(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
13 juin 2013 (13.06.2013)

WIPO | PCT

(10) Numéro de publication internationale
WO 2013/083563 A1

(51) Classification internationale des brevets :
G03H 1/08 (2006.01) *G03H 1/04* (2006.01)
G01B 9/021 (2006.01)

(21) Numéro de la demande internationale :
PCT/EP2012/074362

(22) Date de dépôt international :
4 décembre 2012 (04.12.2012)

(25) Langue de dépôt : français

(26) Langue de publication : français

(30) Données relatives à la priorité :
11192638.2 8 décembre 2011 (08.12.2011) EP

(71) Déposant : **UNIVERSITE LIBRE DE BRUXELLES** [BE/BE]; Avenue Franklin Roosevelt 50 CP 161, B-1050 Bruxelles (BE).

(72) Inventeurs : **DUBOIS, Frank;** Avenue Jeanne 27, B-1050 Bruxelles (BE). **YOURASSOWSKY, Catherine;** Avenue Jeanne 27, B-1150 Bruxelles (BE).

(74) Mandataire : **PRONOVEM - OFFICE VAN MALDEREN;** Av. Josse Goffrn 158, B-1082 Bruxelles (BE).

(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, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, 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, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, 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, 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, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Publiée :

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

(54) **Title** : HOLOGRAPHIC DIFFERENTIAL PHASE INTEGRATION METHOD

(54) **Titre** : METHODE D'INTEGRATION DE PHASE HOLOGRAPHIQUE DIFFERENTIELLE

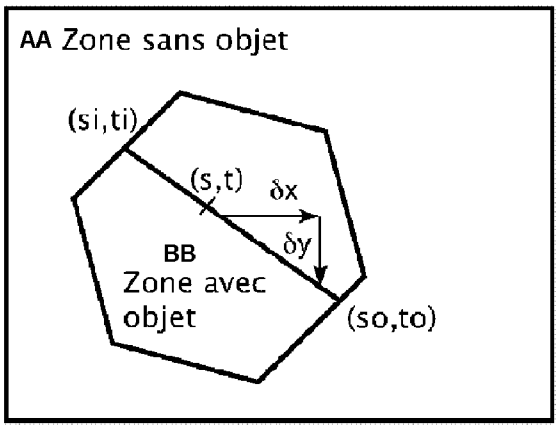


Fig. 4

AA Object-free region
BB Region with object

(57) **Abstract** : The présent invention relates to a method for integrating a differential phase image comprising steps of: obtaining a differential phase image using digital differential holographie microscopy, for which image an object to be analysed is placed in front of the interferometer; obtaining a bright field image of the object; from said bright field image, determining régions of the differential phase image that are not disturbed by the object; attributing a preset phase value to said régions that are not disturbed by the object; numerically integrating the differential phase image from the edges of the image assuming an arbitrary constant of intégration for thèse edges in order to obtain a raw phase image; and correcting the raw phase image by subtracting a continuous fonction such that the value of the corrected phase image in the object-free régions takes the preset phase value.

(57) **Abrégé** : La présente invention se rapporte à une méthode d'intégration d'une image de phase différentielle comprenant les étapes de : · - obtenir une image de phase différentielle utilisant la microscopie holographique digitale différentielle, pour laquelle un objet à analyser est placé avant l'interféromètre; · - obtenir une image d'intensité lumineuse de l'objet;

[Suite sur la page suivante]

WO 2013/083563 A1

• - à partir de ladite image d'intensité lumineuse, déterminer des zones de l'image de phase différentielle n'étant pas perturbées par un objet; · - attribuer une valeur de phase prédéterminée auxdites zones non perturbées par un objet; · - intégrer numériquement l'image de phase différentielle à partir des bords de l'image en considérant une constante d'intégration arbitraire pour ces bords pour obtenir une image de phase brute; · - corriger l'image de phase brute par soustraction d'une fonction continue telle que la valeur de l'image de phase corrigée dans les zones sans objet prenne la valeur de phase prédéterminée.

METHODE D'INTEGRATION DE PHASE HOLOGRAPHIQUE DIFFERENTIELLE

Objet de l'invention

[0001] La présente invention se rapporte à une méthode d'intégration d'une représentation holographique différentielle afin de déterminer la phase optique de cette représentation .

Etat de la technique

[0002] La microscopie en holographie digitale permet d'obtenir la phase optique quantitative d'un objet qui constitue une mesure précise de son épaisseur optique en mode de transmission ou de son relief en mode réflectif [1-5]. Cette fonctionnalité contribue fortement à l'intérêt qui est porté à la microscopie en holographie digitale car elle permet 1'implémentation d'une technique de contraste de phase quantitative inédite en microscopie optique classique avec une précision de l'ordre de quelques nanomètres [5-6].

[0003] L'instrumentation utilisée pour implémenter ce mode de fonctionnement est 1'interférométrie optique. En transmission, on utilise souvent un interféromètre à 2 canaux optiques de type Mach-Zehnder ou Michelson dans lequel un des canaux, dit canal objet, comporte l'échantillon et un objectif de microscope qui réalise l'image de l'échantillon sur le senseur d'une caméra (faisceau lumineux objet) . Le deuxième canal, dit de référence, donne lieu au faisceau lumineux de référence qui

interfère optiquement avec le faisceau objet. La phase optique est obtenue par un calcul numérique effectué sur la figure d'interférence enregistrée.

[0004] En holographie digitale, on enregistre également l'intensité lumineuse de l'objet. Cette information couplée à la phase optique permet de reconstituer l'amplitude complexe provenant de l'échantillon. Grâce à l'amplitude complexe, il devient possible, par le procédé de reconstruction holographique, de pouvoir remettre nette l'image d'un objet qui a été enregistrée floue [2-6] .

[0005] L'implémentation de ce type de microscopie avec un interféromètre à deux canaux présente toutefois des inconvénients :

- L'utilisation de deux faisceaux séparés nécessite 1'implémentation de sources lumineuses optiques de cohérence optique élevée. Même si certaines configurations permettent l'utilisation des sources de cohérence partielle [4,6], elles sont toujours plus cohérentes que celles utilisées en microscopie optique classique. Or, plus la cohérence de la source est importante, plus le bruit dit de cohérence augmente et on obtient donc généralement des images plus bruitées (speckle) qu'en microscopie classique.
- Le fait de placer l'échantillon dans un des bras de 1'interféromètre peut changer la direction globale du faisceau objet et peut donc induire un désalignement entre les faisceaux objet et de référence. Il est donc souvent nécessaire de réaligner le microscope holographique après l'introduction de l'échantillon, et lors de chaque changement d'échantillon.
- L'interférométrie à deux canaux est très sensible aux directions relatives des faisceaux objet et de

référence. Si l'objet dévie fortement le faisceau qui l'illumine, la densité de franges de la figure d'interférence augmente et on se retrouve rapidement dans une situation dans laquelle les franges ne peuvent plus être résolues par le senseur de la caméra .

[0006] Pour éviter ces inconvénients, on peut utiliser la microscopie holographique digitale dite différentielle [7,8]. Avec ce type d'instrument, l'objet est placé sur le trajet optique avant 1'interféromètre . En transmission, le faisceau lumineux provenant de l'objet passe au travers d'un interféromètre à deux bras qui introduit un petit décalage spatial entre les deux faisceaux lorsqu'ils sont incidents sur le senseur. La figure d'interférence des deux faisceaux permet alors de calculer la phase différentielle suivant la direction du décalage spatial entre les deux faisceaux lumineux. Le document EP 1631788 décrit ce type de dispositifs.

[0007] Cette configuration évite tous les inconvénients de la microscopie holographique tels que décrits ci-dessus :

- des sources de cohérence très réduite peuvent être utilisées ;
- 1'interféromètre est peu sensible au désalignement quand on place l'échantillon car celui-ci est placé à 1'extérieur ;
- il ne faut pas réaligner 1'interféromètre quand on change l'objet car il est placé à l'extérieur de 1'interféromètre ;
- en mesurant la phase différentielle, même quand l'objet introduit une déviation importante de la direction du faisceau lumineux, la figure d'interférence garde des franges suffisamment espacées

sur le senseur évitant ainsi le problème de résolution au niveau du senseur.

La configuration en holographie digitale différentielle est donc très intéressante pour de nombreuses applications.

[0008] Toutefois, pour des évaluations quantitatives des échantillons, il est souvent plus avantageux de mesurer la phase plutôt que la phase différentielle. Il y a donc un processus de calcul à effectuer qui permet d'obtenir la phase directe à partir de la phase différentielle.

[0009] Néanmoins, ce processus d'intégration nécessite la connaissance des conditions aux limites (constantes d'intégrations) à partir desquelles on intègre de proche en proche. Généralement, dans l'art antérieur, on considère arbitrairement une valeur constante sur deux bords de l'image, à partir desquels on intègre numériquement la phase différentielle. Cette fixation arbitraire induit alors des erreurs se propageant sur l'ensemble de l'image, en particulier lorsque des objets se trouvent sur ces bords.

Buts de 1'invention

[0010] La présente invention vise à fournir une méthode de calcul de la phase optique d'une représentation holographique à partir de sa phase différentielle.

Résumé de 1'invention

[0011] La présente invention se rapporte à une méthode d'intégration d'une image de phase différentielle comprenant les étapes de :

- déterminer des zones de l'image de phase différentielle n'étant perturbées par un objet ;
- attribuer une valeur prédéterminée auxdites zones non perturbées par un objet;

- intégrer l'image de phase différentielle à partir des bords de l'image en considérant une constante d'intégration arbitraire pour ces bords pour obtenir une image de phase brute ;
- corriger l'image de phase brute par soustraction d'une fonction continue telle que la valeur de l'image de phase corrigée dans les zones sans objet prenne la valeur prédéterminée.

[0012] De préférence, ladite valeur prédéterminée attribuée aux zones non perturbées par l'objet est une constante, de préférence égale à zéro.

[0013] Avantageusement, la fonction continue est déterminée sur une droite d'intégration donnée par interpolation linéaire de l'image de phase brute entre les deux points d'intersection de la droite d'intégration avec les limites de l'objet, cette détermination étant faite lorsque les deux points d'intersection appartiennent à 1'image .

[0014] De préférence, la fonction continue est égale, sur une droite d'intégration donnée, à la valeur de la phase brute à l'intersection de ladite droite d'intégration avec la limite de l'objet, cette égalité étant appliquée lorsqu'un seul point d'intersection entre ladite droite d'intégration et la limite de l'objet se trouve à l'intérieur de l'image.

[0015] Avantageusement, la détermination des zones non perturbées par un objet est effectuée à partir de l'image d'intensité lumineuse.

[0016] Avantageusement, la détermination des zones non perturbées par l'objet comprend les étapes suivantes :

- calcul de la transformée de Fourier de l'image d'intensité lumineuse I(u,v);

- filtrage passe haut de I(u,v) par une fonction 1-g(u,v), pour obtenir la transformée filtrée I'(u,v), g(u,v) est une fonction gaussienne centrée sur (u,v) = (0,0) ;
- calcul de la transformée inverse i'(s,t) de I'(u,v) ;
- calcul du module carré $|i'(s,t)|^2$ de la transformée inverse ;
- filtrage passe bas du module carré $|i'(s,t)|^2$;
- application d'une fonction de seuil qui met à 0 les zones où le module carré $|i'(s,t)|^2$ est inférieur à un seuil prédéterminé, et à 1 les zones ou le module carré est supérieur au seuil prédéterminé.

Description des figures

[0017] La figure 1 représente le recouvrement des faisceaux diffractés et non diffractés sur le senseur pour un objet hors focus .

[0018] La figure 2 représente la reconstruction holographique de l'image de l'objet et de son conjugué.

[0019] La figure 3a représente une image d'intensité d'objets légèrement flous.

[0020] La figure 3b représente une image de détection des objets.

[0021] La figure 3c représente la multiplication point par point des images des fig. 3-a et fig. 3-b

[0022] Fig. 4 : Configuration pour la correction de phase en un point (s,t) .

[0023] Fig. 5 : Configuration pour la correction de phase en un point (s,t) appartenant à une zone qui intercepte un bord de l'image

[0024] La figure 6a représente une image de phase différentielle (cellules animales en suspension)

[0025] La figure 6b représente la phase différentielle intégrée de l'image de la figure 6a utilisant la méthode proposée.

[0026] La figure 7a représente la phase mesurée de façon directe.

[0027] La figure 7b représente la phase différentielle intégrée sans processus de correction, correspondant à la figure 7a.

Description détaillée de l'invention

[0028] Pour obtenir la phase optique à partir de la phase différentielle, il faut effectuer une opération numérique d'intégration. Une méthode adaptée à cette situation est décrite ci-après.

[0029] On suppose que la phase différentielle initiale ait été obtenue par un processus de calcul adéquat de manière à éliminer les sauts de phase. Un exemple d'une telle procédure adéquate est décrit par Vyacheslav V. Volkov and Yimei Zhu, dans le document "Deterministic phase unwrapping in the présence of noise", OPTICS LETTERS, 28, 2156-2158 (2003) que nous incorporons ici par référence.

[0030] La phase optique d'un objet est exprimée par $\varphi_c(x,y)$. L'indice c indique qu'il s'agit d'un signal continu suivant les axes x et y du senseur 2D. La phase différentielle correspondante peut s'exprimer par :

$$\psi_c(x,y) = \varphi_c(x,y) - \varphi_c(x-\delta x, y-\delta y) \qquad (1)$$

où $(\delta x, \delta y)$ représente le déplacement différentiel entre les deux faisceaux.

[0031] Comme les signaux interférométriques sont détectés sur un senseur constitué d'une matrice de points

photosensibles avec un pas d'échantillonnage Δ généralement constant suivant les directions x et y, le signal échantillonné peut être exprimé selon l'équation:

$$\psi(s,t)=\psi_c(\Delta s,\Delta t) \quad (2)$$

Avec $s, t=-N/2,..., (N/2)-l,$ où N est le nombre de points par côté du senseur.

En utilisant 1'équation (1), il vient :

$$\psi_c(s\Delta,t\Delta)=\varphi_c(s\Delta,t\Delta)-\varphi_c(s\Delta,t\Delta-\delta y)+\varphi_c(s\Delta,t\Delta-\delta y)-\varphi_c(s\Delta-\delta x,t\Delta-\delta y) \quad (3)$$

[0032] En supposant que les variations des fonctions sont lentes à l'échelle de la dimension caractéristique de 1'échantillon Δ, il vient :

$$\psi_c(s\Delta,t\Delta)=\left(\varphi_c(s\Delta,t\Delta)-\varphi_c(s\Delta,t\Delta-\Delta)\right)\delta y+\left(\varphi_c(s\Delta,t\Delta-\Delta)-\varphi_c(s\Delta-\Delta,t\Delta-\Delta)\right)\delta x$$

Ou encore :

$$\psi_c(s\Delta,t\Delta)\approx\left(\varphi_c(s\Delta,t\Delta)-\varphi_c(s\Delta,t\Delta-\Delta)\right)\delta y+\left(\varphi_c(s\Delta,t\Delta)-\varphi_c(s\Delta-\Delta,t\Delta)\right)\delta x \quad (4)$$

En utilisant la notation $\varphi(s,t)=\varphi_c(\Delta s,\Delta t)$, l'équation (4) devient :

$$\psi(s,t)\approx\left(\varphi(s,t)-\varphi(s,t-1)\right)\delta y+\left(\varphi_c(s,t)-\varphi_c(s-1,t)\right)\delta x \quad (5)$$

En isolant le terme $\varphi(s,t)$ dans un membre de l'équation, il vient :

$$\varphi(s,t)=\frac{\psi(s-1,t-1)}{\delta x+\delta y}+\delta x\frac{\varphi(s-1,t)}{\delta x+\delta y}+\delta y\frac{\varphi(s,t-1)}{\delta x+\delta y} \quad (6)$$

[0033] L'équation (6) permet donc de calculer la phase $\varphi(s,t)$ connaissant $\varphi(s-1,t)$, $\varphi(s,t-1)$ et la phase différentielle $\psi(s-1,t-1)$. Connaissant la phase sur le bord supérieur ***(s=-N/2)*** et sur le bord gauche (t**=-*N*/**2) du senseur, nous pouvons donc par un balayage ligne par ligne calculer la phase intégrée en tout point du senseur.

[0034] La méthode d'intégration exprimée par l'équation (6) convient bien au cas de l'intégration de la phase différentielle car il arrive souvent dans des **situations réelles que le pas différentiel** $(\delta x,\delta y)$ **ne soit** pas constant sur tout le champ du senseur. Dans ce cas, l'équation (6) peut être utilisée à condition que l'on **adapte en chaque point les** $(\delta x,\delta y)$ **en fonction d'une** calibration préalable.

[0035] Dans le raisonnement qui précède l'hypothèse de la variation lente de la phase différentielle entre des points d'échantillonnage voisins a été faite. On peut donc s'attendre à obtenir des erreurs d'intégration qui se cumulent .

[0036] Toutefois, le processus d'intégration peut être fait de manière itérative pour éliminer ces erreurs : après une première itération, on évalue l'erreur en différenciant la phase intégrée et en soustrayant le résultat à la phase différentielle de départ. Le résultat de cette soustraction est réintégré en utilisant l'équation (6) pour calculer une correction de la phase intégrée initialement obtenue. Ce processus de correction peut être effectué plusieurs fois jusqu'à obtenir une phase intégrée en deçà d'un seuil d'erreur préalablement défini.

[0037] Le processus d'intégration ne peut toutefois pas s'appliquer seul car il nécessite la connaissance de la phase intégrée sur les bords supérieur et gauche du senseur. Il s'agit classiquement du problème de la détermination des constantes d'intégration. Généralement, dans l'art antérieur, ces constantes d'intégration sont fixées arbitrairement égales à zéro, ce qui produit des artéfacts à proximité de ces bords, ou des lignes ne correspondant pas à la réalité. Ces constantes d'intégration ne peuvent donc pas être connues *a priori* et il faut les établir grâce à une information supplémentaire. Pour cela, la présente invention utilise l'information d'intensité lumineuse comme décrit à la section suivante.

Détermination des constantes d'intégration grâce à l'intensité lumineuse

[0038] Un microscope holographique différentiel fournit à la fois l'information de phase différentielle et l'information d'intensité lumineuse de l'échantillon. Cette information d'intensité permet de déterminer la valeur de la phase optique en certaines zones de l'image et permet de fixer dans la plupart des cas les constantes d'intégration locales .

[0039] Dans le cas de l'enregistrement d'un hologramme différentiel d'un objet légèrement flou en transmission, l'intensité, et la figure d'interférence entre l'objet qui diffracte la lumière et le faisceau d'illumination de l'échantillon (Fig .1) sont enregistrés.

[0040] La configuration représentée par la figure 1 est similaire à celle utilisée dans l'holographie de Gabor, à savoir le premier type d'holographie optique qui a été inventé. Or, l'holographie de Gabor permet une reconstruction holographique de l'objet ainsi que son image dite conjuguée (Fig. 2). On n'obtient toutefois pas l'image

de phase comme on l'obtient avec une configuration en interféromètre .

[0041] Cela signifie que la figure d'interférence enregistrée entre le faisceau diffracté par l'image de l'objet et le faisceau non diffracté contient l'information sur l'image de l'objet et son image conjuguée et plus particulièrement sur les composantes en fréquences spatiales de l'image nette de l'objet.

[0042] On peut également rencontrer des situations similaires lorsque l'objet est illuminé en réflexion. Par exemple lorsque l'échantillon est une plaque plane réfléchissante sur laquelle il y a un défaut localisé. Dans cette situation, le faisceau réfléchi par la partie plane de l'objet interférera avec le faisceau réfléchi par la zone du défaut. Dans ce qui suit, on considérera comme objet ce qui produit une perturbation non prédictible du faisceau (i.e. un défaut localisé, une particule en suspension dans un milieu transparent) tandis que les zones produisant des modifications prédictibles du faisceau seront considérées comme des zones « sans objet » (i.e. un support plan, un milieu transparent homogène dans un porte échantillon) .

[0043] Dans la configuration en transmission (fig. 1), l'intensité lumineuse enregistrée sur le senseur est $i(x,y)$. La composante en fréquences spatiales ***(u,v)*** est définie par la transformée de Fourier spatiale de l'intensité lumineuse :

$$I(u,v) = \int_{-\infty}^{+\infty}\int_{-\infty}^{+\infty} \exp\{-2\pi j(xu+vy)\} i(x,y)\,dxdy \qquad (7)$$

[0044] On montre que s'il n'y a pas d'objet, $I(u,v)$ est significativement différent de zéro que lorsque ***(u,v)***

est proche de (0,0) . Par contre, s'il y a la présence de l'image d'un objet proche du senseur, il y aura des composantes significativement différentes de zéro pour une gamme étendue des valeurs de *u* et *v*.

[0045] Par conséquent, en opérant un filtrage passe haut sur la transformée de Fourier, il est possible de déterminer les zones d'intensité lumineuse influencées par la présence de l'image de l'objet.

[0046] L'algorithme qui permet de déterminer ces zones est le suivant :

1/ Calcul de la transformée de Fourier $I(u,v)$

2/ Filtrage passe haut de $I(u,v)$ par une fonction *(l-g(u,v))*, ou *g{u,v)* est une fonction gaussienne réelle centrée sur **(u, v)=** (0,0) .

3/ Calcul de la transformée de Fourier inverse

4/ Calcul du module carré

5/ Filtrage passe bas par une convolution avec une fonction gaussienne .

6/ Application d'une fonction seuil qui met à 1 les valeurs supérieures au seuil et à 0 les valeurs inférieures au seuil .

Ce processus s'avère très efficace pour sélectionner les zones de présence d'objets comme illustré par la figure 3 .

[0047] Les zones de présence d'images d'objets étant déterminées (zones blanches sur Fig. 3-b) , on dispose d'un moyen pour fixer les constantes d'intégration dans le processus décrit précédemment.

[0048] Partout où il n'y a pas d'objet (zone noire), on considérera que la phase intégrée doit être constante. Sans nuire à la généralité, on supposera que cette constante est égale à zéro. Le processus d'intégration

précédant peut alors être appliqué pour tout objet qui est entouré par une zone sans objet (région noire) .

[0049] On applique également une correction supplémentaire directionnelle en chaque point d'une zone signalant la présence d'un objet en considérant que la Phase intégrée suivant la direction $(\delta x,\delta y)$ doit être nulle quand on entre et on sort de la zone, la figure 4 montre une zone de présence d'objet pour laquelle la phase intégrée sans correction $\varphi_0(s,t)$ en un (s,t) a été calculée. On trace par le point (s,t) où on souhaite corriger la phase la droite D de direction $(\delta x,\delta y)$. On recherche les points frontières de la zone *(si,ti)* et *(so,to)* qui appartiennent à la droite D de direction $(\delta x,\delta y)$ et qui passe par le point *(s,t)* .

[0050] Si les phases intégrées aux points *(si,ti)* et *(so,to)* sont respectivement $\varphi_0(so,to)$ et $\varphi_0(si,ti)$, on applique au point (s,t) la correction :

$$\varphi_{cor}(s,t)=\varphi_0(s,t)-\frac{d_2}{d_1+d_2}\varphi_0(si,ti)-\frac{d_1}{d_1+d_2}\varphi_0(so,to) \qquad (8)$$

Où d_i est la distance euclidienne entre le point *(s,t)* et le point *(si,ti)*, et où d_Σ est la distance euclidienne entre le point *(s,t)* et le point *(so,to)*.

On constate alors que cette correction annule bien $\varphi_{cor}(s,t)$ lorsque (s, t)= (so, to) ou (s, t)= (si, ti) .

[0051] Lorsque une zone de présence d'un objet intercepte un bord de l'image et qu'il n'est pas possible de trouver les deux points *(si,ti)* ou *(so,to)*, la correction est effectuée sur le seul point *(si,ti)* ou *(so,to)* qui se trouve dans l'image (fig. 5) .

[0052] Si *(si,ti)* appartient à l'image, la phase corrigée peut être calculée selon l'équation suivante:

$$\varphi_{cor}(s,t) = \varphi_0(s,t) - \varphi_0(si,ti) \quad (9)$$

Si *(so,to)* appartient à l'image, la phase corrigée peut être calculée selon l'équation suivante:

$$\varphi_{cor}(s,t) = \varphi_0(s,t) - \varphi_0(so,to) \quad (10)$$

La méthode décrite s'avère efficace s'il subsiste des zones hors objet qui permettent de définir les constantes d'intégration.

[0053] Les figures suivantes montrent un exemple, correspondant à l'image de la Fig. 3-a, d'intégration de phase différentielle en utilisant la méthode décrite.

[0054] La Fig. 6-a est l'image différentielle de départ avec un axe de différenciation horizontal. A partir de cette image, et grâce à l'image de la Fig. 3-b, on calcule la phase intégrée pour obtenir l'image de la Fig. 6-b. Cette image est à comparer à l'image de la Fig. 7-a qui représente la phase non différentielle directement enregistrée. On observe que ces deux images sont très similaires. Entre ces deux images, il y a un léger offset global en niveau de gris. Cet offset n'a aucune signification physique et n'a donc aucune importance.

[0055] Les zones abruptes noires qui apparaissent dans certaines zones claires sur les deux images des Fig. 6-b et Fig. 7-a sont dues à de sauts de phase qui proviennent de la périodicité inhérente à 1'interférométrie . Ces sauts sont normaux et peuvent être

éliminés en utilisant un processus de déroulage de phase usuel .

[0056] La Fig. 7-b montre un processus d'intégration numérique de la phase différentielle directe sans utiliser les zones d'intégration et le processus de correction décrits dans la présente demande. Pour l'obtention de la phase sans processus de correction (Fig. 6-b) , les phases initiales sur les bords supérieur et gauche ont été prises égales à zéro. On observe sur cette figure de nombreuses erreurs d'intégration qui valident l'utilité de la méthode proposée .

Bibliographie

1 . U . Schnars and W . Jtiptner, "Direct recording of holograms by a CCD target and numerical reconstruction", Appl. Opt. 33, 179-181 (1994).

2 . I.Yamaguchi and T . Zhang, "Phase-shifting digital holography", Opt. Lett. 22, 1268-1270 (1997).

3 . T . Zhang and I . Yamaguchi, "Three-dimensional microscopy with phase-shi fting digital holography", Opt. Lett. 23, 1221-1223 (1998) .

4 . F . Dubois, L . Joannes, J.-C. Legros, "Improved three-dimensional imaging with digital holography microscope using a partial spatial cohérent source " Appl. Opt. 38, 7085-7094 (1999)

5 . E.Cuche, F.Bevilacqua and C . Depeursinge, "Digital holography for quantitative phase contrast imaging", Opt. Lett. 24, 291-293 (1999)

6 . Frank Dubois, Catherine Yourassowsky, Olivier Monnom, Jean-Claude Legros, Olivier Debeir, Philippe Van Ham, Robert Kiss, Christine Decaestecker, "Digital holographie microscopy for the three-dimensional dynamic analysis of in vitro cancer cell migration", Journal of Biomédical Optics 11-5, 054032 September/October 2006

7. F. Dubois, C. Yourassowsky, « Digital holographie microscope for 3D Imaging and procès using it », Patent EP1631788B1, 2007.

8. F. Dubois, C. Yourassowsky, "Off Axis interferometer", Patent WO 2011/042442 Al, 2011.

REVENDICATIONS

1. Méthode d'intégration d'une image de phase différentielle comprenant les étapes de :

- obtenir une image de phase différentielle utilisant la microscopie holographique digitale différentielle, pour laquelle un objet à analyser est placé avant l'interféromètre ;
- obtenir une image d'intensité lumineuse de l'objet;
- déterminer des zones de l'image de phase différentielle n'étant perturbées par un objet ;
- attribuer une valeur prédéterminée auxdites zones non perturbées par un objet;
- intégrer l'image de phase différentielle à partir des bords de l'image en considérant une constante d'intégration arbitraire pour ces bords pour obtenir une image de phase brute ;
- corriger l'image de phase brute par soustraction d'une fonction continue telle que la valeur de l'image de phase corrigée dans les zones sans objet prenne la valeur prédéterminée.

2. Méthode de la revendication 1 dans laquelle la ladite valeur prédéterminée attribuée aux zones non perturbées par l'objet est une constante, de préférence égale à zéro.

3. Méthode des revendications 1 ou 2 dans laquelle la fonction continue est déterminée sur une droite d'intégration donnée par interpolation linéaire de l'image de phase brute entre les deux points d'intersection de la droite d'intégration avec les limites de l'objet, cette détermination étant faite lorsque les deux points d'intersection appartiennent à l'image.

4. Méthode de l'une quelconque des revendications précédentes dans laquelle la fonction

continue est égale, sur une droite d'intégration donnée, à la valeur de la phase brute à l'intersection de ladite droite d'intégration avec la limite de l'objet, cette égalité étant appliquée lorsqu'un seul point d'intersection entre ladite droite d'intégration et la limite de l'objet se trouve à l'intérieur de l'image.

5. Méthode selon l'une quelconque des revendications précédentes, dans laquelle la détermination des zones non perturbées par un objet est effectuée à partir de l'image d'intensité lumineuse.

6. Méthode de la revendication 5 dans laquelle la détermination des zones non perturbées par l'objet comprend les étapes suivantes :

- calcul de la transformée de Fourier de l'image d'intensité lumineuse I(u,v);
- filtrage passe haut de I(u,v) par une fonction 1-g(u,v), pour obtenir la transformée filtrée I'(u,v), g(u,v) est une fonction gaussienne centrée sur (u,v) = (0,0) ;
- calcul de la transformée inverse i'(s,t) de I'(u,v) ;
- calcul du module carré $|i'(s,t)|^2$ de la transformée inverse ;
- filtrage passe bas du module carré $|i'(s,t)|^2$;
- application d'une fonction de seuil qui met à 0 les zones où le module carré $|i'(s,t)|^2$ est inférieur à un seuil prédéterminé, et à 1 les zones ou le module carré est supérieur au seuil prédéterminé.

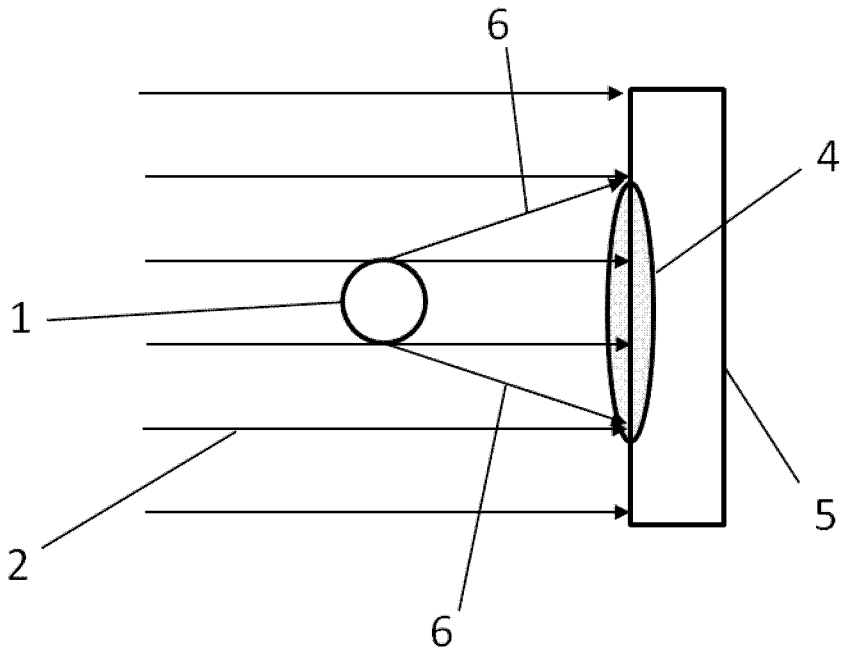


Fig. 1

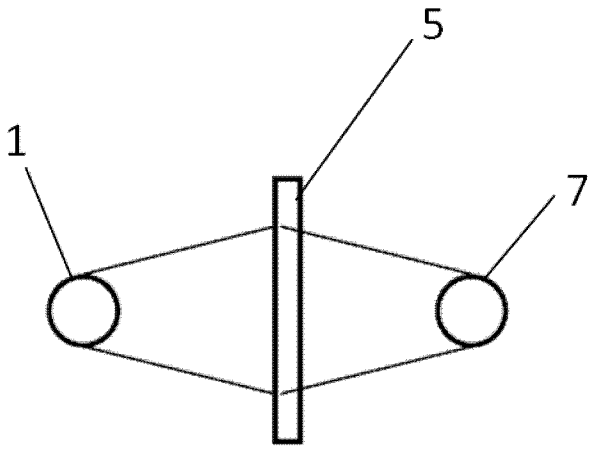


Fig. 2

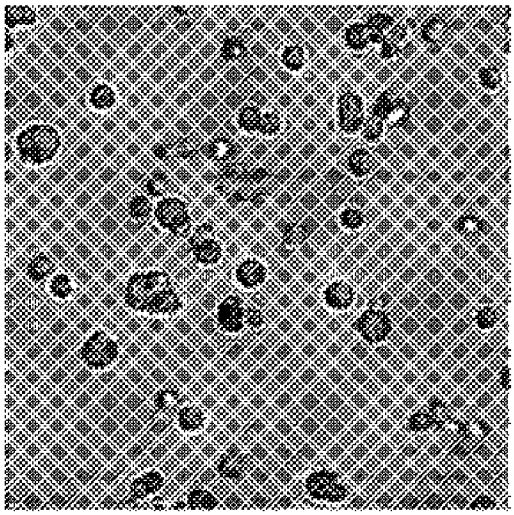


Fig. 3a

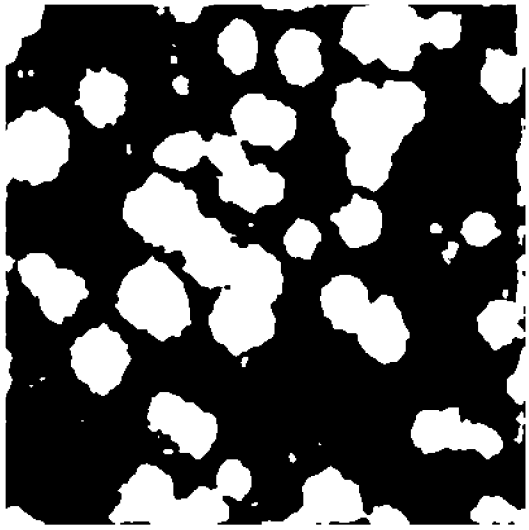


Fig. 3b

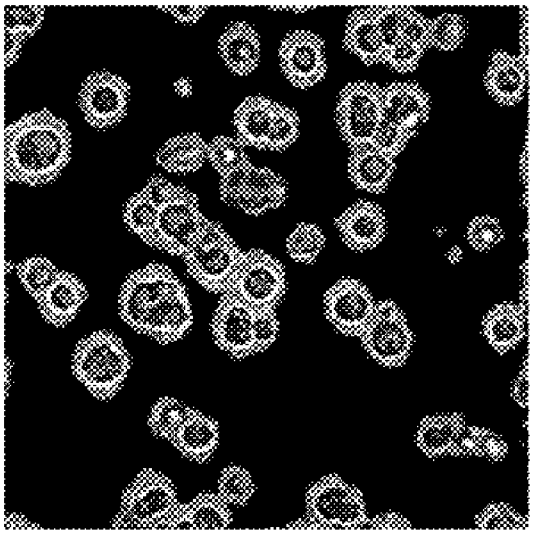


Fig. 3c

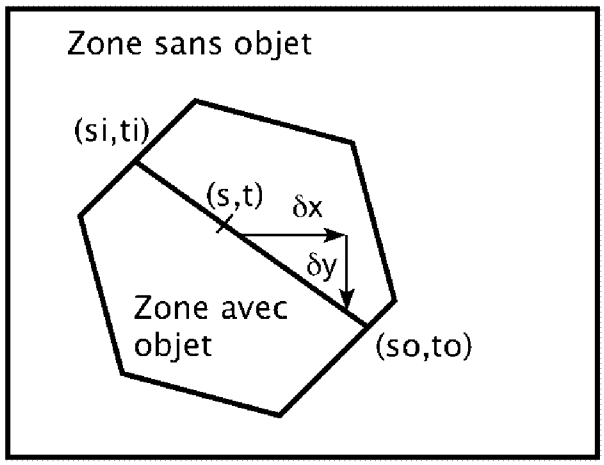

Zone sans objet
(si,ti)
(s,t)
δx
δy
Zone avec objet
(so,to)

Fig. 4

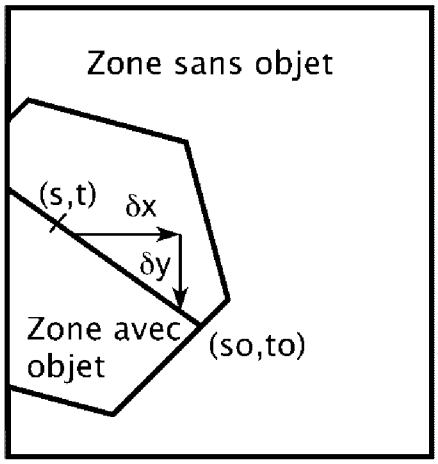

Zone sans objet
(s,t)
δx
δy
Zone avec objet
(so,to)

Fig. 5

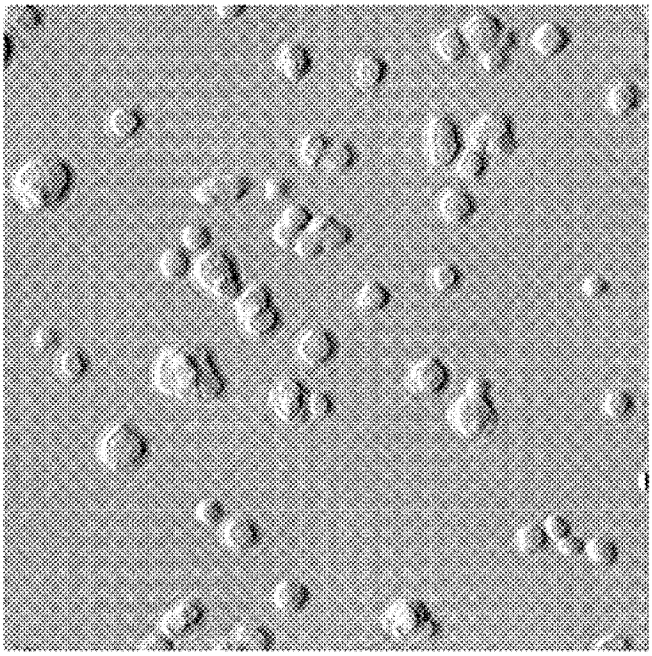


Fig. 6a

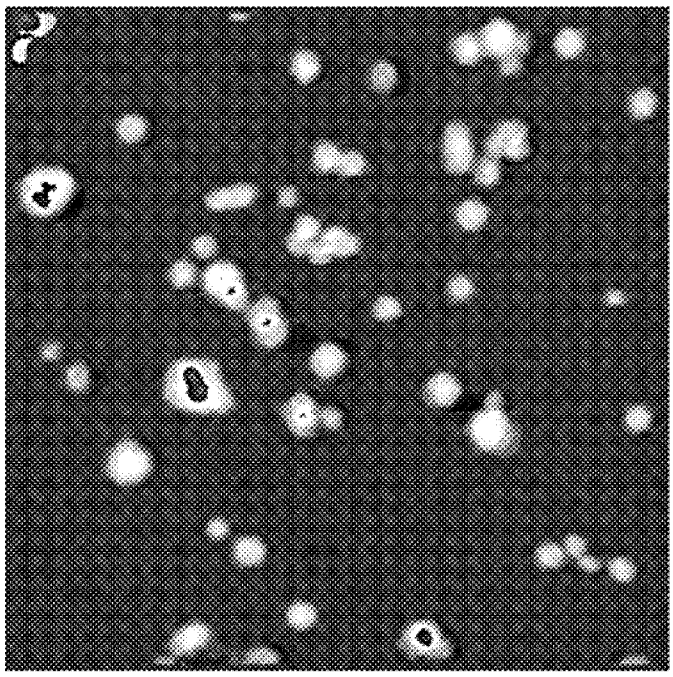


Fig. 6b

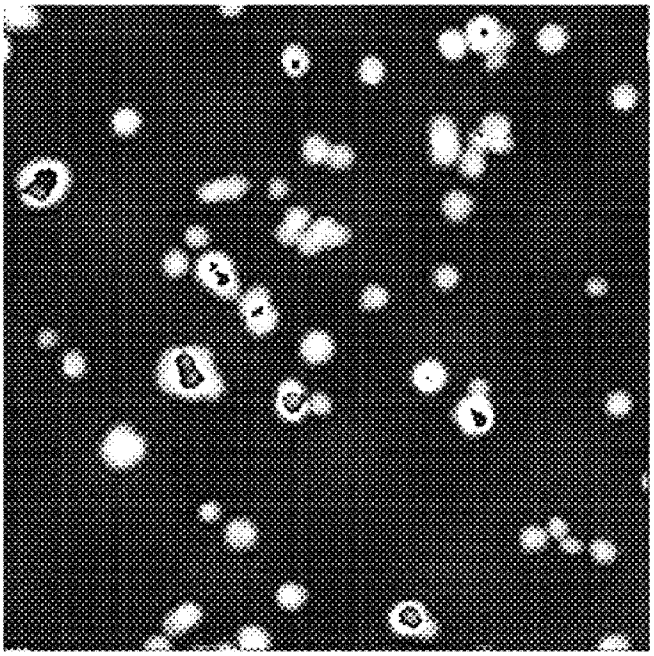


Fig. 7a

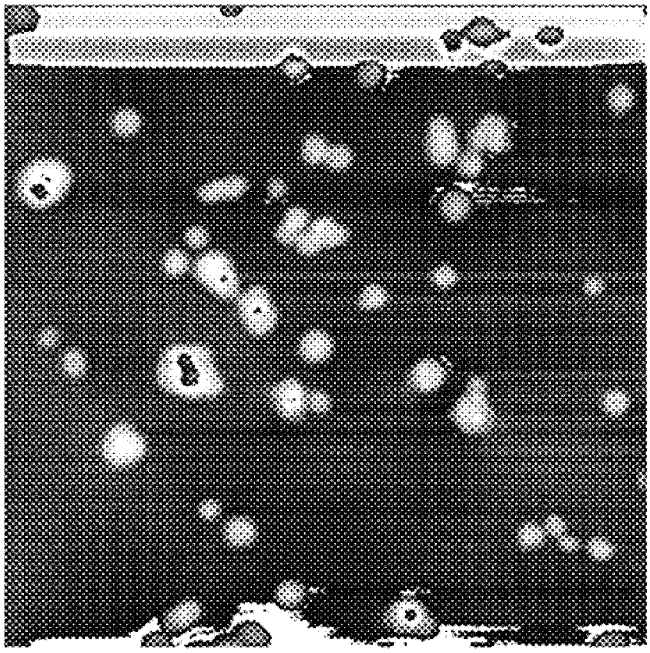


Fig.7b

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2012/074362

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
INV. G03H1/08 G01B9/021 G03H1/04
ADD.

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

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification **System** followed **by** classification **symbols)**
G03H G01B

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.
A	EP 1 524 491 Al (UNIV BRUXELLES [BE]) 20 Apri l 2005 (2005-04-20) cited in the appl icati on paragraphs [0124] - [0128] ; figure 2	1
A	US 2008/309944 Al (FERRAR0 PIETR0 [IT] ET AL) 18 December 2008 (2008-12-18) paragraphs [0036] - [0042]	1
A	PRETZIER G ET AL: "Hi gh-accuracy differenti al interferometry for the investi gati on of phase objects" , MEASUREMENT SCIENCE AND TECHNOLOGY, IOP, BRISTOL, GB, vol . 4, no. 6, 1 June 1993 (1993-06-01) , pages 649-658, XP020065466, ISSN: 0957-0233 , D0I : 10. 1088/0957-0233/4/6/003 paragraph [03 . 1] ; figure 5	1

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☒ See patent family annex.

* Spécial catégories of cited documents :

"A" document defining the gênerai 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" documentwhich may throw doubts on priority claim(s) orwhich is cited to establish the publication date of another citation or other spécial 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 ortheory 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
20 February 2013	28/02/2013

Name and mailing address of the ISA/	Authorized officer
European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016	Noi rard, Pi erre

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No
PCT/EP2012/074362

Patent document oited in searoh report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
EP 1524491 A l	20-04-2005	NONE	
US 2008309944 A l	18-12-2008	US 2008309944 A l	18-12-2008
		W0 2007122655 A2	01-11-2007

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demande internationale n°
PCT/EP2012/074362

A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE
INV. G03H1/08 G01B9/021 G03H1/04
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)
G03H G01B

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
A	EP 1 524 491 A1 (UNIV BRUXELLES [BE]) 20 avril 2005 (2005-04-20) cité dans la demande alinéas [0124] - [0128]; figure 2	1
A	US 2008/309944 A1 (FERRARO PIETRO [IT] ET AL) 18 décembre 2008 (2008-12-18) alinéas [0036] - [0042]	1
A	PRETZIER G ET AL: "High-accuracy differential interferometry for the investigation of phase objects", MEASUREMENT SCIENCE AND TECHNOLOGY, IOP, BRISTOL, GB, vol. 4, no. 6, 1 juin 1993 (1993-06-01), pages 649-658, XP020065466, ISSN: 0957-0233, DOI: 10.1088/0957-0233/4/6/003 alinéa [03.1]; figure 5	1

☐ 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'appartenant 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
20 février 2013	28/02/2013

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	Noirard, Pierre

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

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Renseignements relatifs aux membres de familles de brevets

Demande internationale n°
PCT/EP2012/074362

Document brevet cité au rapport de recherche	Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
EP 1524491 A1	20-04-2005	AUCUN	
US 2008309944 A1	18-12-2008	US 2008309944 A1	18-12-2008
		WO 2007122655 A2	01-11-2007