

A1

**DEMANDE
DE BREVET D'INVENTION**

⑫

N° 79 16168

⑮ Appareil de détermination de l'histogramme des tailles de particules ou de globules notamment sanguins.

⑯ Classification internationale (Int. Cl.³). G 01 N 15/02, 33/48; G 06 M 11/00.

⑰ Date de dépôt 22 juin 1979, à 16 h 9 mn.

⑱ ⑳ ㉑ Priorité revendiquée :

㉒ Date de la mise à la disposition du
public de la demande B.O.P.I. — « Listes » n° 3 du 16-1-1981.

㉓ Déposant : THERY Jean-François, MAITRE Henri et FLEURET Jacques, résidant en France.

㉔ Invention de :

㉕ Titulaire : *Idem* ㉓

㉖ Mandataire : Cabinet Martinet,
62, rue des Mathurins, 75008 Paris.

Domaine de l'invention.

La présente invention concerne d'une façon générale un appareil permettant de déterminer l'histogramme de la répartition des tailles de particules de produits ou substances formés de particules, de grains ou de cellules discrètes et, plus particulièrement, un appareil de l'espèce considérée donnant un tel histogramme par une analyse du spectre de diffraction de la substance en optique cohérente.

L'appareil de l'invention permet notamment d'analyser en hématologie les frottis sanguins, ou les particules sanguines en flux liquide. Il peut également servir à l'étude granulométrique des poudres industrielles.

Art antérieur.

La méthode d'analyse des poudres par diffraction en optique cohérente a été introduite par ANDERSON et BEISSNER (Appl. Opt., 10, 7 (1971)). Cette méthode permet une analyse globale de l'échantillon, ce qui fournit un résultat rapide, avec une bonne validité statistique. Le principe en est le suivant : l'échantillon (poudre, frottis sanguin, cellules en milieu liquide, etc.) est illuminé à l'aide d'un laser. Grâce à des mesures effectuées sur le spectre de diffraction, on peut en déduire des caractéristiques de la population examinée.

M. BESSIS et N. MOHANDAS (Blood Cells, pages 307-313, Springer Verlag, 1975) ont initialisé l'emploi de l'analyse par diffraction d'échantillons biologiques, en vue d'une application bien particulière, l'étude de la déformabilité des cellules.

Deux appareils d'analyse granulométrique par diffraction sont commercialisés : la Compagnie Industrielle des Lasers propose un granulomètre à laser pour l'étude des poudres, délivrant 8 points de mesure de l'histogramme, et "Leeds et Northrup" ont conçu l'appareil dénommé Microtrac, qui délivre 13 points de mesure de l'histogramme.

Les systèmes et appareils précédents sont basés sur l'exploitation d'un certain nombre de mesures discrètes. Ils délivrent un nombre restreint de points de mesure. Si cela convient aux poudres industrielles, il n'en est pas de même pour les applications biomédicales, lesquelles nécessitent une plus grande résolution dans l'histogramme.

L'objet de l'invention est de fournir un histogramme continu de la répartition des tailles de particules ou, tout au

moins, un nombre très élevé de l'ordre du millier ou supérieur, de points de cet histogramme.

Définition de l'invention.

L'appareil de l'invention comprend des moyens d'illuminer un échantillon granulaire par un laser et d'effectuer un enregistrement radial du spectre de diffraction obtenu au moyen d'un photodétecteur. Un traitement numérique de cet enregistrement radial comprend les étapes suivantes :

(1) relevé de l'intensité spectrale

$$I(\omega) = 4\pi^2 \int_0^{\infty} a^4 \left[\frac{J_1(ka\omega)}{ka\omega} \right]^2 N(a) da \quad \text{avec } k = 2\pi/\lambda \quad (1)$$

(2) Transformée de Hankel

$$F(t) = \int_0^{\infty} I(\omega) J_0(k\omega t) \omega d\omega \quad (2)$$

(3) Double dérivation

$$\frac{d^2 F}{dt^2} = F''(t) = t \int_{t/2}^{\infty} \frac{N(a) da}{\sqrt{a^2 - \frac{t^2}{4}}} \quad (3)$$

(4) Déconvolution

$$\frac{1}{t} \frac{d^2 F}{dt^2} = \int_0^{\infty} g(T-A) \frac{N(\sqrt{A})}{2\sqrt{A}} dA \quad (4)$$

équations dans lesquelles

$N(a)$ est le nombre de particules de rayon a ;

ω est la distance radiale du point courant dans le plan du spectre de diffraction ;

$I(\omega)$ est l'intensité lumineuse à la distance ω du centre du spectre de diffraction ;

t désigne la variable spatiale conjuguée de ω .

A et T sont respectivement des variables déduites de a et t ainsi qu'on le verra dans la partie mathématique de la description.

La fonction g sera définie ultérieurement (relation 14)

Etablissement des équations (1), (2), (3), (4)

On va d'abord expliquer le fondement mathématique du traitement d'une section radiale du spectre de diffraction.

On considère tout d'abord, dans le plan objet $N(a)$ disques circulaires, de rayon a , et dont les centres x_i, y_i sont aléatoirement répartis. L'amplitude complexe diffractée dans le plan de Fourier, s'exprime en fonction des coordonnées spectrales angulaires (u, v) par :

$$f_{N(a)}(u, v) = S(u, v) \sum_{i=1}^{N(a)} e^{j k (x_i u + y_i v)} \quad (5)$$

où $S(u, v)$ représente l'amplitude du spectre de diffraction d'un disque centré :

$$S(u, v) = 2 \pi a^2 \frac{J_1(ka_\omega)}{ka_\omega} \quad (6)$$

$$(\omega = \sqrt{u^2 + v^2})$$

La somme d'exponentielles dans (5) représente un terme de granularité, qui traduit les fluctuations rapides d'interférence, caractéristiques du speckle.

L'intensité observée dépend donc des positions, supposées distribuées au hasard, de l'ensemble des particules. C'est donc une réalisation d'un nombre aléatoire, dont on peut obtenir classiquement une valeur moyenne en faisant varier les positions des particules suivant une certaine loi de probabilité. Une autre façon d'obtenir cette moyenne consiste, dans la pratique, à faire vibrer la lamelle objet dans son ensemble et à intégrer l'intensité lumineuse sur un certain intervalle de temps. On effectue ainsi une simulation de l'enregistrement d'une moyenne d'ensemble. Celle-ci sera notée $\langle \rangle$. On utilisera également la notation condensée : $\hat{x} = \langle x \rangle$.

Dans le cas d'une population d'objets de rayons différents a_m ($m = 1, M$), l'intensité enregistrée sera :

$$\hat{I}(u, v) = \left\langle \left| \sum_{m=1}^M S_m(u, v) g_m(u, v) \right|^2 \right\rangle \quad (7)$$

avec $S_m(u, v)$ amplitude du spectre de diffraction d'un disque de rayon a_m ;

$$g_m(u, v) = \sum_{p=1}^{N_m} e^{j k (x_{p,m} u + y_{p,m} v)} \quad \text{terme de granularité}$$

N_m nombre d'objets de la classe m (de rayon a_m)

$(x_{p,m}; y_{p,m})$ coordonnées du $p^{\text{ième}}$ objet de la classe m

Le développement de (7) permet de distinguer les termes carrés des termes croisés, soit :

$$\hat{I}(u, v) = \left\langle \sum_{m=1}^M S_m^2 |g_m|^2 \right\rangle + \left\langle \sum_{\substack{m, m' \\ m \neq m'}} S_m S_{m'} g_m g_{m'}^* \right\rangle \quad (8)$$

5 On admettra par la suite l'indépendance statistique entre classes différentes.

Etant données les fluctuations rapides de la phase des termes de granularité, on admettra les estimations suivantes :

$$\left\{ \begin{array}{l} \hat{g}_m \neq 0 \\ |g_m|^2 \neq N_m \end{array} \right. \quad (9) \quad (9\text{bis})$$

Ces deux relations sont justifiées pour le domaine de fréquences défini ainsi :

$$\omega = \sqrt{u^2 + v^2} \gg \omega_0 = \frac{\lambda}{L} \quad (L = \text{largeur du champ objet observé})$$

L'expression finale obtenue pour l'intensité est donc :

$$\hat{I}(u, v) \neq \sum_{m=1}^M S_m^2(u, v) N_m \quad (10)$$

Dans le cas d'objets circulaires, (10) s'écrit, d'après (6)

$$\hat{I}(u, v) = I(\omega) \neq 4\pi^2 \sum_{m=1}^M a^4 \left\{ \frac{J_1(ka_m \omega)}{ka_m \omega} \right\}^2 N_m \quad (11)$$

Traitement de l'intensité $I(\omega)$.

20 Dans le cas d'un histogramme continu ($N_m \rightarrow N(a) da$), on écrira (11) sous la forme :

$$I(\omega) = 4\pi^2 \int_0^\infty a^4 \left\{ \frac{J_1(ka\omega)}{ka\omega} \right\}^2 N(a) da \quad (1)$$

La transformée de Hankel de (1) est :

$$F(t) = \int_0^\infty I(\omega) J_0(k\omega t) \omega d\omega \quad (2)$$

$$25 \quad F(t) = \int_0^\infty a^4 N(a) \frac{1}{a^2} C\left[\frac{t}{2a}\right] da \quad (12)$$

où C désigne la fonction d'autocorrélation d'un disque circulaire :

$$C \left[\frac{t}{2a} \right] = \begin{cases} \text{Arc cos } \frac{t}{2a} - \frac{t}{2a} \sqrt{1 - \frac{t^2}{4a^2}} & t < 2a \\ 0 & t \geq 2a \end{cases}$$

Dérivons deux fois (12) sous le signe somme. On obtient tous calculs faits :

$$5 \quad \frac{d^2 F}{dt^2} = t \int_{t/2}^{\infty} \frac{N(a) da}{\sqrt{a^2 - \frac{t^2}{4}}} \quad (3)$$

L'équation (3) se ramène à une équation de convolution grâce au changement de variable suivant :

$$A = a^2$$

$$T = t^2/4$$

10 et en posant :

$$f(T) = \frac{1}{t} \frac{d^2 F}{dt^2} \quad (13)$$

on obtient :

$$f(T) = \int_0^{\infty} g(T-A) \frac{N(\sqrt{A})}{2\sqrt{A}} dA \quad (4)$$

où :

$$15 \quad \left. \begin{aligned} g(T-A) &= \frac{1}{\sqrt{A-T}} && \text{si } T < A \\ &= 0 && \text{si } T \geq A \end{aligned} \right\} \quad (14)$$

On voit donc que $N(\sqrt{A})$ figure dans l'équation de convolution (4) et peut être obtenu par déconvolution.

En résumé, les étapes de traitement sont les suivantes :

- 20 I - relevé de l'intensité lumineuse $I(\omega)$ le long d'un rayon du spectre ;
 II - transformation de Hankel (on rappelle qu'une transformée de Hankel n'est autre que l'expression d'une transformée de Fourier dans le cas d'une fonction à symétrie de révolution)
 III- double dérivation ;
 25 IV - déconvolution

Brève description des figures.

L'invention va être maintenant décrite en détail en relation avec les dessins annexés dans lesquels :

- la Fig. 1 représente schématiquement un premier appareil analyseur

de tailles de particules conforme à l'invention permettant d'obtenir un histogramme continu et dans lequel les calculs sont faits par un microprocesseur ;

- la Fig. 2 représente schématiquement un second appareil analyseur de tailles de particules conforme à l'invention permettant d'obtenir un histogramme discret avec un très grand nombre de points ; et

- la Fig. 3 représente un troisième appareil analyseur de tailles de particules dans lequel les calculs sont faits optiquement.

Description d'exemples de réalisation de l'invention.

En se référant à la Fig. 1, 10 désigne un laser, par exemple un laser He-Ne et 11 désigne un système afocal. Le faisceau laser 20 traverse l'échantillon 12 qui est une plaque de microscope sur laquelle a été déposé un frottis sanguin. Cette plaque 12 est fixée à un vibreur représenté sous la forme d'un noyau ferromagnétique 13 solidaire de la plaque et d'une bobine excitatrice 14, l'ensemble 13-14 formant un système à noyau plongeur alimenté par un courant de fréquence 100 Hz par exemple. Le spectre de l'échantillon est formé sur un écran 16 dans le plan focal de l'objectif 15.

Un bras rotatif 17 peut tourner autour d'un arbre fixé à un socle 18 et coaxial au faisceau. La rotation du bras 17 est commandée par un moteur pas à pas 19. Sur le bras 17 est monté un moteur 21 qui par un système de bielle 22 et de manivelle 23 fait mouvoir un équipage 24 le long d'une rainure 25 du bras 17. Cet équipage porte l'extrémité d'une fibre optique 26 munie d'une lentille d'entrée. L'autre extrémité de la fibre 26 est couplée à un photodétecteur 27.

Le photodétecteur produit un signal de sortie représentatif de $I(\omega)$. La sortie du photodétecteur 27 est reliée à un convertisseur analogique numérique 28 lui-même relié à un microprocesseur 29. Le microprocesseur 29 effectue les calculs de la transformée de Hankel, de la double dérivation et de la déconvolution.

La fonction $N(a)$ produite par le microprocesseur est rendue analogique dans le convertisseur numérique analogique 30 qui est relié à une table traçante 31.

Dans la Fig. 2, les éléments 17 à 27 inclusivement sont supprimés et le spectre est lu le long d'un rayon par une barrette 32 de photodétecteurs incorporant un multiplexeur 33. Les photodétecteurs produisent des signaux

de sortie qui sont multiplexés grâce à des impulsions d'horloge produites par le microprocesseur 29.

Des barrettes de photodiodes comprenant un grand nombre de photodiodes sont connues dans la technique. On pourra utiliser par exemple les barrettes RETICON RL 1024 à 1024 photodiodes ou les dispositifs à charges couplées CCD 131 à 1024 éléments ou CCD 121 à 1728 éléments fabriqués par FAIRCHILD.

Dans la Fig. 3, la transformée de Hankel, la double dérivation et la déconvolution sont réalisées optiquement.

Les numéros de référence 10, 11, 12, 13-14, 15 et 16 ont la même signification que dans les Figs. 1 et 2 et désignent respectivement le laser, le système afocal, l'échantillon, le vibreur, l'objectif et le plan focal de l'objectif. Le spectre $I(\omega)$ est obtenu dans le plan 16.

Dans ce plan, on place une fente radiale 40 afin d'isoler la variation mono dimensionnelle radiale, de l'intensité spectrale.

(I) Réalisation optique de la dérivée seconde

Dans le plan 16, on place également un filtre mono dimensionnel 41 en ω^2 c'est-à-dire un filtre dont la transmittance est proportionnelle à ω^2 . La hauteur h du filtre 41 est très petite par rapport à sa largeur l . La dérivée seconde d^2F/dt^2 est obtenue dans le plan 43 grâce à la lentille 42. A partir de ce moment les traitements optiques sont monodimensionnels. Les lentilles au delà de 42 sont donc des lentilles cylindriques.

Sur la Fig. 3, la lentille 43 est sphéro-cylindrique et réalise une transformation de Fourier pour une dimension et agrandit simplement l'autre dimension correspondant à la hauteur h de la fente.

(II) Réalisation optique du changement de variable $t \rightarrow T$

D'après O. Bryngdahl (Optics Communication v. 10, n° 2, fév. 1974 p. 164) il est possible de réaliser un changement de variable en optique grâce à un filtre de phase positionné sur l'objet à transformer, et un objectif utilisé en transformation de Fourier. On place donc un filtre 44 dans le plan 43. La phase du filtre 44 est calculée d'après la transformation à effectuer. Dans le cas présent d'après Bryngdal, la phase du filtre transformateur doit satisfaire :

$$\frac{d\phi}{dt} = \frac{2\pi}{\lambda f} \quad T = \frac{\pi}{2\lambda f} t^2$$

Il en résulte que ϕ est proportionnel à t^3 modulo 2π .

D'autre part, il est nécessaire, d'après (13) d'atténuer $\frac{d^2 F}{dt^2}$ par une fonction en $\frac{1}{t}$. Le filtre monodimensionnel complexe 44 doit avoir

- une amplitude en $\frac{1}{t}$
- une phase proportionnelle à t^3 (modulo 2π).

5 Ce filtre, ainsi que les autres filtres du montage sera implémenté au moyen des techniques désormais classiques d'holographie calculée (A. W Lohmann, D. P. Paris, Appl. Opt. .1967, 5, 1739) lesquelles permettent la réalisation d'une fonction complexe sur un support réel grâce à un codage adéquat de l'amplitude et de la phase souhaitées.

10 Le filtre 44 est ainsi qu'on l'a dit positionné dans le plan 43 ; la lentille cylindrique 45 permet d'obtenir, dans le plan 46, la fonction $f(T)$.

(III) Réalisation optique de la déconvolution par double diffraction

La déconvolution de (4) est réalisée, par double transformation de Fourier. On utilise, pour cela un filtre 48 de Wiener (C. W Helstrom, Journal of Optical Society of America, 57, 3, 1967, P. 297) dont la transmittance dépend :

- de la transformation de Fourier de la fonction convolvante : \tilde{g}
- du rapport du signal au bruit de la chaîne de traitement optique (désigné par φ)

20 soit :

$$\frac{1}{\tilde{g} + \frac{\varphi}{\tilde{g}}}$$

Sur la Fig. 3, la déconvolution correspond aux deux optiques cylindriques 47 et 49. On obtient en 50 la fonction $N(A) = \frac{N(\sqrt{A})}{2\sqrt{A}}$

(IV) Réalisation optique du changement de variable $A \rightarrow a$

25 Ce dernier changement de variable est réalisé par un filtre 51 semblable au filtre 44. Cette fois, la phase du filtre devra être telle que :

$$\frac{d\Phi}{dA} = \frac{2\pi}{\lambda f} \times a = \frac{2\pi}{\lambda f} \sqrt{A}$$

Il en résulte que Φ est proportionnel à $A^{3/2}$ (modulo 2π).

30 Ce filtre 51 est placé dans le plan 50. L'optique 52 fournit, dans le plan 53 l'histogramme souhaité $N(a)$.

On a décrit en relation avec les Figs. 1 et 2 un appareil permettant de déterminer l'histogramme de la répartition des tailles de particules dans lequel les quatre traitements I à IV sont effectués par microprocesseur et dans la Fig. 3 un appareil de même type dans lequel les quatre traitements I à IV sont effectués optiquement.

35

L'invention concerne aussi, bien entendu des appareils permettant de déterminer l'histogramme de la répartition des tailles de particules dans lesquels certaines des opérations I à IV sont effectuées par calculateur et les autres sont effectuées optiquement.

REVEN DICATIONS

- 1 - Appareil analyseur de tailles de particules d'une substance formée de particules de tailles différentes comprenant un laser, des moyens de former le spectre de diffraction d'un échantillon de la substance et des moyens d'analyser ledit spectre, caractérisé en ce que lesdits moyens d'analyse du spectre de diffraction comprennent
- 5 des moyens de lecture du spectre de diffraction selon une direction radiale et d'obtenir un premier signal $I(\omega)$ où I désigne l'intensité lumineuse et ω la distance d'un point du spectre de diffraction au centre de ce dernier ;
- des moyens d'effectuer la transformée de Hankel de ce premier signal
- 10 et d'obtenir ainsi un second signal fonction de la variable conjuguée de ω (variable notée t)
- des moyens de calculer un troisième signal égal à la dérivée seconde dudit second signal par rapport à t ce troisième signal étant égal au produit de convolution de la fonction $N(a)$ de répartition des particules selon leur taille a par une fonction de cette taille a ;
- 15 des moyens d'effectuer la déconvolution de ladite dérivée de façon à obtenir un quatrième signal égal à ladite fonction de répartition ; et
- des moyens de visualisation ou d'enregistrement dudit quatrième signal
- 2 - Appareil analyseur de tailles de particules conforme à la revendication 1, caractérisé en ce que les moyens de lecture du spectre de diffraction selon
- 20 une direction radiale comprennent un photodétecteur et des moyens de déplacer ce photodétecteur le long de ladite direction radiale.
- 3 - Appareil analyseur de tailles de particules conforme à la revendication 1 caractérisé en ce que les moyens de lecture du spectre de diffraction selon une direction radiale comprennent un photodétecteur fixe, une fibre optique
- 25 dont une extrémité est couplée audit photodétecteur et des moyens de déplacer l'autre extrémité de la fibre optique le long d'une direction radiale du spectre.
- 4 - Appareil analyseur de tailles de particules conforme à la revendication 1 caractérisé en ce que les moyens de lecture du spectre de diffraction selon une direction radiale comprennent une barrette de photodétecteurs et des
- 30 moyens électroniques pour multiplexer les signaux de sortie des photodétecteurs de ladite barrette grâce à des impulsions d'horloge produites par un microprocesseur.
- 5 - Appareil analyseur de tailles de particules conforme à la revendication 1 caractérisé en ce que les moyens de calculer la transformée de Hankel du

- relevé radial du spectre formant le premier signal, les moyens de calculer la dérivée seconde formant le deuxième signal et les moyens de calculer la déconvolution formant le troisième signal consistent en un microprocesseur.
- 5 6 - Appareil analyseur de tailles de particules conforme à l'une quelconque des revendications 1 à 5 caractérisé en ce qu'il comprend des moyens de vibration de l'échantillon et d'intégration du signal obtenu au cours de la mesure.
- 7 - Appareil servant à déterminer la fonction de répartition de particules de tailles différentes d'une substance en fonction de leur taille , comprenant un
- 10 laser, un échantillon de ladite substance illuminé par ledit laser, une lentille dans le plan focal de laquelle est formé le spectre de diffraction de la substance , des moyens de filtrage de ce spectre, caractérisé en ce qu'il comprend en outre :
- des moyens optiques pour la réalisation de la dérivation spatiale du signal, et notamment un filtre calculé ayant une transmittance variant en fonction du
- 15 carré de la distance au centre
- des moyens optiques permettant d'effectuer des changements de variables , à savoir des filtres optiques dont les variations d'amplitude et de phase sont calculées de façon à réaliser lesdits changements de variables.
- des moyens optiques permettant de déconvoluer un signal lumineux et
- 20 comprenant notamment un filtre de Wiener calculé et un système optique de déconvolution par double diffraction.

FIG.1

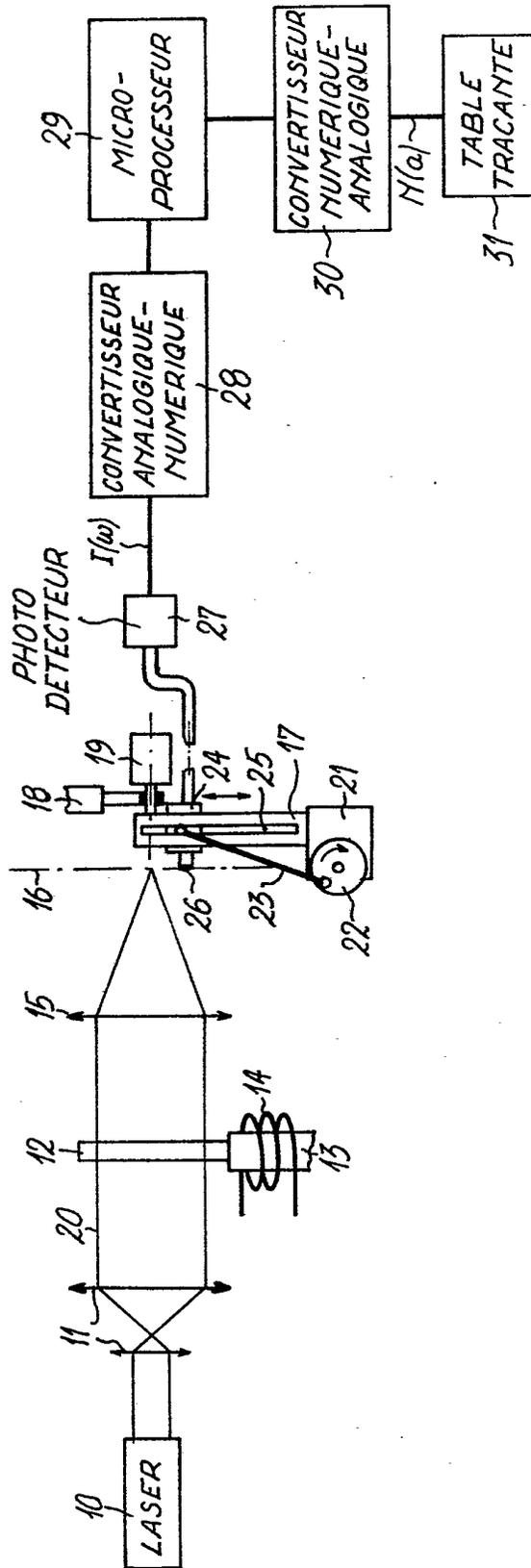


FIG.2

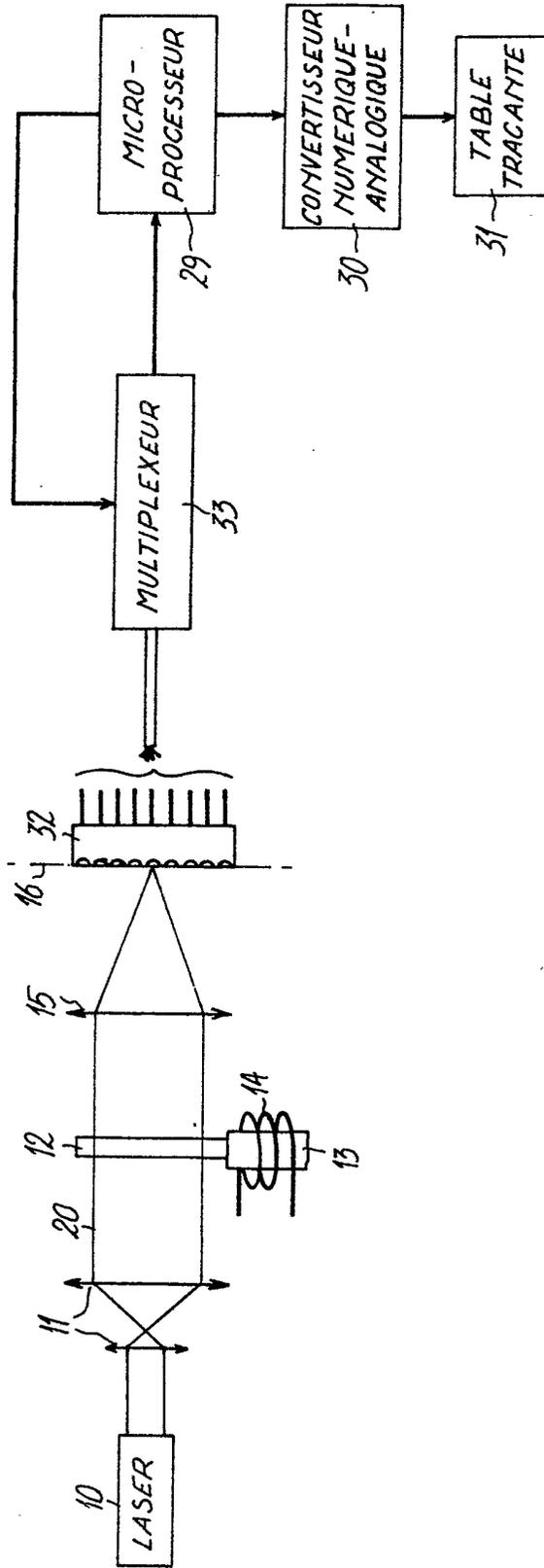


FIG. 3

