objectif de microscope 202, une différence de marche (ou déphasage) peut être introduite pendant le balayage, ce qui entraîne une déformation de la surface de différence de marche nulle (surface de cohérence) par rapport à une surface parfaitement plane. Il en résulte que l'image *en face* formée ne peut pas être parfaitement nette sur tout le champ, car la surface de focalisation est quant à elle plane, et ne présente pas une grande profondeur de champ du fait qu'on utilise des objectifs de grande ouverture numérique (typiquement entre 0.3 et 0.8).

Pour compenser le déphasage introduit par le dispositif de balayage de la ligne de focalisation et faire coïncider surface de cohérence et surface de focalisation, le procédé de microscopie selon la présente description peut comprendre en outre, pour chaque image de la pluralité d'images tomographiques unidimensionnelles, l'introduction d'un déplacement axial additionnel de la surface réfléchissante de référence 207 (Fig. 2) ou de ladite surface réfléchissante de renvoi 402 (Fig. 4C).

Les Figs. 5A à 5C représentent ainsi des schémas montrant selon un exemple le balayage unidirectionnel de la ligne de focalisation, en fonction du temps (Fig. 5A), et des schémas (Figs. 5B, 5C) montrant selon deux exemples, des coupes de la surface de cohérence lorsque la ligne de focalisation est déplacée latéralement selon le balayage illustré sur la Fig. 5A, avec ou sans compensation.

Les Figs. 6A et 6B représentent des schémas illustrant selon un exemple les plans de cohérence (610) et de focalisation (612) dans l'échantillon, avec et sans compensation. Dans l'exemple des Figs. 6A, 6B, la surface réfléchissante de référence 207 est déplacée, mais l'effet recherché serait le même si la surface réfléchissante de renvoi était déplacée.

Plus précisément, dans l'exemple de la Fig. 5B, la surface de cohérence, lorsque la ligne de focalisation est déplacée latéralement selon le balayage illustré sur la Fig. 5A, est représentée par la courbe 510. La position de différence de marche nulle est représentée à 100 µm en profondeur pour une position de la ligne de focalisation y=0. Comme illustré sur la Fig. 5B, la surface de cohérence est sensiblement parabolique lorsqu'aucun déphasage de compensation n'est appliqué. Avec compensation, par exemple au moyen d'une variation de position axiale de la surface réfléchissante de référence représentée sur la Fig.5B par la courbe 512, la surface de cohérence, illustrée par la courbe 514, est sensiblement plane et confondue avec la surface de focalisation.

Comme illustré sur les Figs. 6A, 6B, la surface réfléchissante de référence 207 est piloté dynamiquement, par exemple au moyen d'un transducteur piézoélectrique 405, de manière à introduire un déphasage au cours du mouvement du miroir de balayage 235 permettant de maintenir la position de la différence de marche nulle de l'interféromètre au niveau de l'objet (courbe 610) dans un plan 612 sensiblement perpendiculaire à l'axe optique de l'objectif de microscope 202. Les Figs. 6A, 6B représentent en particulier trois positions (1, 2, 3) du miroir de balayage, associées à trois positions de la surface de référence pour la correction de la planéité de la surface de cohérence (surface de différence de marche nulle).

Le transducteur piézoélectrique 405 peut suivre une loi dont la fréquence est égale à celle du miroir de balayage 235, et dont l'amplitude et la forme sont calibrés selon l'amplitude et la forme de l'écart de la position de différence de marche nulle par rapport au plan perpendiculaire à l'axe optique de l'objectif objet, en fonction de la position de la ligne de focalisation. Cet écart peut être évalué au préalable afin d'appliquer une loi adaptée au transducteur piézoélectrique. Cet écart est indépendant de l'échantillon, et uniquement dépendant de la position du miroir de balayage 235 par rapport à l'objectif de microscope 202. Une fois que la loi adaptée a été déterminée, théoriquement ou empiriquement, elle n'a donc plus besoin d'être ajustée.

Comme illustré sur la Fig. 5C, afin de simplifier le pilotage et le réglage du transducteur piézoélectrique 207, il est aussi possible d'introduire un déphasage 520 variant pas à pas (pilotage du transducteur piézoélectrique par pas), avec plusieurs points de

fonctionnement au cours du mouvement du miroir de balayage 237. Ces points de fonctionnement sont choisis de manière à maintenir le sondage interférométrique dans un parallélépipède 524 dont la hauteur (selon l'axe optique de l'objectif de microscope 202) est considérée comme acceptable du point de vue de la netteté des images (donc par rapport à la profondeur de champ de l'objectif de microscope).

La Fig. 7 représente une image *in vivo* 710 d'un échantillon, l'image étant obtenue au moyen d'un exemple de procédé selon la présente description, sans compensation. L'image 710 est obtenue avec un échantillon formé du dos de la main d'un homme de 25 ans, sur un champ de 1.2 x 1.2 mm^2, avec un balayage du miroir de balayage 237 à une fréquence de 7 Hz.

Sur les régions 712 et 714 de l'image 710, on peut observer le *stratum granulosum* (avec cellules), et sur la région 716, on peut observer le *stratum corneum* (sans cellules), alors que ces couches sont physiquement à des profondeurs différentes. Cette image illustre bien que la surface de cohérence qui est la surface que l'on peut effectivement observer, n'est pas nécessairement parfaitement plane.

La compensation permet d'isoler ces régions.

Ainsi, les images 720 et 730 correspondent à des images du même champ, obtenues avec compensation pour faire coïncider la surface de cohérence avec la surface de focalisation à respectivement deux profondeurs. Les deux zones imagées sont ainsi le *stratum corneum* 720 et le *stratum granulosum* 730.

La compensation est obtenue avec oscillation de la surface de référence (lame de verre) à 7 Hz, selon une loi similaire à celle représentée en Fig. 5B (512). Les images tomographiques unidimensionnelles sont obtenues en additionnant au signal de compensation une oscillation sinusoïdale haute fréquence (10 kHz).

Bien que décrite à travers un certain nombre d'exemples de réalisation, le procédé et le dispositif de microscopie tomographique par cohérence optique à balayage linéaire selon la présente description comprend différentes variantes, modifications et perfectionnements qui apparaîtront de façon évidente à l'homme de l'art, étant entendu que ces différentes variantes, modifications et perfectionnements font partie de la portée de l'invention telle que définie par les revendications qui suivent.

Références

Réf 1.: D. Huang *et al.*, "*Optical coherence tomography*" Science 254(5035), 1178–1181 (1991)

Réf. 2 : A. F. Fercher *et al.* « *Optical coherence tomography – principles and applications* », Reports on Progress in Physics 66 (2003) 239 – 303

Réf. 3 : J. A. Izatt,*et al.*, « *Optical coherence microscopy in scattering media*», OPTICS LETTERS / Vol. 19, No. 8 / April 15 (1994)

Réf 4.: Y. Chen *et al.* « *High-resolution line-scanning optical coherence microscopy*", Optics Letters, Vol. 32, N°14, 1971 – 1973 (2007)

REVENDICATIONS

1. Dispositif (200) de microscopie tomographique par cohérence optique à balayage linéaire, comprenant :

une source de lumière (210) à large bande spectrale ;

un détecteur (222) avec une surface de détection linéaire (223);

un microscope interférométrique (201) comprenant un bras de référence à l'extrémité duquel est agencée une surface réfléchissante de référence (207), un bras objet configuré pour recevoir un objet à imager (10), un séparateur de faisceaux (204) couplant lesdits bras objet et de référence à ladite source de lumière et audit détecteur, et au moins un premier objectif de microscope (202) agencé sur ledit bras objet ;

un dispositif de filtrage spatial confocal unidimensionnel (212, 223) configuré pour coopérer avec ladite source de lumière pour éclairer ledit objet selon une ligne de focalisation située dans un espace objet dudit premier objectif de microscope, et configuré pour sélectionner la lumière rétrodiffusée par ledit objet et provenant de ladite ligne de focalisation pour former une image unidimensionnelle de ladite ligne de focalisation sur la surface de détection ;

un dispositif de balayage unidirectionnel (235, 237) de ladite ligne de focalisation, agencé sur ledit bras objet en amont dudit premier objectif de microscope, et configuré pour un balayage de la ligne de focalisation selon une direction latérale (y) sensiblement perpendiculaire à un axe optique (z) dudit premier objectif de microscope ;

une unité de traitement (240) configurée pour produire au moins une image tomographique bidimensionnelle *en face* dudit objet à observer, agencée dans un plan (x, y) sensiblement perpendiculaire audit axe optique de l'objectif de microscope, à partir d'une pluralité d'images interférométriques unidimensionnelles de l'objet produites par le microscope interférométrique pour différentes positions de ladite ligne de focalisation au cours dudit balayage unidirectionnel et acquises par ledit détecteur.

2. Dispositif de microscopie selon la revendication 1, dans lequel ladite unité de

traitement est configurée pour :

produire une pluralité d'images tomographiques unidimensionnelles dudit objet, chaque image de ladite pluralité d'images tomographiques unidimensionnelles étant produite à partir d'une pluralité d'images interférométriques unidimensionnelles acquises par ledit détecteur pour différentes positions de ladite ligne de focalisation au cours dudit balayage unidirectionnel; et

produire ladite image tomographique bidimensionnelle en face dudit objet à partir de ladite pluralité des images tomographiques unidimensionnelles.

3. Dispositif de microscopie selon la revendication 1, comprenant en outre :

des moyens de déplacement unidirectionnel (401) de ladite surface réfléchissante de référence selon une direction axiale (z_r); et dans lequel ladite unité de traitement est configurée pour :

produire une pluralité d'images tomographiques unidimensionnelles dudit objet, chaque image de ladite pluralité d'images tomographiques unidimensionnelles étant produite à partir d'une pluralité d'images interférométriques unidimensionnelles acquises par ledit détecteur pour différentes positions de la surface réfléchissante de référence ; et

produire ladite image tomographique bidimensionnelle en face dudit objet à partir de ladite pluralité des images tomographiques unidimensionnelles.

4. Dispositif de microscopie selon la revendication 3, dans lequel :

pour chaque image de ladite pluralité d'images tomographiques unidimensionnelles, lesdits moyens de déplacement de ladite surface réfléchissante de référence sont configurés pour introduire en outre un déplacement axial additionnel de ladite surface réfléchissante de référence permettant de compenser un déphasage introduit par le dispositif de balayage de la ligne de focalisation.

5. Dispositif de microscopie selon la revendication 1, comprenant en outre :

une surface réfléchissante de renvoi (402) agencé dans le bras de référence et des moyens de déplacement (406, 408) de ladite surface réfléchissante de

renvoi, selon l'une et/ou l'autre d'une direction axiale (z_r) et d'une direction latérale (y_r); et dans lequel :

ladite unité de traitement est configurée pour :

produire une pluralité d'images tomographiques unidimensionnelles dudit objet, chaque image de ladite pluralité d'images tomographiques unidimensionnelles étant produite à partir d'une pluralité d'images interférométriques unidimensionnelles acquises par ledit détecteur pour différentes positions de ladite surface réfléchissante de renvoi ; et

produire ladite image tomographique bidimensionnelle *en face* dudit objet à partir de ladite pluralité des images tomographiques unidimensionnelles.

6. Dispositif de microscopie selon la revendication 5, dans lequel :

pour chaque image de ladite pluralité d'images tomographiques unidimensionnelles, lesdits moyens de déplacement de ladite surface réfléchissante de renvoi sont configurés pour introduire en outre un déplacement additionnel de ladite surface réfléchissante de renvoi permettant de compenser un déphasage introduit par le dispositif de balayage de la ligne de focalisation.

7. Dispositif de microscopie selon l'une quelconque des revendications précédentes, comprenant en outre un dispositif de compensation de la dispersion chromatique (403) agencé sur l'un et/l'autre desdits bras objet et de référence.

8. Dispositif de microscopie selon l'une quelconque des revendications précédentes, dans lequel ledit microscope interférométrique est un microscope de Linnik, comprenant en outre un deuxième objectif de microscope (203), agencé sur ledit bras de référence, lesdits bras de référence et objet étant disjoints.

9. Dispositif de microscopie selon l'une quelconque des revendications précédentes, comprenant en outre :

des moyens de déplacement axial de ladite ligne de focalisation, selon une direction parallèle audit axe optique dudit premier objectif de microscope pour un déplacement de ladite ligne de focalisation en profondeur dans l'objet ; et dans lequel :

l'unité de traitement est configurée pour produire en outre une image tridimensionnelle dudit objet à observer, à partir d'une pluralité d'images *en face* produites pour différentes profondeur de la ligne de focalisation.

10. Dispositif de microscopie selon la revendication 9, dans lequel :

lesdits moyens de déplacement axial de la ligne de focalisation comprennent des moyens de déplacement solidaire (208) d'un ensemble (209) comprenant ledit premier objectif de microscope et ledit séparateur de faisceaux, selon une direction parallèle audit axe optique dudit premier objectif de microscope.

11. Procédé de microscopie tomographique par cohérence optique à balayage linéaire, comprenant :

la formation d'un faisceau d'éclairage au moyen d'une source de lumière (210) à large bande spectrale;

la séparation du faisceau d'éclairage, au moyen d'un séparateur de faisceaux (204), en une première fraction de lumière et une deuxième fraction de lumière, ladite première fraction de lumière étant envoyée dans un bras de référence à l'extrémité duquel est agencé une surface réfléchissante de référence (207), ladite deuxième fraction de lumière étant envoyée dans un bras objet recevant un objet à imager (10) ;

la focalisation de ladite deuxième fraction de lumière, au moyen d'un premier objectif de microscope (202) agencé sur ledit bras objet et coopérant avec un dispositif de filtrage spatial confocal, pour éclairer ledit objet à imager selon une ligne de focalisation située dans un espace objet dudit objectif de microscope;

la sélection, au moyen dudit dispositif de filtrage spatial confocal, de la lumière rétrodiffusée par l'objet et provenant de ladite ligne de focalisation pour former une image unidimensionnelle de ladite ligne de focalisation sur une surface de détection linéaire (223) d'un détecteur (222);

la combinaison, au moyen dudit séparateur de faisceaux, de la lumière rétrodiffusée par l'objet ainsi sélectionnée et de la lumière issue de la réflexion par la surface réfléchissante du bras de référence de ladite

première fraction de lumière, pour générer une image interférométrique unidimensionnelle ;

le balayage unidirectionnel de ladite ligne de focalisation selon une direction latérale (y) sensiblement perpendiculaire à un axe optique (z) dudit premier objectif de microscope, au moyen d'un dispositif de balayage (235, 237) agencé sur ledit bras objet en amont dudit premier objectif de microscope;

la production, au moyen d'une unité de traitement (240) d'au moins une image tomographique bidimensionnelle *en face* dudit objet à observer, agencée dans un plan (x, y) sensiblement perpendiculaire audit axe optique de l'objectif de microscope, à partir d'une pluralité d'images interférométriques unidimensionnelles acquises par ledit détecteur pour différentes positions de ladite ligne de focalisation au cours dudit balayage unidirectionnel.

12. Procédé de microscopie selon la revendication 11, dans lequel la production de ladite au moins une image tomographique bidimensionnelle *en face* dudit objet comprend :

la production d'une pluralité d'images tomographiques unidimensionnelles dudit objet, chaque image de ladite pluralité d'images tomographiques unidimensionnelles étant produite à partir d'une pluralité d'images interférométriques unidimensionnelles acquises par ledit détecteur pour différentes positions de ladite ligne de focalisation au cours dudit balayage unidirectionnel; et

la production de ladite image tomographique bidimensionnelle *en face* dudit objet à partir de ladite pluralité des images tomographiques unidimensionnelles.

13. Procédé de microscopie selon la revendication 11, dans lequel la production de ladite au moins une image tomographique bidimensionnelle *en face* dudit objet comprend :

la production d'une pluralité d'images tomographiques unidimensionnelles dudit objet, chaque image de ladite pluralité d'images tomographiques unidimensionnelles étant produite à partir d'une pluralité d'images

interférométriques unidimensionnelles acquises par ledit détecteur pour différentes positions de la surface réfléchissante de référence (207) ou pour différentes positions d'une surface réfléchissante de renvoi (402) agencé dans le bras de référence; et

la production de ladite image tomographique bidimensionnelle *en face* dudit objet à partir de ladite pluralité des images tomographiques unidimensionnelles.

14. Procédé de microscopie selon la revendication 13, comprenant en outre :

pour chaque image de ladite pluralité d'images tomographiques unidimensionnelles, l'introduction d'un déplacement axial additionnel de ladite surface réfléchissante de référence ou de ladite surface réfléchissante de renvoi, permettant de compenser un déphasage introduit par le dispositif de balayage de la ligne de focalisation.

15. Procédé de microscopie selon l'une quelconque des revendications 11 à 14, comprenant en outre :

le déplacement axial de ladite ligne de focalisation en profondeur dans l'objet, selon une direction parallèle audit axe optique dudit premier objectif de microscope;

la production d'une image tridimensionnelle dudit objet à observer, à partir d'une pluralité d'images *en face* produites pour différentes profondeurs de la ligne de focalisation.

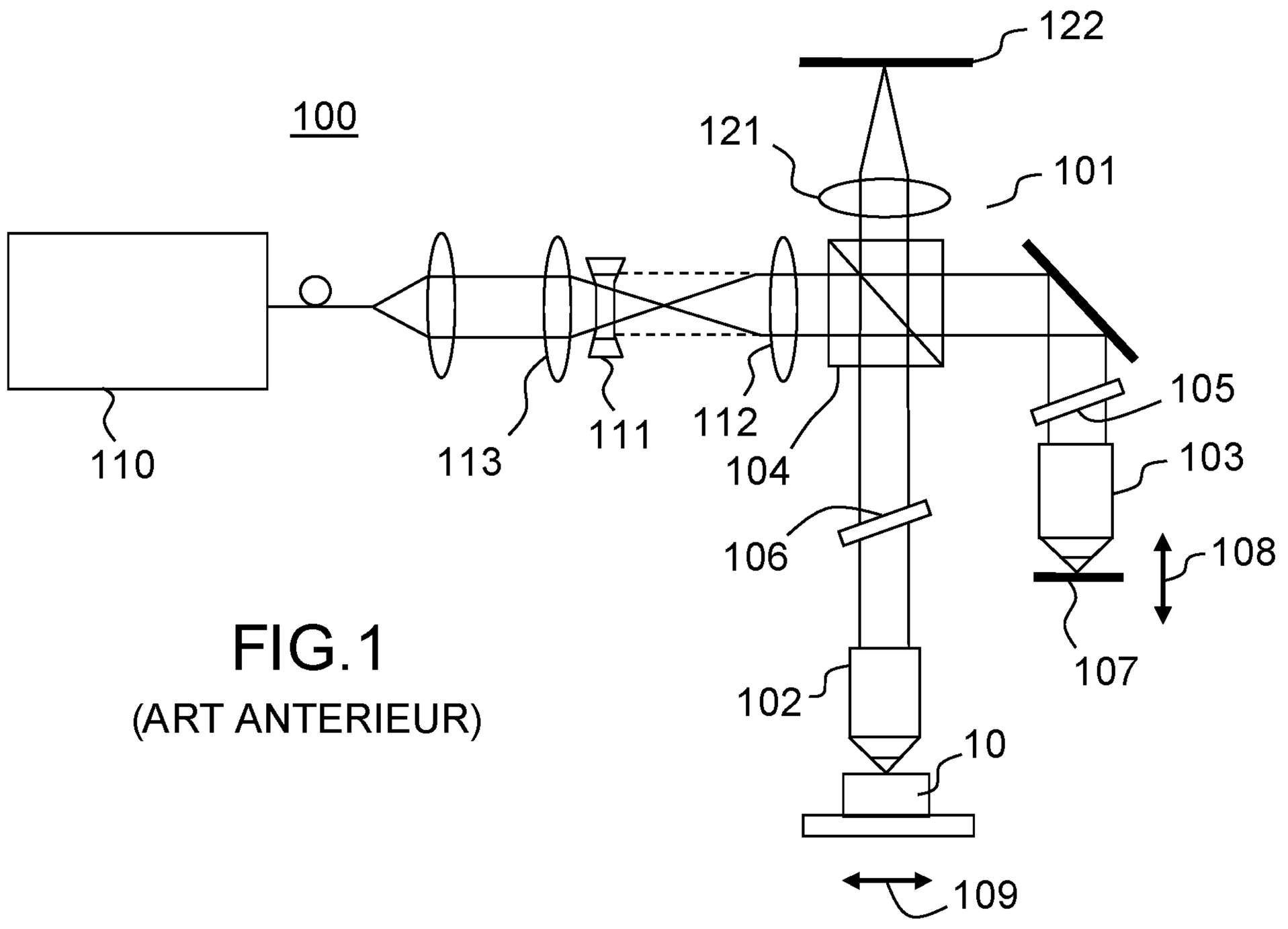


FIG.1
(ART ANTERIEUR)

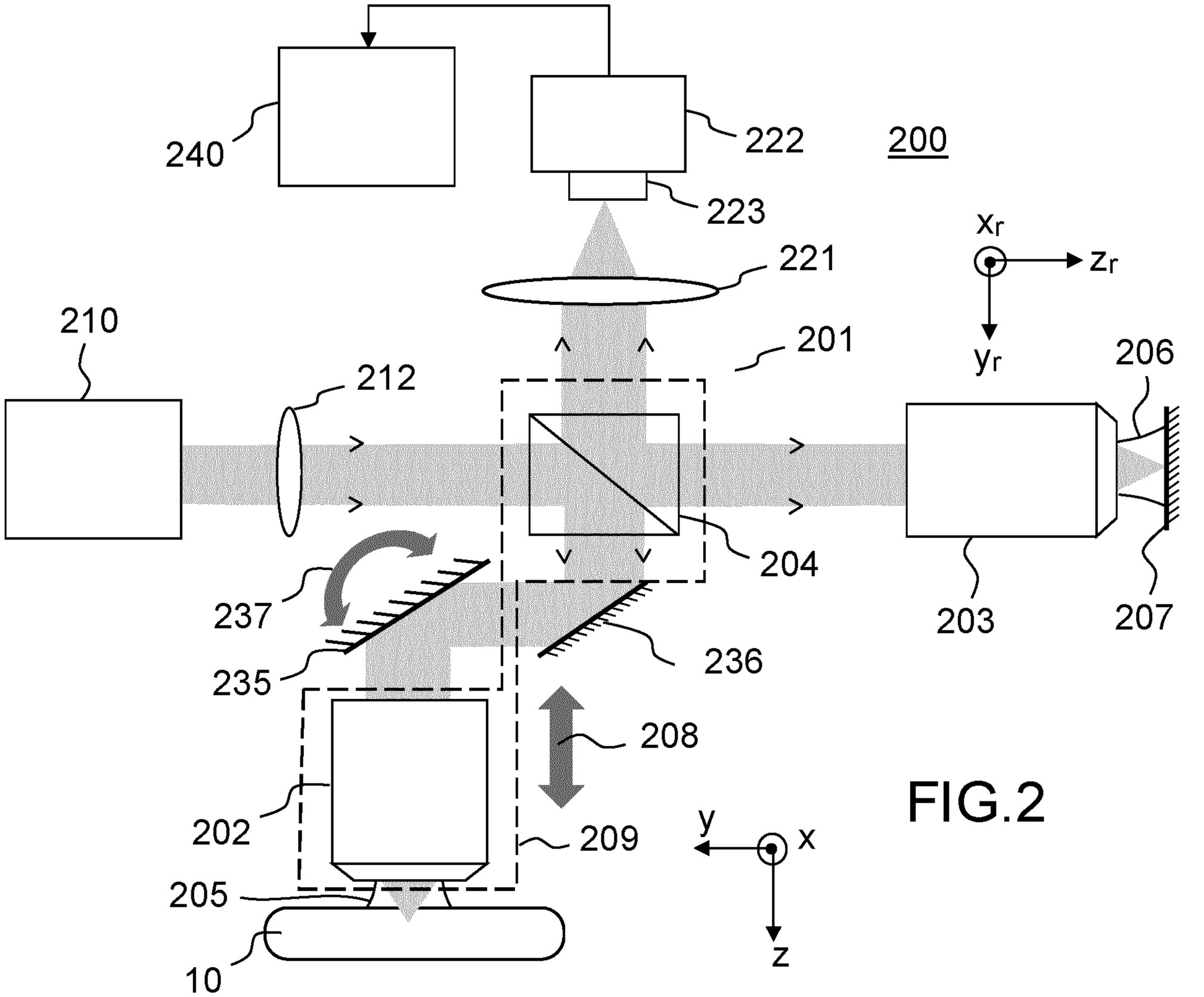


FIG.2

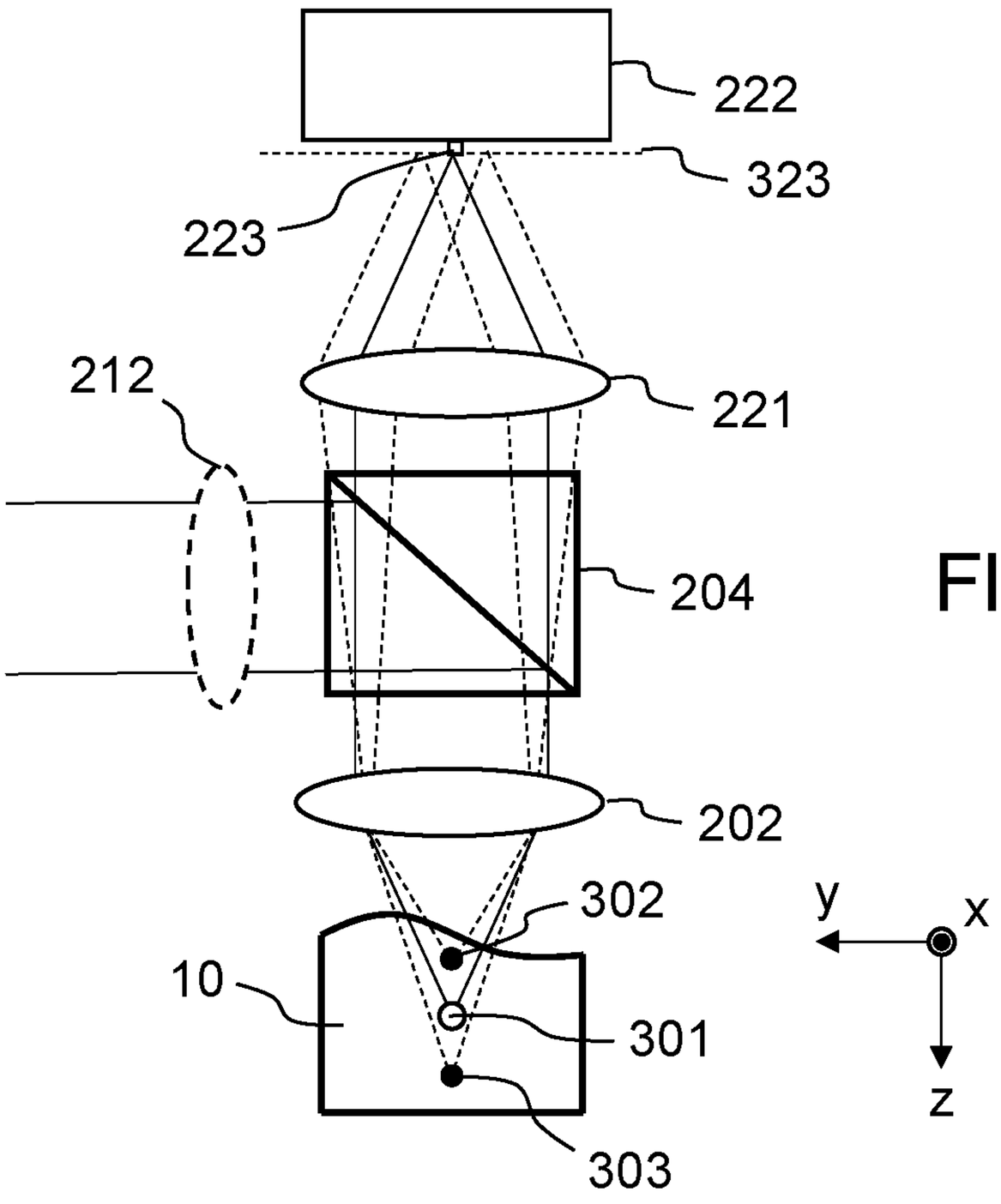

222
323
223
212
221
204
202
302
10
301
303
y
x
z

FIG.3A

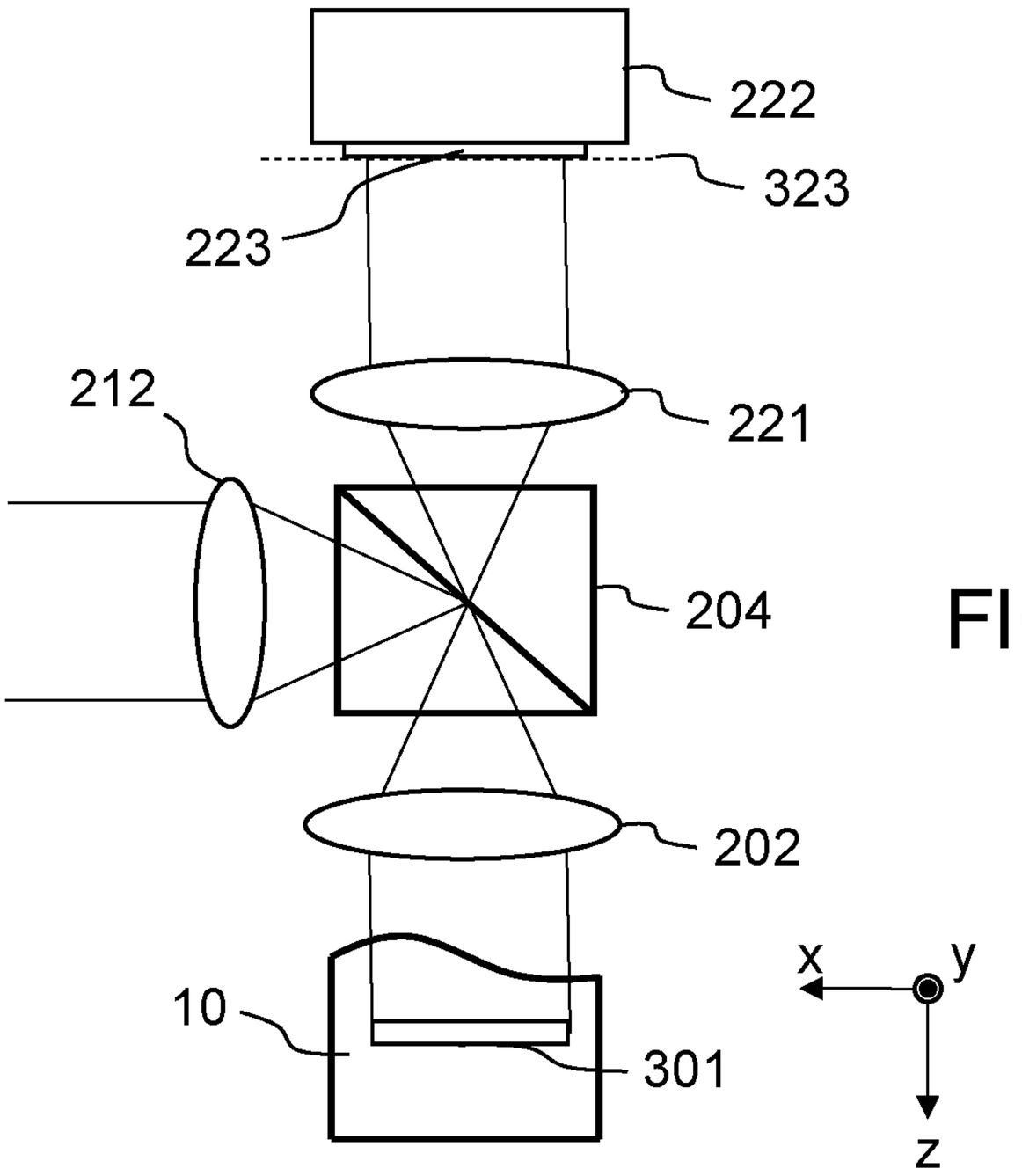

222
323
223
212
221
204
202
10
301
x
y
z

FIG.3B

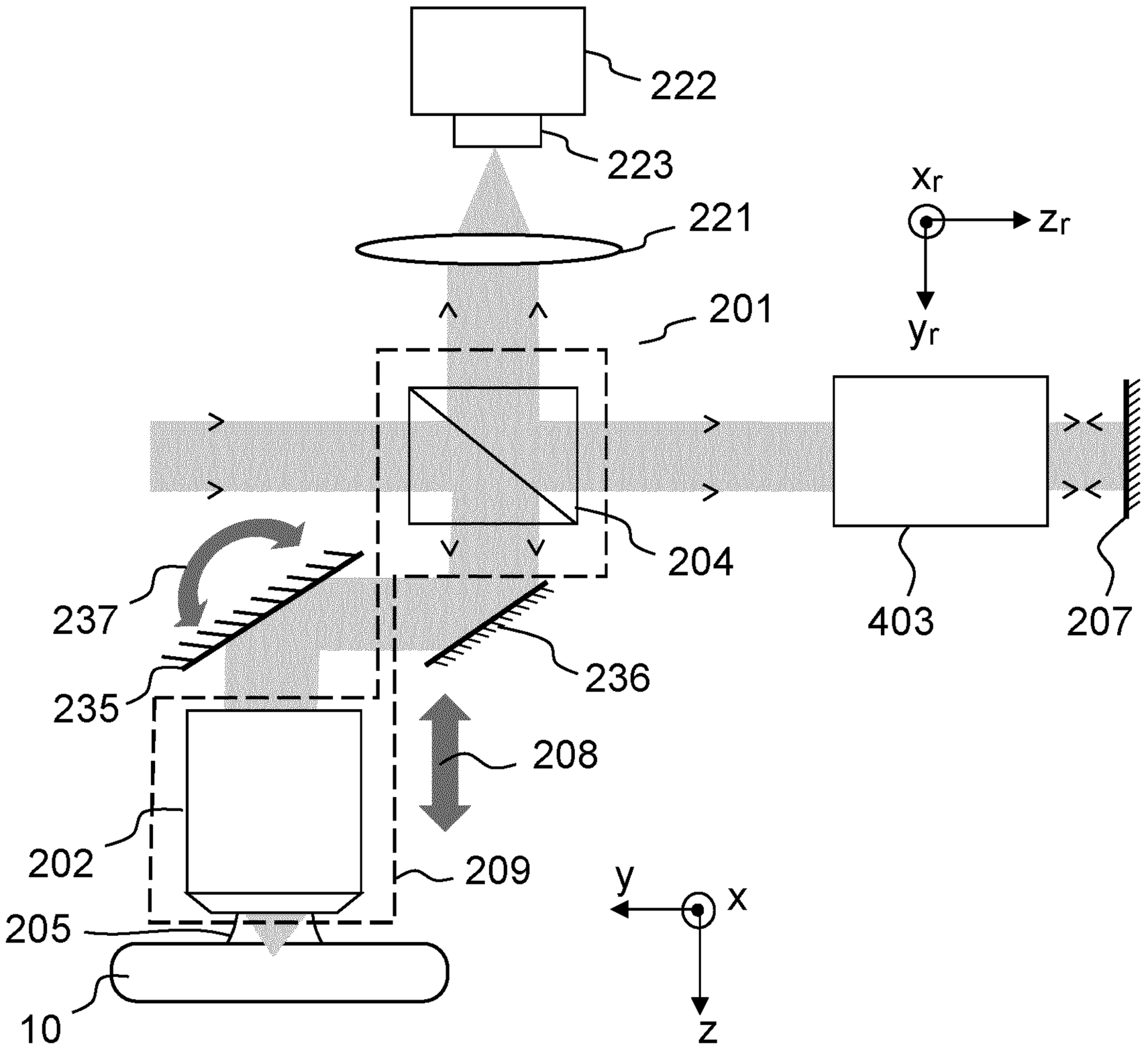

222
223
221
201
204
237
235
236
208
202
209
205
10
403
207
x_r
z_r
y_r
y
x
z

FIG.4A

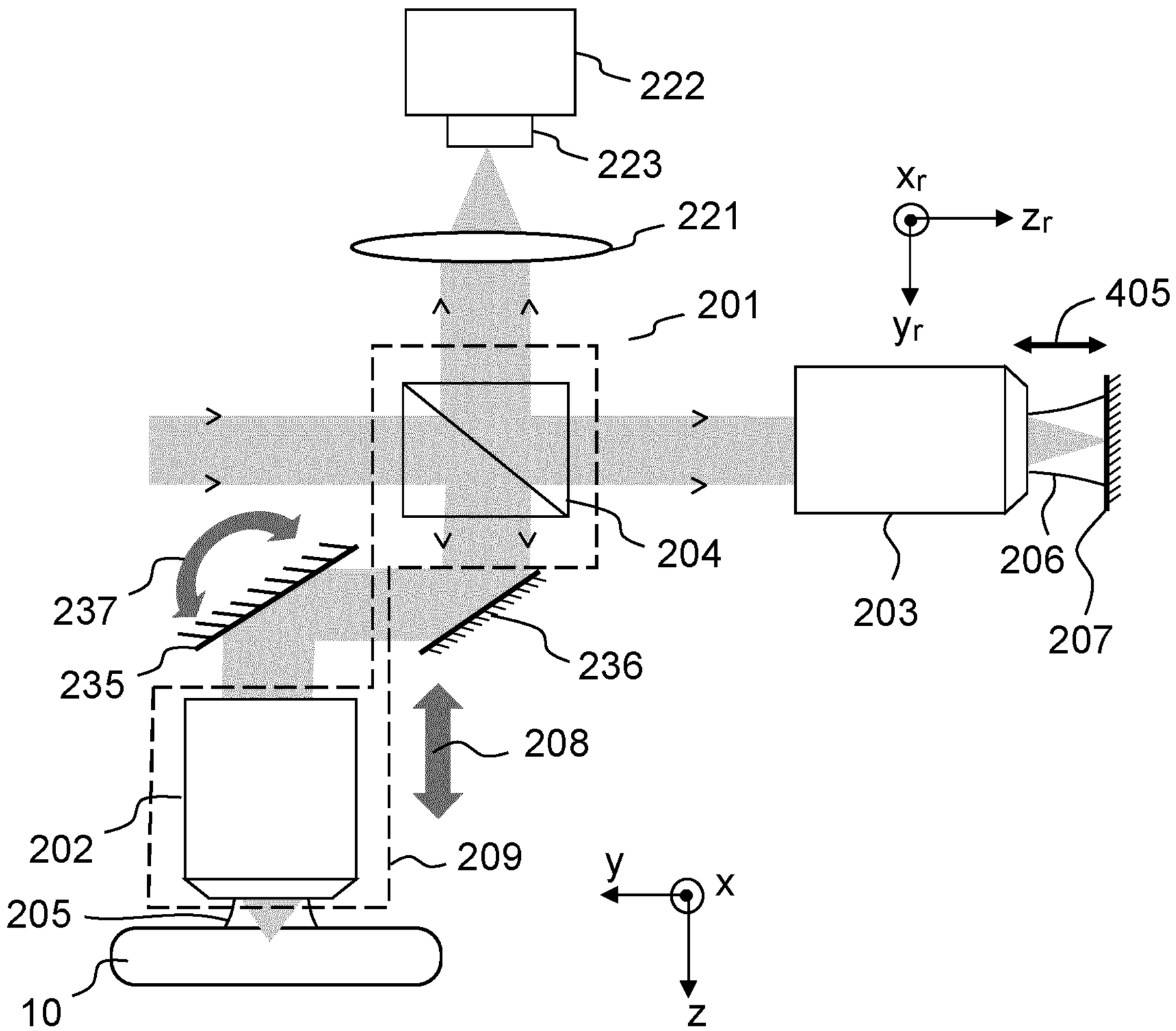

222
223
221
201
204
237
235
236
208
202
209
205
10
x_r
z_r
y_r
405
206
203
207
y
x
z

FIG.4B

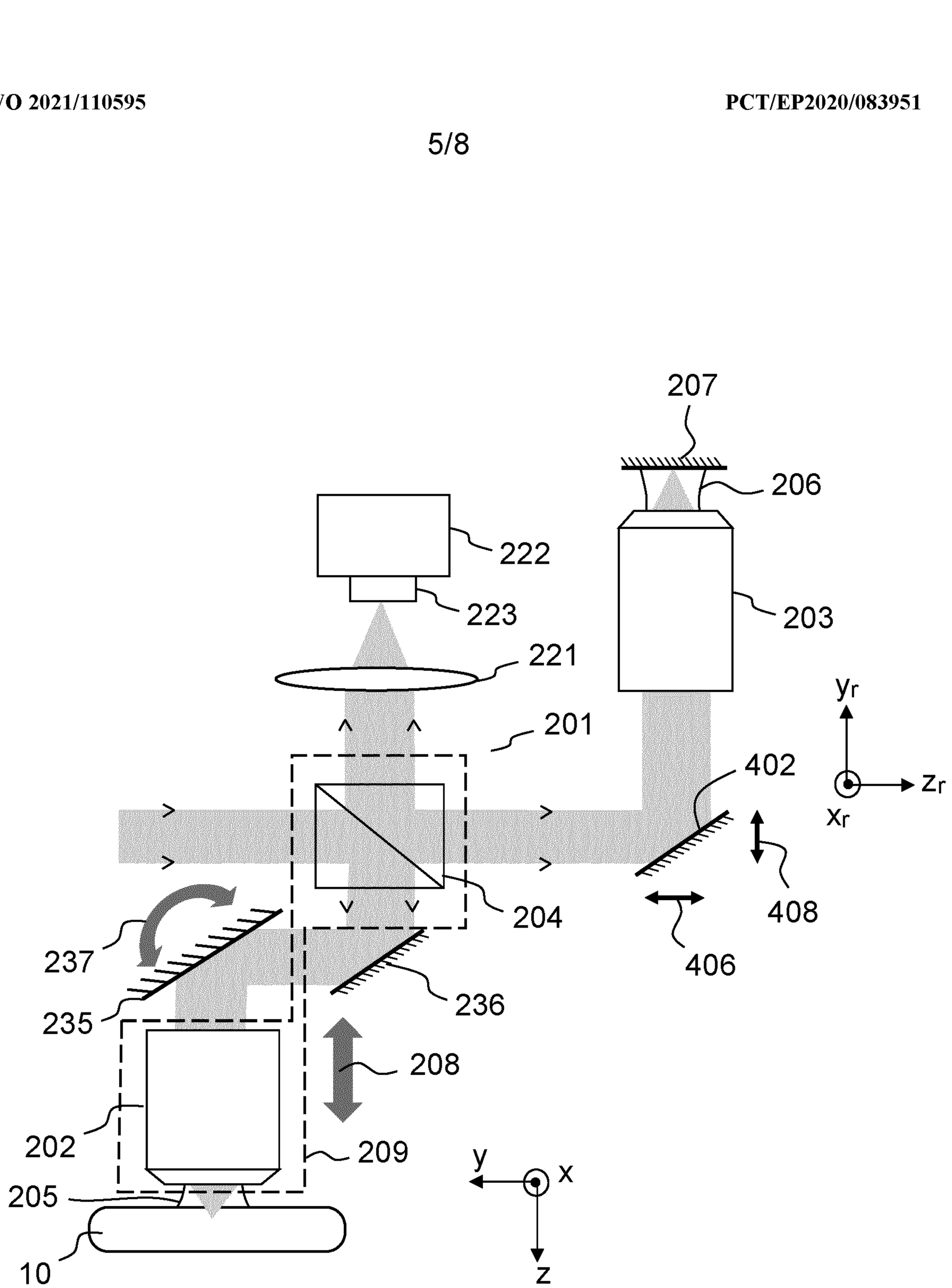

207
206
222
223
203
221
201
402
204
237
236
235
208
202
209
205
10
408
406
yr
zr
xr
y
x
z

FIG.4C

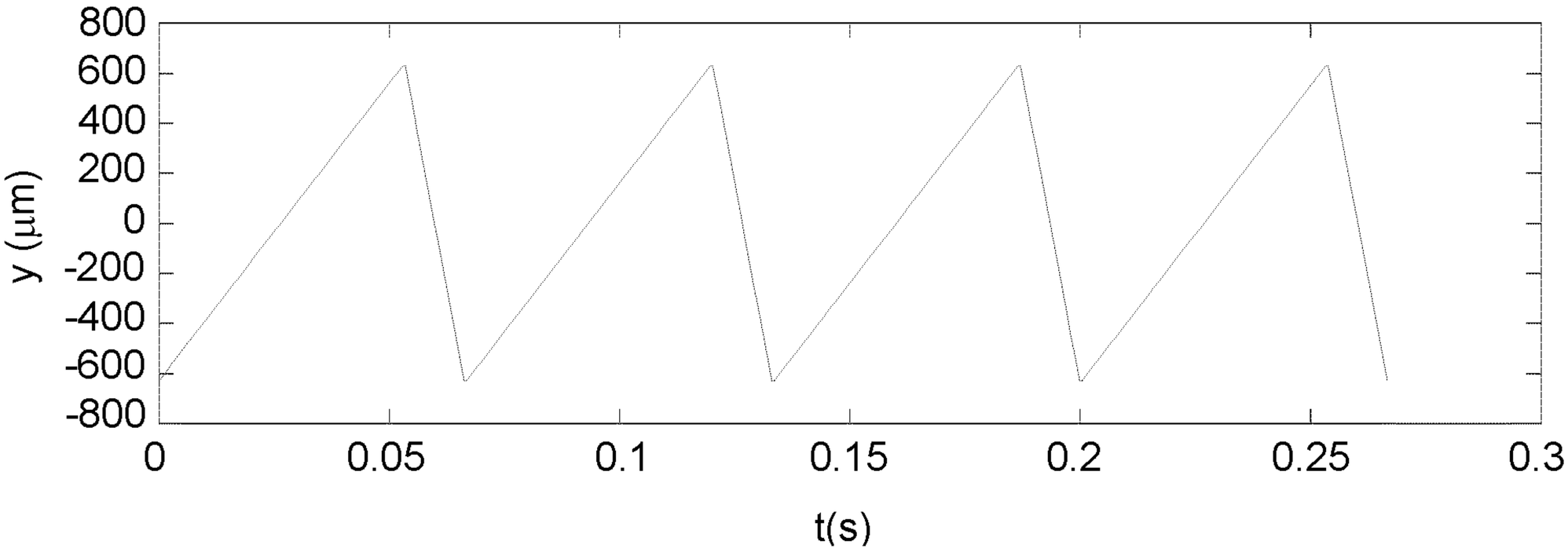


FIG.5A

FIG.5B

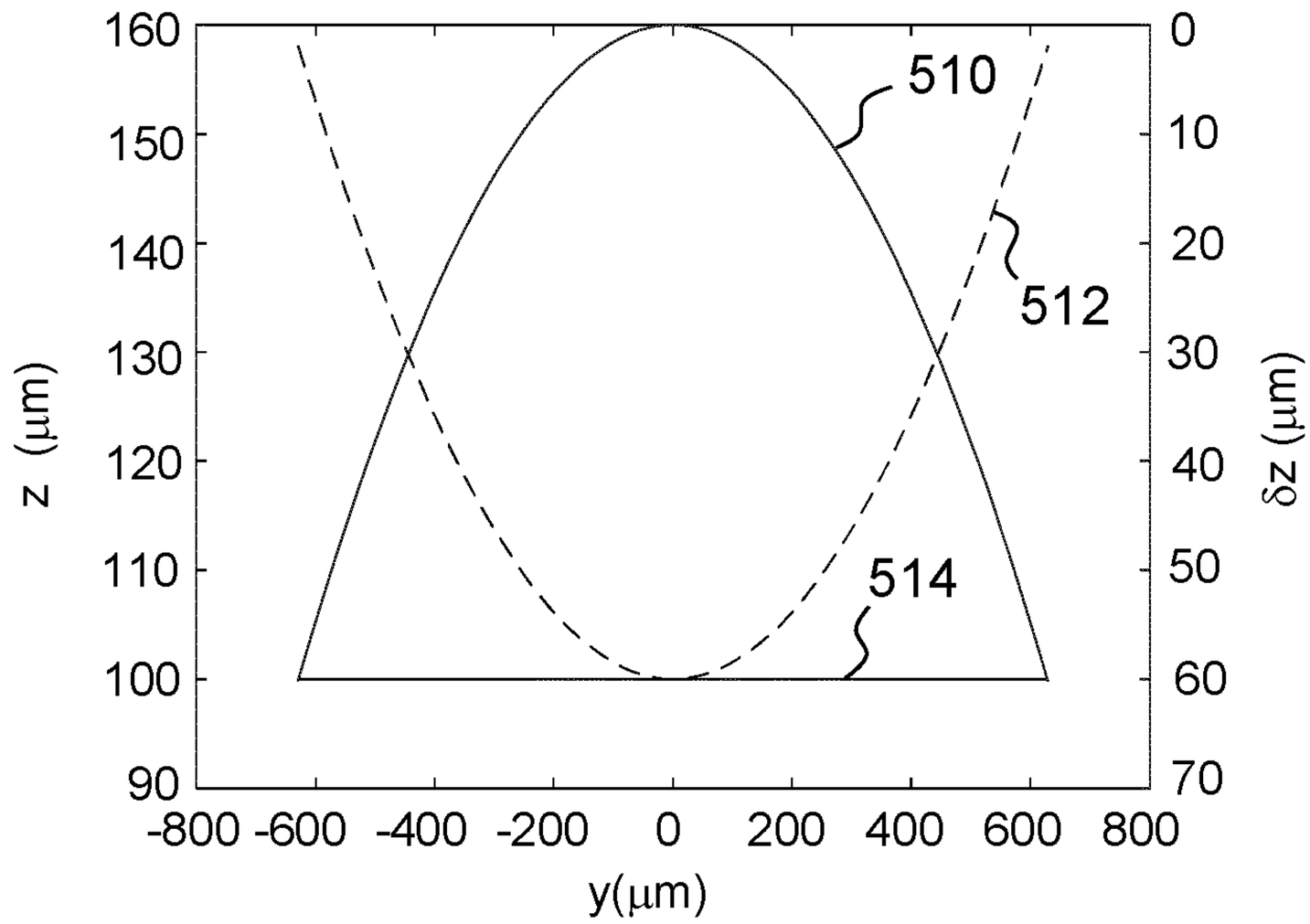
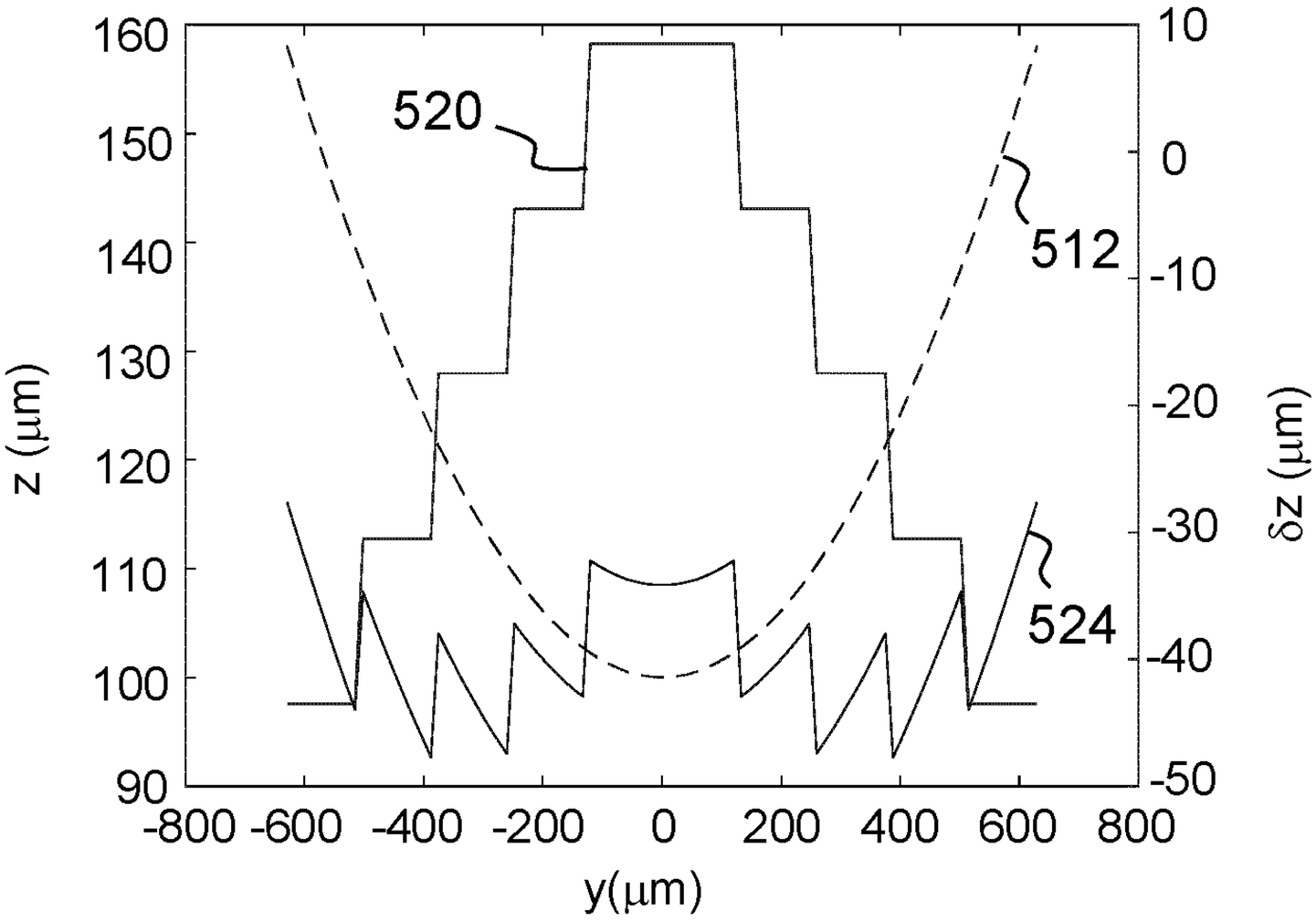


FIG.5C



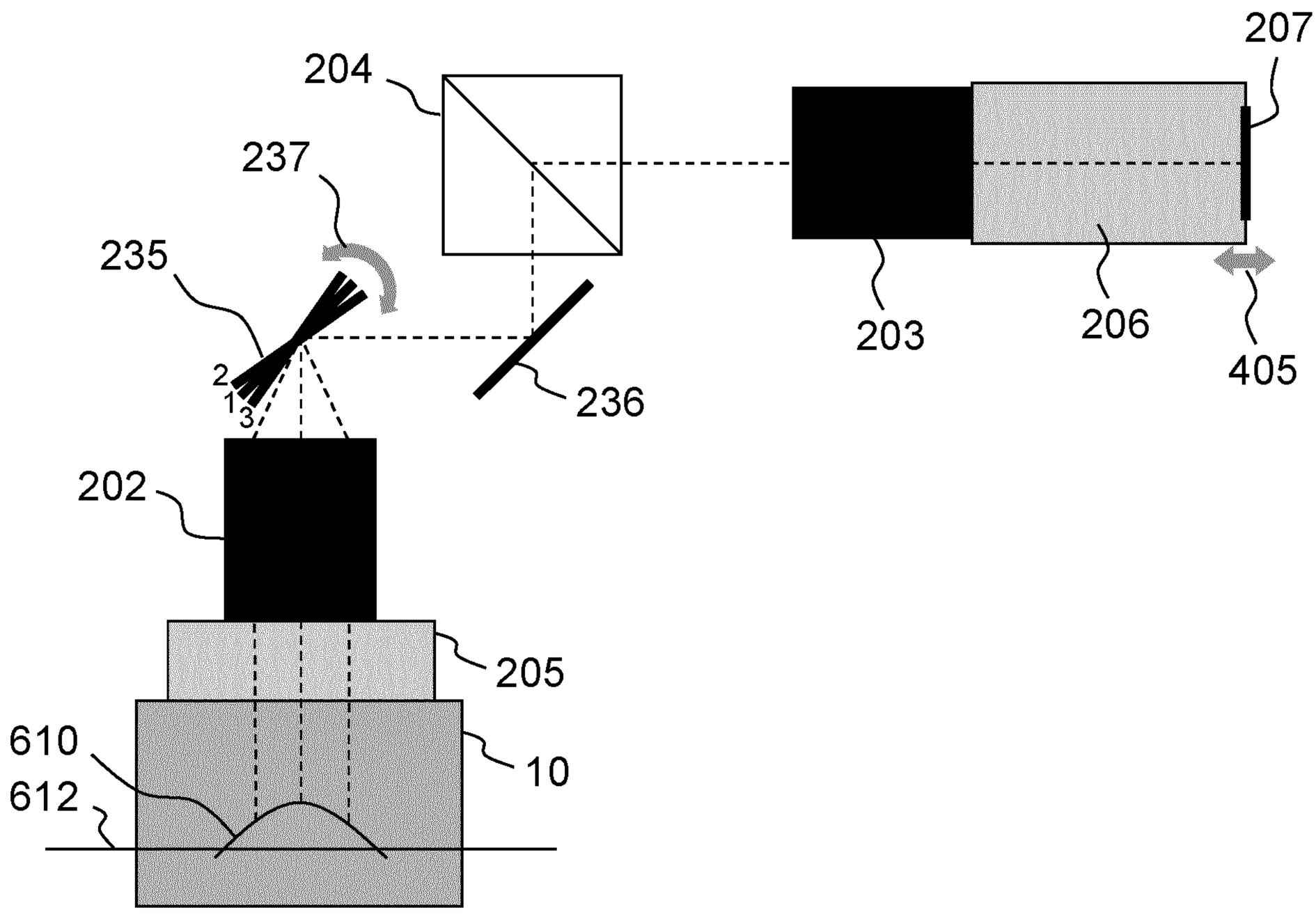

204
237
235
2
1
3
236
207
203
206
405
202
205
610
612
10

FIG.6A

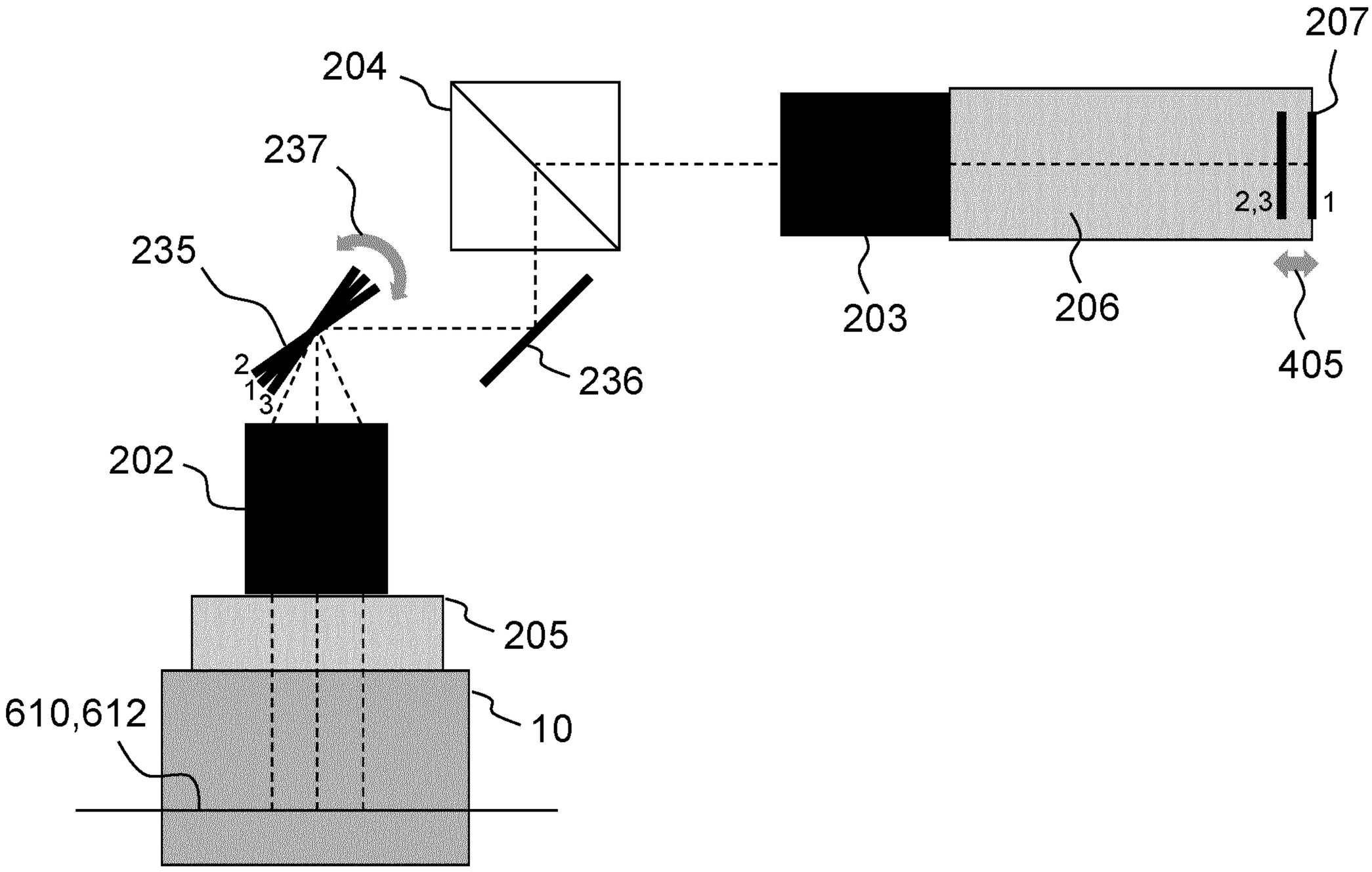

204
237
235
2
1
3
236
207
2,3
1
203
206
405
202
205
610,612
10

FIG.6B

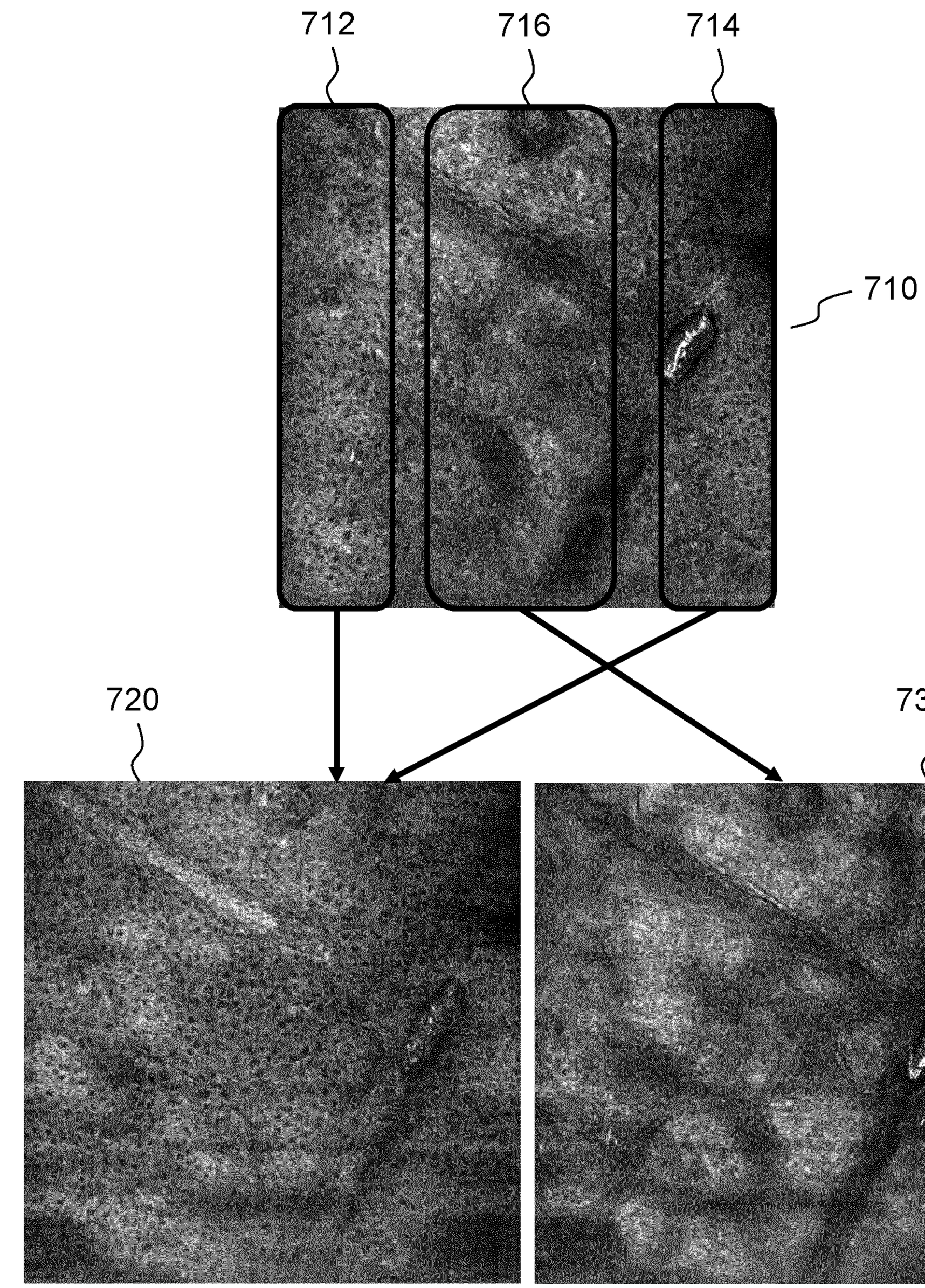


FIG.7

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/EP2020/083951

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

G02B 21/00(2006.01)i; ***G02B 21/36***(2006.01)i; ***G01N 21/45***(2006.01)i; ***G01B 9/02***(2006.01)i; ***G01B 9/04***(2006.01)i

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

G02B; G01N

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

EPO-Internal

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	YU CHEN ET AL. "Real-Time Imaging of Biological Tissues using High Resolution Line-Scanning Optical Coherence Microscopy" *CLEO '07. 2007 CONFERENCE ON LASERS AND ELECTRO-OPTICS 5-11 MAY 2007 BALTIMORE, MD, USA, OSA, PISCATAWAY, NJ, USA,* 06 May 2007 (2007-05-06), pages 1-2 ISBN: 978-1-55752-834-6. XP031230743 page 1, paragraph 1 - paragraph 2 figure 1(A)	1-15

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
09 February 2021	**17 February 2021**
Name and mailing address of the ISA/EP **European Patent Office** **p.b. 5818, Patentlaan 2, 2280 HV Rijswijk** **Netherlands** Telephone No. **(+31-70)340-2040** Facsimile No. **(+31-70)340-3016**	Authorized officer **Denise, Christophe** Telephone No.

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demande internationale n°
PCT/EP2020/083951

A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE
INV. G02B21/00 G02B21/36 G01N21/45 G01B9/02 G01B9/04
ADD.

Selon la classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB

B. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTE

Documentation minimale consultée (système de classification suivi des symboles de classement)
G02B G01N

Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où ces documents relèvent des domaines sur lesquels a porté la recherche

Base de données électronique consultée au cours de la recherche internationale (nom de la base de données, et si cela est réalisable, termes de recherche utilisés)
EPO-Internal

C. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

Catégorie*	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
X	YU CHEN ET AL: "Real-Time Imaging of Biological Tissues using High Resolution Line-Scanning Optical Coherence Microscopy", CLEO '07. 2007 CONFERENCE ON LASERS AND ELECTRO-OPTICS 5-11 MAY 2007 BALTIMORE, MD, USA, OSA, PISCATAWAY, NJ, USA, 6 mai 2007 (2007-05-06), pages 1-2, XP031230743, ISBN: 978-1-55752-834-6 page 1, alinéa 1 - alinéa 2 figure 1(A) -----	1-15

☐ Voir la suite du cadre C pour la fin de la liste des documents

☐ Les documents de familles de brevets sont indiqués en annexe

* Catégories spéciales de documents cités:

"A" document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent

"E" document antérieur, mais publié à la date de dépôt international ou après cette date

"L" document pouvant jeter un doute sur une revendication de priorité ou cité pour déterminer la date de publication d'une autre citation ou pour une raison spéciale (telle qu'indiquée)

"O" document se référant à une divulgation orale, à un usage, à une exposition ou tous autres moyens

"P" document publié avant la date de dépôt international, mais postérieurement à la date de priorité revendiquée

"T" document ultérieur publié après la date de dépôt international ou la date de priorité et n'appartenenant pas à l'état de la technique pertinent, mais cité pour comprendre le principe ou la théorie constituant la base de l'invention

"X" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive par rapport au document considéré isolément

"Y" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier

"&" document qui fait partie de la même famille de brevets

Date à laquelle la recherche internationale a été effectivement achevée	Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale
9 février 2021	17/02/2021

Nom et adresse postale de l'administration chargée de la recherche internationale	Fonctionnaire autorisé
Office Européen des Brevets, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016	Denise, Christophe

Formulaire PCT/ISA/210 (deuxième feuille) (avril 2005)