

⑫

BREVET D'INVENTION

B1

⑤④ Procédé de détermination d'une fréquence de production d'une série de gouttes en mouvement dans un canal fluide.

②② Date de dépôt : 12.04.23.

③③ Priorité :

⑥③ Références à d'autres documents nationaux
apparentés :

☐ Demande(s) d'extension :

⑦① Demandeur(s) : ALPHANOV Association déclarée —
FR.

④③ Date de mise à la disposition du public
de la demande : 18.10.24 Bulletin 24/42.

④⑤ Date de la mise à disposition du public du
brevet d'invention : 28.03.25 Bulletin 25/13.

⑤⑥ Liste des documents cités dans le rapport de
recherche :

Se reporter à la fin du présent fascicule

⑦② Inventeur(s) : GIRAULT Mathias.

⑦③ Titulaire(s) : HEKAT Société par actions simplifiée.

⑦④ Mandataire(s) : JACOBACCI CORALIS HARLE.

FR 3 147 867 - B1



Description

Titre de l'invention : Procédé de détermination d'une fréquence de production d'une série de gouttes en mouvement dans un canal fluidique

Domaine technique

- [0001] La présente invention concerne de manière générale le domaine technique de la fluidique.
- [0002] Elle concerne plus particulièrement un procédé de détermination d'une fréquence de production ou de passage d'une série de gouttes en mouvement dans un canal fluidique.
- [0003] L'invention trouve une application particulièrement avantageuse dans la réalisation d'un asservissement de la fréquence de production de gouttes sur une fréquence de référence.

Arrière-plan technologique

- [0004] Obtenir une production régulière d'une série de gouttes dans un système fluidique, en particulier dans les systèmes microfluidiques, c'est-à-dire à une fréquence de référence ou de consigne prédéterminée, est un enjeu majeur, notamment en vue d'un tri dynamique de ces gouttes. Toutefois, il ne suffit pas que la pression ou le débit d'injection des fluides, typiquement de l'huile et de l'eau, soient fixés pour obtenir une production régulière de gouttes en série, en particulier de microgouttes.
- [0005] En effet, la fréquence de production des gouttes dépend de la pression au sein du canal fluidique dans lequel les gouttes sont produites, et cette pression au sein du canal met un certain temps à s'établir. Plus le canal est étroit, plus cela prend du temps. Ainsi, avec une pression et un débit constant d'injections des fluides, la fréquence de production des gouttes varie dans le temps.
- [0006] Il est donc nécessaire de mesurer, sur les gouttes en mouvement au sein du canal, cette fréquence de production pour la comparer à la fréquence de référence afin de pouvoir établir une contre réaction en ajustant la pression ou le débit d'injection des fluides.
- [0007] Il existe des méthodes électriques, basées sur une détection par impédance ou par ondes des gouttes, pour mesurer la fréquence de production des gouttes. Ces méthodes souffrent cependant d'une fréquence maximum détectable faible (inférieure à 3kHz) puisque les gouttes doivent être suffisamment espacées pour être détectées. Ces méthodes sont donc inadaptées pour un grand nombre d'applications.
- [0008] Il existe aussi des méthodes optiques permettant de mesurer des fréquences de production plus élevées pouvant atteindre plusieurs dizaines de kilohertz. Certaines de

ces méthodes optiques sont basées sur un codage fluorescent, ce qui nécessite de charger les gouttes avec un liquide fluorescent, d'utiliser un laser et un détecteur très sensible (car le signal fluorescent est faible). Pour se passer de la fluorescence, d'autres méthodes sont basées sur une imagerie très haute fréquence combinée à un comptage des gouttes en série. Dans les deux cas, ces méthodes nécessitent des détecteurs coûteux.

[0009] Il est ainsi apparu le besoin de mesurer à faible coût la fréquence de production des gouttes dans le canal fluidique.

Résumé de l'invention

[0010] Dans ce contexte, la présente invention propose un procédé de détermination d'une fréquence de production d'une série de gouttes en mouvement dans un canal fluidique, le procédé comprenant les étapes suivantes :

- acquisition, au moyen d'un dispositif de capture d'images à obturateur déroulant, d'une image initiale d'au moins deux gouttes en série dans le canal fluidique, l'image initiale comprenant une matrice de pixels formant des lignes et des colonnes, les lignes étant acquises séquentiellement les unes après les autres au moyen de l'obturateur déroulant ;
- détection, à partir de l'image initiale, d'un contour d'au moins une des deux gouttes ;
- calcul de la fréquence de production sur la base du contour, d'un délai entre l'acquisition de deux lignes de pixels successives, et d'une distance entre les deux gouttes.

[0011] Ainsi grâce à l'invention, la fréquence de productions des gouttes est déterminée au moyen d'un dispositif de capture d'images à obturateur déroulant, c'est-à-dire un dispositif de capture d'images peu coûteux. Les dispositifs de capture d'images à obturateur déroulant sont en effet très bon marché, notamment en comparaison des dispositifs à obturateur global utilisés dans les méthodes d'imagerie très haute fréquence de l'art antérieur.

[0012] De façon remarquable et contre intuitive, le contour d'une goutte renseigne sur le mouvement de la goutte dans le canal grâce à l'information temporelle contenue dans l'image. En effet, puisque cette unique image est acquise ligne par ligne, i.e. séquentiellement, la forme du contour de la goutte sur cette image dépend de la vitesse de la goutte. Ainsi, évaluer une déformation des gouttes via leur contour permet donc de déterminer leur mouvement dans le canal.

[0013] Par conséquent, en combinant la mesure de la déformation (qui permet de déduire le taux de déformation) à une simple mesure de la distance entre les deux gouttes, l'invention permet de déterminer la fréquence de production de façon peu coûteuse.

Avantageusement, la méthode de la présente divulgation ne requiert pas de codage fluorescent de la goutte.

- [0014] De manière remarquable, l'image initiale étant composée de pixels, le taux de déformation est exprimé en pixels par unité de temps et la distance entre les deux microgouttes est exprimée en pixels. Ainsi, la dimension du ratio du taux de déformation sur la distance, i.e. la fréquence de production, est directement l'inverse d'un temps. Il n'est donc pas nécessaire de déterminer une vitesse de la goutte en mètres par unité de temps, ce qui nécessite de déterminer un grand nombre de paramètre du système optique, notamment le grossissement du système optique d'imagerie.
- [0015] En d'autres termes, le procédé selon l'invention ne nécessite aucune calibration pour déterminer la fréquence de production des gouttes puisque la dimension « pixel » s'élimine dans le ratio du taux de déformation sur la distance. Cela rend notamment l'invention très simple à mettre en œuvre.
- [0016] D'autres caractéristiques avantageuses et non limitatives du procédé conforme à l'invention, prises individuellement ou selon toutes les combinaisons techniquement possibles, sont les suivantes :
- il est prévu de : construire des images dérivées à partir de l'image initiale, chaque image dérivée étant associée à une valeur de décalage, les lignes de chaque image dérivée étant successivement translatées, par rapport à leur position sur l'image initiale, d'un nombre de pixels proportionnel à la valeur de décalage associée ladite image dérivée ; détecter, sur chaque image dérivée, un contour dérivé de ladite au moins une des deux gouttes ; déterminer la fréquence de production sur la base des contours dérivés déduits des images dérivées ;
 - les valeurs de décalage sont croissantes de 1 à un nombre entier positif et chaque ligne de chaque image dérivée est translatée, par rapport à sa position sur l'image initiale, d'un nombre de pixels égal à la valeur de décalage multipliée par un indice de ladite ligne ;
 - il est prévu de : calculer un indice de circularité de chaque contour dérivé associé à chaque image dérivée ; déterminer une courbe d'ajustement des indices de circularité en fonction des valeurs de décalage ; déterminer la fréquence de production en fonction d'un minimum de la courbe d'ajustement ;
 - il est prévu de déterminer une déformation, qui est représentative d'une différence entre une forme de ladite au moins une des deux gouttes sur l'image initiale et une forme circulaire, sur la base d'une différence de position entre une première extrémité de ladite au moins une des deux gouttes dans une ligne de pixels qui est acquise en première lors de l'étape d'acquisition et une deuxième extrémité de ladite au moins une des deux gouttes dans une autre ligne de pixels qui est acquise en dernière lors de l'étape d'acquisition, la fréquence de production étant aussi calculée sur la base de la

déformation ;

- il est prévu de : détecter un contour de l'autre des deux gouttes, calculer la fréquence de production sur la base d'une moyenne du contour de ladite au moins une des deux gouttes et du contour de l'autre des deux gouttes ;
- un temps d'acquisition de l'image initiale est inférieur à 10 ms ;
- le canal fluide ayant une direction longitudinale, il est prévu, avant l'étape d'acquisition, d'agencer le dispositif de capture d'images par rapport au canal fluide de sorte que, sur l'image initiale, la direction longitudinale du canal fluide forme un angle inférieur à 10 degrés avec les lignes ;
- il est prévu d'éclairer le canal fluide et lesdites au moins deux gouttes tout au long de l'acquisition au moyen d'une source de lumière ;
- il est prévu de déterminer un centre de gravité de chacune des deux gouttes et de calculer la distance entre les deux gouttes comme la distance entre les deux centres de gravité ;
- il est prévu de déterminer une vitesse de ladite au moins une des deux gouttes sur la base du contour, du délai et en prenant en compte au moins un paramètre optique du dispositif de capture d'images ou une distance prédéterminée représentée sur l'image initiale.

[0017] L'invention propose aussi un procédé de production d'une série de gouttes, la série de gouttes étant en mouvement dans un canal fluide d'un dispositif fluide, le procédé comprenant les étapes suivantes :

- sélection d'une fréquence de référence pour la production de la série de gouttes ;
- détermination d'une fréquence de production de la série gouttes dans le canal fluide par un procédé tel que décrit ci-dessus ;
- comparaison de la fréquence de production et de la fréquence de référence ;
- détermination, sur la base de la comparaison, d'une consigne de débit ou de pression d'un fluide injecté dans le dispositif fluide en amont du canal fluide pour produire la série de gouttes.

[0018] L'invention concerne aussi un dispositif de détermination d'une fréquence de production d'une série de gouttes en mouvement dans un canal fluide, le système comprenant un dispositif de capture d'images à obturateur déroulant adapté à acquérir une image initiale d'au moins deux gouttes en série dans le canal fluide, l'image initiale comprenant une matrice de pixels formant des lignes et des colonnes, les lignes étant acquises séquentiellement les unes après les autres au moyen de l'obturateur déroulant, et un calculateur programmé pour mettre en œuvre :

- la détection, à partir de l'image initiale l'image initiale, d'un contour d'au moins une des deux gouttes ;
- le calcul de la fréquence de production, sur la base du contour, d'un délai entre

l'acquisition de deux lignes de pixels successives et d'une distance entre les deux gouttes.

[0019] L'invention concerne enfin un système de tri de gouttes comprenant un dispositif tel que décrit ci-dessus.

[0020] Avantageusement, le système est un dispositif microfluidique ou un cytomètre en flux.

[0021] Bien entendu, les différentes caractéristiques, variantes et formes de réalisation de l'invention peuvent être associées les unes avec les autres selon diverses combinaisons dans la mesure où elles ne sont pas incompatibles ou exclusives les unes des autres.

Description de l'invention

[0022] La description qui va suivre en regard des dessins annexés, donnés à titre d'exemples non limitatifs, fera bien comprendre en quoi consiste l'invention et comment elle peut être réalisée.

[0023] Sur les dessins annexés :

[0024] [Fig.1] est une vue schématique d'un système de détermination d'une fréquence de production de gouttes en mouvement dans un canal fluidique.

[0025] [Fig.2] est une illustration schématique d'une acquisition d'une image par obturateur déroulant représentant des opérations sur des lignes de capteurs en fonction du temps (t).

[0026] [Fig.3] est un schéma bloc d'une séquence d'étapes permettant de déterminer la vitesse et la fréquence de production de gouttes en mouvement dans un canal fluidique au moyen du système de la [Fig.1].

[0027] [Fig.4] est une image acquise séquentiellement, au moyen du système de la [Fig.1], d'une pluralité de gouttes en mouvement dans un canal fluidique.

[0028] [Fig.5] est une image dérivée de l'image de la [Fig.4] construite en décalant les lignes de pixels avec une première valeur de décalage.

[0029] [Fig.6] est une autre image dérivée de l'image de la [Fig.4] construite en décalant les lignes de pixels avec une autre valeur de décalage.

[0030] [Fig.7] est encore une autre image dérivée de l'image de la [Fig.4] construite en décalant les lignes de pixels avec encore une autre valeur de décalage.

[0031] [Fig.8] est une représentation d'un traitement de l'image de la [Fig.6] illustrant une détermination des contours des gouttes.

[0032] [Fig.9] est une représentation graphique d'indices de circularité des gouttes sur des images dérivées (comme représenté sur les figures 6, 7 et 8) en fonction des décalages utilisés pour construire les images dérivées, ainsi que d'une courbe d'ajustement permettant de déterminer une valeur de décalage optimum.

[0033] [Fig.10] est une représentation schématique d'une goutte de la pluralité de gouttes de la [Fig.4] permettant de déterminer une déformation des gouttes.

- [0034] [Fig.11] est un schéma bloc d'une séquence d'étapes permettant la production de gouttes avec une régulation de leur fréquence de production.
- [0035] La [Fig.1] représente un système 1 de détermination d'une fréquence de production f_p d'une série de gouttes 2 en mouvement dans un dispositif fluidique 3. Les gouttes 2 sont plus particulièrement en mouvement dans un canal fluidique 31 du dispositif fluidique 3. Comme le montre la [Fig.1], le canal fluidique 31, par la suite appelé canal 31, est ici rectiligne suivant une direction longitudinale. Les gouttes 2 ont ainsi un mouvement de translation rectiligne dans le canal 31. Sur la [Fig.4], les gouttes 2 se déplacent rectilignement de gauche à droite parallèlement à la direction longitudinale du canal 31. Comme le montre la [Fig.1], les gouttes 2 de la série sont situées les unes derrière les autres le long de la direction longitudinale, cela signifie que la série de gouttes 2 forme une ligne de gouttes 2.
- [0036] Dans l'exemple de réalisation décrit ici, c'est-à-dire en référence aux figures 1 à 11, le dispositif fluidique 3 est plus particulièrement un dispositif microfluidique 3, aussi appelé puce microfluidique, tel que représenté en [Fig.1]. Dans cet exemple, le canal 31 est alors un canal microfluidique. La section du canal 31 est alors par exemple comprise entre $10\ \mu\text{m}^2$ et $150\ 000\ \mu\text{m}^2$ et la longueur entre $50\ \mu\text{m}$ et $1\ \text{cm}$. Les gouttes 2 sont alors plus particulièrement des microgouttes 2, ce qui signifie que leur taille, i.e. ici leur diamètre, est par exemple comprise entre $1\ \mu\text{m}$ et $300\ \mu\text{m}$.
- [0037] Les gouttes 2 ont dans le canal 31 une forme qui est globalement sphérique ou une forme de sphère aplatie. Le dispositif fluidique 3 est ici sensiblement plan. Le plan du dispositif fluidique 3, référencé P1 sur la [Fig.1], est notamment parallèle à la direction principale. Parallèlement à ce plan P1, les gouttes 2 présentent une forme circulaire, ce qui signifie que leur contour est globalement un cercle.
- [0038] Le dispositif microfluidique 3 comprend aussi un canal central 32 d'injection et deux canaux latéraux 33 d'injection débouchant sur une jonction 35 avec le canal central 32, de part et d'autre de, et perpendiculairement à, cette jonction 35. Le canal central 32 contient un liquide d'échantillon qui est par exemple de l'eau pure ou un milieu aqueux tel qu'un tampon phosphate salin (PBS), et les canaux latéraux 33 un liquide de gaine qui est par exemple de l'huile. Dans ce cas, les gouttes 2 sont alors des microgouttes d'eau en suspension dans l'huile. Les gouttes 2 sont produites lorsque les flux d'huile 4 divisent le flux d'eau 5 en volumes distincts. La production des gouttes 2 a ici lieu à la jonction 35 du canal central 32 avec les canaux latéraux 33. Après avoir parcouru le canal 31, les gouttes 2 sont par exemple collectées dans un réservoir 34 connecté en sortie du canal 31.
- [0039] De préférence, les gouttes 2 sont triées (mécanisme non représenté) avant d'être collectées. Pour cela, les gouttes 2 sont par exemple analysées par fluorescence au moyen d'un laser. Lorsqu'une goutte d'intérêt est détectée, elle est alors extraite canal

pour être orientée dans un canal de collection. Connaître la fréquence de production f_p des gouttes 2 est alors important pour synchroniser l'extraction de la goutte du flux de liquide.

- [0040] D'autres configurations du dispositif microfluidique 3 sont envisageables. De même d'autres liquides d'échantillon et d'autres liquides de gaine peuvent être utilisés, par exemple pour former des microgouttes d'huile en suspension dans de l'eau.
- [0041] En variante de l'exemple représenté sur les figures, le dispositif fluidique est un cytomètre en flux. Les gouttes présentent alors un diamètre qui est par exemple compris entre 30 μm et 300 μm . Le canal fluidique peut alors être ouvert dans le sens où il n'est pas délimité par des parois en verre ou en plastique mais par de l'air. Les gouttes sont produites dans le flux par la vibration d'un actionneur piézoélectrique.
- [0042] De façon générale, la fréquence de production f_p des gouttes 2 est ici définie comme l'inverse du temps séparant la production de deux gouttes 2 successives, i.e. deux gouttes 2 produites l'une après l'autre. La fréquence de production f_p est ici égale à la fréquence de passage dans le canal microfluidique 31.
- [0043] Comme le montre la [Fig.1], le système 1 comprend un dispositif de capture d'images 11 agencé pour acquérir au moins une image des gouttes 2. Le canal 31 comprenant les gouttes 2 est situé dans le champ de vue C du dispositif de capture d'images 11. Ici, le système 1 comprend aussi une source de lumière 12 située à l'opposé du dispositif de capture d'images 11 par rapport au canal 31. Le canal 31 est ainsi interposé entre la source de lumière 12 et le dispositif de capture d'images 11 de sorte à être imagé par transparence. En variante, l'éclairage peut se faire du même côté que le dispositif de capture d'images, par réflexion sur le dispositif fluidique 3.
- [0044] Pour simplifier la compréhension, la [Fig.1] représente schématiquement deux plans qui sont en pratique distincts et plus particulièrement orthogonaux. Un premier plan est le plan P1 du dispositif fluidique 3 (correspondant au plan de la figure) et un deuxième plan est celui selon lequel sont alignés le dispositif de capture d'images 11 et la source de lumière 12. En d'autres termes, le dispositif de capture d'images 11 et la source de lumière 12 sont en pratique alignés selon une direction perpendiculaire au plan de la [Fig.1] et le dispositif fluidique 3 représenté en [Fig.1] correspond à une image qui pourrait être acquise par le dispositif de capture d'images 11.
- [0045] Le dispositif de capture d'images 11 comprend plus particulièrement un obturateur déroulant, plus connu sous le nom anglais de « rolling shutter ». Chaque image qu'il acquiert est ainsi acquise de manière séquentielle dans le sens où elle est acquise ligne par ligne.
- [0046] Classiquement, l'obturateur déroulant est ici réalisé de manière électronique.
- [0047] Le dispositif de capture d'images 11 comprend plus particulièrement un détecteur constitué d'une pluralité de capteurs, ici des capteurs CMOS, agencés selon une

matrice formant des lignes L1, L2 et des colonnes (les termes lignes et colonnes étant interchangeable puisque conventionnelles). Le fonctionnement du dispositif de capture d'images 11 est illustré en [Fig.2]. Chaque image est acquise séquentiellement, ligne de capteurs par ligne de capteurs. La première ligne L1 de capteurs, ici celle du haut, est initialisée (bloc I sur la [Fig.2]), puis intègre la lumière provenant du canal 31 éclairée par la source de lumière 12 (bloc E sur la [Fig.2]), puis les signaux électriques produits par les capteurs sont lus (bloc L sur la [Fig.2]), i.e. collectés par un circuit électrique dédié. La deuxième ligne L2 de capteurs est acquise avec un décalage temporel par rapport à la première ligne L1. Cela signifie que : i) la deuxième ligne L2 est initialisée après la fin de l'initialisation de la première ligne L1, ii) les temps d'intégration des deux lignes se superposent partiellement, iii) la deuxième ligne L2 est lue après la fin de la lecture de la première ligne L1. Comme le montre la [Fig.2], il en va de même pour les lignes suivantes.

[0048] Ainsi, le mécanisme d'obturateur déroulant est obtenu par un déroulement électronique du détecteur.

[0049] Chaque image acquise comprend une matrice de pixels formant des lignes et des colonnes. Sur la [Fig.4], les lignes de pixels s'étendent de droite à gauche et les colonnes de haut en bas. Les lignes de pixels correspondent aux lignes L1, L2 de capteurs et les colonnes de pixels correspondent aux colonnes de capteurs. En d'autres termes, chaque image est aussi acquise séquentiellement ligne de pixels par ligne de pixels. Ainsi, un objet en mouvement dans le champ de vue C du dispositif de capture d'images 11 lors de l'acquisition de l'image apparaît déformé puisque ses différentes portions sont acquises par différentes lignes L1, L2 de capteurs à des instants successifs.

[0050] Le dispositif de capture d'images 11 comprend aussi son propre processeur conçu pour interpréter les signaux collectés par le circuit électrique dédié afin de construire les images.

[0051] Le temps entre l'acquisition de deux lignes de capteurs successives, appelé par la suite temps ligne t_L , est une donnée intrinsèque du dispositif de capture d'images 11. Le temps ligne t_L est plus spécifiquement égal à un délai entre deux actions identiques du dispositif de capture d'images 11 sur deux lignes de capteurs successives, par exemple la première ligne L1 et la deuxième ligne L2. Le temps ligne t_L correspond donc au décalage temporel précité. Le temps ligne t_L est donc aussi égal au délai entre l'acquisition d'une ligne de pixels et l'acquisition de la ligne de pixels suivante, c'est-à-dire au délai entre l'acquisition de deux lignes de pixels successives, l'acquisition d'une ligne de pixels débutant à l'initialisation (bloc I) de la ligne de capteurs correspondante.

[0052] Le temps ligne t_L est par exemple le délai entre le début de l'initialisation d'une ligne

de capteurs et le début de l'initialisation de la ligne de capteurs suivante (comme cela est représenté sur la [Fig.2]) ou encore le délai entre le début de la lecture d'une ligne et le début de la lecture de la ligne de capteurs suivante. En pratique, cette donnée est fournie par le constructeur du dispositif de capture d'images 11. De préférence, le dispositif de capture d'images 11 est sélectionné de sorte à présenter un temps ligne t_L inférieur à 10 μ s. Le temps ligne t_L correspond à un paramètre de construction du dispositif de capture d'images 11 à obturateur déroulant. Le temps ligne t_L reste constant pour un dispositif de capture d'images à obturateur déroulant donné.

[0053] Comme le montre la [Fig.1], le système 1 comprend aussi un calculateur 13 configuré pour commander le dispositif de capture d'images 11. Le calculateur 13 comprend ici au moins une mémoire et au moins un processeur. La mémoire est un support d'enregistrement lisible par ordinateur comprenant des instructions qui, lorsqu'elles sont exécutées par le processeur permettent de commander le dispositif de capture d'images 11. Le calculateur 13 est notamment configuré pour déclencher les captures d'images.

[0054] Le calculateur 13 est plus particulièrement programmé pour mettre en œuvre un procédé de détermination de la fréquence de production f_p des gouttes 2, et cela à partir de la capture d'une seule image 40, appelée par la suite image initiale 40, par le dispositif de capture d'images 11. Ce procédé est ici mis en œuvre par le système 1. Bien entendu, il peut être mis en œuvre par tout système approprié qui se base sur une acquisition séquentielle d'images.

[0055] Le procédé de détermination de la fréquence de production f_p comprend les étapes principales suivantes :

- acquisition, au moyen du dispositif de capture d'images 11 à obturateur déroulant, de l'image initiale 40 d'au moins deux gouttes 2 dans le canal 31 ;
- détection, à partir de l'image initiale 40, d'un contour 21 d'une des deux gouttes 2 ;
- détermination, sur la base du contour 21, d'un taux de déformation T de la goutte 2 ;
- détermination d'une distance entre les deux gouttes 2 ;
- calcul, sur la base du taux de déformation T , du temps ligne t_L , et de la distance entre les deux gouttes 2, de la fréquence de production f_p .

[0056] Le procédé comprend ici une étape de détermination du taux de déformation T qui est un paramètre intermédiaire servant à la détermination de la fréquence de production f_p . Le taux de déformation T est représentatif du mouvement, c'est-à-dire la vitesse, de la goutte 2 dans le canal 31. Le taux de déformation T correspond ici à une valeur partiellement adimensionnée de la vitesse des gouttes 2 dans le sens où il est exprimé en pixels par unité de temps. Le taux de déformation T dépend de la vitesse des gouttes 2 et de l'agencement du dispositif de capture d'image 3 par rapport au canal 31.

- [0057] Le contour 21 de la goutte 2 renseigne sur le déplacement de la goutte 2 au cours de l'acquisition de l'image initiale 40. En effet, puisque la goutte 2 avance au cours de l'acquisition, son contour 21 apparaît déformé par rapport à un cercle.
- [0058] De préférence, le procédé comprend une étape préalable (non représentée) d'agencement du dispositif de capture d'images 11 par rapport au canal 31 de sorte que, sur l'image initiale 40, une direction principale D1 selon laquelle les gouttes 2 sont en mouvement ou la direction longitudinale du canal microfluidique 31 forme un angle inférieur à 10 degrés avec les lignes de pixels. Ici, la direction longitudinale du canal microfluidique 31 est parallèle à la direction principale D1.
- [0059] De manière encore plus préférentielle, l'image initiale 40, la direction principale D1 ou la direction longitudinale du canal microfluidique 31 est parallèle aux lignes de pixels, comme c'est le cas sur la [Fig.4] sur laquelle deux lignes de pixels LP1, LP2 sont représentées.
- [0060] Comme le montre la [Fig.3], le procédé commence plus particulièrement par une première étape E1 d'acquisition de l'image initiale 40. Au cours de la première étape E1, la source de lumière 12 est ici allumée. De préférence, la source de lumière 12 est allumée en continu pendant l'intégralité du procédé.
- [0061] Dans l'exemple représenté en [Fig.4], une pluralité de gouttes 2, ici une vingtaine de gouttes 2, est comprise dans le champ de vue C au cours de l'acquisition de l'image initiale 40. En conséquence, la pluralité de gouttes 2 est représentée sur l'image initiale 40. Comme cela apparaît par la suite, avoir plusieurs gouttes 2 sur l'image initiale 40 permet de déterminer des valeurs moyennes (ou médianes) ce qui augmente la précision de la détermination de la fréquence de production f_p . Les gouttes 2 de cette pluralité, i.e les gouttes 2 représentées sur l'image initiale 40, sont par la suite appelés « les gouttes ».
- [0062] Toutefois, la fréquence de production f_p peut être déterminée sur la base de seulement deux gouttes 2. En d'autres termes, imager seulement deux gouttes 2 (donc successives) peut suffire à déterminer la distance et donc la fréquence de production f_p . En revanche, imager une seule goutte 2 suffit pour déterminer le taux de déformation T.
- [0063] La portion du canal 31 imagée est ici régulière, en ce sens qu'il présente une section constante sur toute l'image initiale 40. Par conséquent, les gouttes 2 se déplacent toutes avec la même vitesse, leur taux de déformation T est donc identique. En variante, lorsque la portion du canal 31 imagée est irrégulière, seule une section régulière, ou la plus régulière possible, de cette portion est prise en compte dans le procédé.
- [0064] Comme expliqué précédemment, l'image initiale 40 est acquise ligne de pixels par ligne de pixels. Ici, la première ligne LP1 située en haut de la [Fig.4] est acquise en première, les autres lignes sont successivement acquises en partant de la première ligne

LP1.

- [0065] Avantageusement, lorsque la direction principale D1 est parallèle aux lignes de pixels, des portions correspondantes des gouttes 2 sont acquises en même temps puisque situées sur une même ligne de pixels. Les déformations des différentes gouttes 2 représentées sur l'image initiale 40 sont ainsi sensiblement identiques, ce qui augmente la précision de la détermination du taux de déformation T.
- [0066] Dans un premier mode de réalisation du procédé de détermination du taux de déformation T, représenté en [Fig.3], la détermination du taux de déformation T est basée sur la construction d'images dérivées 41. L'idée de ce premier mode de réalisation est de recaler l'image initiale 40 au moyen des images dérivées 41 de manière à obtenir des gouttes 2 de forme circulaire sur au moins une image dérivée 41. Le recalage permettant d'obtenir une forme circulaire renseigne sur le déplacement des gouttes 2 au cours de l'acquisition de l'image initiale 40, et donc du taux de déformation T des gouttes 2.
- [0067] Ainsi, dans le premier mode de réalisation, le procédé continue avec une deuxième étape E2 au cours de laquelle le calculateur 13 construit les images dérivées 41.
- [0068] La deuxième étape E2 comprend tout d'abord la détermination de valeurs de décalage. De façon générale, les valeurs de décalage sont des nombres entiers positifs distincts les uns des autres. Les valeurs de décalage sont de préférence tous les nombres entiers positifs de 1 à une valeur de décalage maximum N. Les valeurs de décalage peuvent aussi varier de n à N par pas de p, avec $n \geq 1$ et $p \geq 1$, par exemple $n=p=5$. Cela permet, au détriment de la précision sur la détermination du taux de déformation T, de réduire le temps de calcul. La valeur de décalage maximum N est ici prédéterminée. Elle est par exemple comprise entre 20 et 1000. La valeur de décalage maximum N peut ici dépendre d'une vitesse estimée des gouttes.
- [0069] Chaque image dérivée 41 est associée de manière bijective à une valeur de décalage. Chaque image dérivée 41 est alors construite en translatant successivement les lignes de pixels d'un nombre de pixels proportionnel à la valeur de décalage qui est associée à ladite image dérivée 41. Translater signifie ici déplacer ou décaler les lignes de pixels par rapport à leur position sur l'image initiale 40. En d'autres termes, la translation est un décalage dans la direction des lignes de pixels (i.e. de droite à gauche sur la [Fig.4]). Les lignes de pixels sont translatées à l'opposé du mouvement des gouttes 2, i.e. un sens contraire au mouvement des gouttes 2. Cela permet de compenser, sur les images dérivées 41 la déformation des gouttes due à leur déplacement au cours de l'acquisition de l'image 41. Ici, en référence à la [Fig.4], les lignes de pixels sont ainsi translatées vers la gauche puisque les gouttes se déplacent vers la droite.
- [0070] Chaque ligne de pixels de chaque image dérivée 41 est plus spécifiquement translatée d'un nombre de pixels égal à la valeur de décalage multipliée par un indice de ladite

ligne de pixels. Par convention, sur l'image initiale 40 illustrée en [Fig.4], les indices sont ici des nombres entiers positifs comptés de la ligne du haut, d'indice 1, à la ligne du bas. Cette construction d'images dérivées 41 est illustrée en détails sur les figures 5, 6 et 7.

- [0071] La [Fig.5] illustre une première image dérivée 41A correspondant à la valeur de décalage 5, à partir de l'image initiale 40 représentée en [Fig.4]. La première ligne LP1, i.e. la ligne du haut d'indice 1, est translatée de 5 pixels (5×1) vers la gauche. Ensuite, la deuxième ligne LP2, i.e. la ligne en deuxième position en partant du haut et d'indice 2, est translatée de 10 pixels (5×2) vers la gauche. La première ligne LP1 et la deuxième ligne LP2, qui sont strictement en vis-à-vis sur l'image initiale 40, sont donc désormais décalées de 5 pixels l'une par rapport à l'autre sur la première image dérivée 41A. De façon itérative, la troisième ligne d'indice 3 est translatée de 15 pixels et ainsi de suite.
- [0072] La [Fig.6] illustre une deuxième image dérivée 41B correspondant à la valeur de décalage 10, à partir de l'image initiale 40 représentée en [Fig.4]. La première ligne d'indice 1 est translatée de 10 pixels (10×1), la deuxième ligne d'indice 2 de 20 pixels (10×2) et ainsi de suite. La [Fig.7] illustre une troisième image dérivée 41C correspondant à la valeur de décalage 15, à partir de l'image initiale 40 représentée en [Fig.4]. La première ligne d'indice 1 est translatée de 15 pixels (15×1), la deuxième ligne d'indice 2 de 30 pixels (15×2) et ainsi de suite. Sur les figures 5 à 7, la forme des gouttes 2 semble être la plus proche d'une forme circulaire pour la valeur de décalage 10. Au-delà de la valeur 10, la circularité des gouttes 2 se dégrade à nouveau.
- [0073] A titre d'exemple, 25 images dérivées 41 sont construites à la deuxième étape E2 pour des valeurs de décalage allant de 1 à 25 par pas de 1.
- [0074] Une fois les images dérivées 41 construites, le procédé se poursuit par une troisième étape E3 de détection des contours 21' des gouttes 2 sur les images dérivées 41. Les contours des gouttes 2 sur les images dérivées 41 sont par la suite appelée contours dérivés 21'.
- [0075] Au cours de la troisième étape E3, le calculateur 13 détecte plus particulièrement le contour dérivé 21' de chaque goutte 2 sur chaque image dérivée 41. Ici, seules les gouttes 2 représentées en intégralité sont prises en compte, celles partiellement représentées qui se situent en bordure d'image sont exclues.
- [0076] Les contours dérivés 21' sont par exemple détectés au moyen d'un seuillage sur l'intensité des pixels. En effet, comme le montrent les figures 4 à 7, il existe un contraste entre le liquide d'échantillon et le liquide de gaine, ce qui permet d'extraire les surfaces 22 correspondant aux gouttes 2. les gouttes 2 sont ici plus sombres que le liquide de gaine. Toutefois, les gouttes 2 peuvent aussi apparaître plus clair que le liquide de gaine ou parfois comme un simple liseré blanc ou noir correspondant au

contour (seuls les contours sont alors visibles). La méthode d'extraction des contours dérivés 21' est adaptée à la situation.

- [0077] Les surfaces 22 des gouttes représentées en [Fig.6] sont par exemple illustrées en [Fig.8]. Comme le montre la [Fig.8], les contours dérivés 21' sont alors déterminés comme le bord de ces surfaces 22. De préférence, le seuillage en intensité est local.
- [0078] Les contours dérivés 21' peuvent aussi être détectés au moyen d'un filtrage pour détection de contours, tel qu'un filtre Sobel ou un filtre de Kany, ou grâce à un filtre de recherche d'objets circulaires par exemple par une transformée de Hough.
- [0079] Le procédé comprend ensuite une quatrième étape E4 dans laquelle le calculateur 13 calcule un indice de circularité de chaque contour dérivé 21'. Un indice de circularité est une valeur, ici réelle positive, représentative de la proximité de forme d'un contour 21 ou d'un contour dérivé 21' avec un cercle. Un indice de circularité d'un contour 21 ou d'un contour dérivé 21' d'une goutte 2 est par exemple calculé sur la base d'un ratio entre le périmètre de la goutte 2 et l'aire de la goutte 2. Ici, l'indice de circularité est calculé selon l'indice de Heywood. Il peut aussi être calculé sur la base d'un ratio entre un grand axe et un petit axe de la goutte 2.
- [0080] Ici, pour chaque image dérivée 41, un indice de circularité moyen est calculé comme la moyenne des indices de circularité de chaque goutte 2 représentée sur l'image dérivée 41. En suivant l'exemple précédent, la quatrième étape E4 comprend le calcul de 25 indices de circularité moyens pour les 25 images dérivées 41 construites à la deuxième étape E2.
- [0081] Le procédé comprend ensuite une cinquième étape E5 de détermination, sur la base des indices de circularité moyens, d'une valeur de décalage optimum M. La valeur de décalage optimum M est celle qui corrige le mieux le contour 21 de la goutte 2 pour approcher un cercle. La valeur de décalage optimum M est ici une valeur réelle sans dimension. La valeur de décalage optimum M est en effet exprimée en pixels dans le sens où sa valeur est un nombre réel représentatif d'un nombre de pixels.
- [0082] La cinquième étape E5 comprend ici la détermination par le calculateur 13 d'une courbe d'ajustement 50 des indices de circularité moyens en fonction des valeurs de décalage. Chaque image dérivée 41 étant associée à une valeur de décalage, chaque indice de circularité moyen est donc aussi associé à une valeur de décalage. Une représentation graphique des indices de circularité moyens en fonction des valeurs de décalage apparaît sur la [Fig.9].
- [0083] La courbe d'ajustement 50 est ici obtenue en ajustant, par exemple par la méthode des moindres carrés, une fonction polynomiale avec en entrée les valeurs de décalage et en sortie les indices de circularité moyens. La courbe d'ajustement 50 ainsi une fonction polynomiale qui représente statistiquement les indices de circularité moyens en fonction des valeurs de décalage. La courbe d'ajustement 50 est ainsi ici obtenue

par une régression polynomiale. La fonction polynomiale présente par exemple un degré compris entre 2 et 6. En variante, la courbe d'ajustement pourrait aussi être obtenue par une régression exponentielle.

- [0084] En suivant l'exemple précédent, la [Fig.9] illustre la courbe d'ajustement 50 obtenue pour les 25 indices de circularité moyens calculés à la quatrième étape E4.
- [0085] Une fois la courbe d'ajustement 50 calculée, le calculateur 13 détermine le minimum de la courbe d'ajustement 50. Cette détermination est par exemple réalisée au moyen d'une analyse de la dérivée de la courbe d'ajustement 50.
- [0086] Comme le montre la [Fig.9], dans ce premier mode de réalisation, la valeur de décalage optimum M est alors définie comme l'abscisse M du minimum de la courbe d'ajustement 50. La valeur de décalage optimum M est donc celle dont l'image par la courbe d'ajustement 50 est minimum.
- [0087] Ainsi, de façon remarquable, la précision sur la valeur de décalage optimum M est supérieure à la résolution de l'image initiale 40 (en ce sens qu'elle est une valeur avec des décimale et non pas entière) car toutes les valeurs de décalage utilisées pour construire les images dérivées 41 sont prises en compte avec la courbe d'ajustement 50.
- [0088] En variante, il est possible de ne pas implémenter la cinquième étape E5 et de simplement déterminer valeur de décalage optimum comme égale à la valeur de décalage correspondant à l'indice de circularité moyen le plus petit.
- [0089] Le procédé comprend ensuite une sixième étape E6 de calcul du taux de déformation T des gouttes 2. Le taux de déformation T des gouttes 2 est déterminé sur la base de valeur de décalage optimum M et du temps ligne t_L . Le calculateur 13 calcule plus spécifiquement le taux de déformation T comme le ratio de valeur de décalage optimum M sur le temps ligne t_L . La dimension taux de déformation T est donc ici l'inverse d'un temps. Le temps ligne t_L étant ici exprimé en μs , le taux de déformation T est exprimée en pixels par microseconde.
- [0090] En variante de ce premier mode de réalisation, la valeur de décalage maximum N n'est pas prédéterminée mais les images dérivées sont construites jusqu'à ce qu'un critère d'arrêt soit atteint, i.e. sans connaître à l'avance le nombre d'image dérivées qui seront construites. En d'autres termes, une boucle de type « tant que » est mise en œuvre à la place d'une boucle de type « pour ». Pour chaque image dérivée, les étapes E3, E4 et E5 sont alors implémentées de manière à calculer l'indice de circularité moyen de ladite image dérivée. Ce critère d'arrêt est par exemple la fait que le dernier indice de circularité moyen calculé (i.e. celui de la dernière image dérivée construite) est supérieur à l'indice de circularité moyen de la première image dérivée ou le fait que la différence entre le dernier et l'avant dernier indice de circularité moyen est trois fois supérieure à variance des indices de circularité moyens déjà calculés. La courbe

d'ajustement peut aussi être ajustée au fur et à mesure que les indices de circularité moyens sont calculés. Le critère d'arrêt peut alors aussi être le fait que la courbe d'ajustement devient à nouveau décroissante ou atteint un deuxième minimum local, la valeur de décalage optimum étant alors définie comme l'abscisse du premier minimum local de la courbe d'ajustement. La valeur de décalage maximum N est alors celle correspondant au critère d'arrêt.

- [0091] Dans un deuxième mode de réalisation, représenté en [Fig.10], le calculateur détermine une déformation du contour 21 de la goutte 2 directement partir de l'image initiale 40. La déformation est représentative d'une différence entre une forme d'une goutte 2 dans le canal 31 et une forme de cette goutte 2 sur l'image initiale 40.
- [0092] Pour une goutte 2 donnée, la déformation est alors calculée sur la base d'une différence de position entre :
 - une première extrémité 24 de la goutte 2 qui est acquise en première ; et
 - une deuxième extrémité 25 de la goutte 2 qui est acquise en dernière.
- [0093] Ce deuxième mode de réalisation peut aussi comprendre la détection des contours 21 des gouttes 2 représentées sur l'image initiale 40. Un contour moyen peut alors être reconstruit comme la moyenne de ces contours 21. La première extrémité 24 et la deuxième extrémité 25 sont alors respectivement le point le plus haut et le point le plus bas, perpendiculairement au sens des lignes de pixels, du contour moyen.
- [0094] Comme le montre la [Fig.10], dans ce deuxième mode de réalisation, la déformation est alors égale à la distance D en pixels selon les lignes de pixels entre la première extrémité 24 et la deuxième extrémité 25 de la goutte 2 divisé par la hauteur H de la goutte 2 en pixels selon les colonnes. La goutte 2 étant de forme généralement circulaire dans le plan $P1$ du dispositif fluidique 3, la première extrémité 24 et la deuxième extrémité 25 devraient être situées l'une à la verticale de l'autre sur une image non déformée. La déformation est donc bien représentative du déplacement de la goutte 2 au cours de l'acquisition de l'image.
- [0095] Ainsi, dans ce deuxième mode de réalisation, la déformation est représentative de la comparaison entre la forme de cette goutte 2 sur l'image initiale 40 (directement ou via les images dérivées) avec un cercle, i.e. avec la forme de cette goutte 2 dans le dispositif fluidique 3 parallèlement au plan $P1$ du dispositif fluidique 3.
- [0096] Enfin, le calculateur 13 calcule le taux de déformation T comme le ratio de la déformation sur le temps ligne t_L .
- [0097] Comme le montre la [Fig.3], quel que soit le mode de réalisation, le procédé de détermination de la fréquence de production f_p comprend ensuite une septième étape E7 de détermination d'une distance entre deux gouttes 2 successives.
- [0098] De préférence, la distance entre les deux gouttes 2 successives est une moyenne réalisée sur l'ensemble des gouttes 2 représentées sur l'image initiale 40. Ceci

augmente la précision de la détermination de la distance, et donc de la détermination de la fréquence de production f_p . Pour cela, la septième étape E7 comprend par exemple le calcul de la distance entre cinq gouttes 2 produites successivement, et la division de cette distance par quatre (i.e. le nombre d'intervalles entre les cinq gouttes) pour obtenir la distance entre deux gouttes 2 successives.

- [0099] La distance entre les deux gouttes 2 successives est plus particulièrement un pas P entre ces deux gouttes 2. Le pas P est ici déterminé sur la base de l'image initiale 40. Alternativement, elle peut être déterminée sur la base des images dérivées 41.
- [0100] Le pas P est ici une distance entre deux points correspondants de chaque goutte 2, i.e. les mêmes points respectifs sur chacune des gouttes 2. A titre d'exemple, lorsque le point le plus en amont (par rapport au sens de déplacement des gouttes, i.e. ici le point le plus à gauche) d'une première goutte 2 est considéré, le pas P avec la deuxième goutte 2 est calculée comme la distance entre ledit point et le point le plus en amont de la deuxième goutte 2.
- [0101] De préférence, les points correspondants sont les centres de gravités G des gouttes 2, ce qui permet de moyenniser les positions des gouttes 2 pour une détermination plus précise du pas P. Utiliser les centres de gravités G permet de plus de s'affranchir d'éventuelles fluctuations de diamètres d'une goutte à l'autre. Ainsi, de préférence, le pas P entre deux gouttes 2 est la distance entre leur centre de gravité G, comme cela apparaît sur la [Fig.4]. Le pas P entre les gouttes 2 est alors calculée comme la norme d'un vecteur reliant les centres de gravités G des deux gouttes 2.
- [0102] Comme cela apparaît sur la [Fig.10]. Les centres de gravité G des gouttes 2 sont ici déterminés en détectant les contours 21 des gouttes 2 sur l'image initiale 40 et en déterminant les barycentres des contours 21. Lorsque les images dérivées 41 sont utilisées, les centres de gravité G des gouttes 2 sont ici déterminés en détectant les contours dérivés 21' et en déterminant les barycentres des contours dérivés 21'.
- [0103] Le procédé comprend enfin une huitième étape E8, dans laquelle le calculateur 13 calcule la fréquence de production f_p en effectuant la division du taux de déformation T des deux gouttes 2 par la distance entre les deux gouttes 2.
- [0104] Avantagusement, la distance entre deux gouttes 2 est exprimée en pixels dans le sens où sa valeur est un nombre réel représentatif d'un nombre de pixels. Ainsi, puisque le taux de déformation T est aussi exprimée en pixels (par unité de temps), la dimension de la fréquence de production f_p calculée est directement l'inverse d'un temps. En d'autres termes, il n'est pas nécessaire d'exprimer les valeurs intermédiaires de calcul (distance, taux de déformation) en mètres ou micromètres pour déterminer la fréquence de production f_p car la dimension « pixel » s'annule lors de la division. Cela évite de recourir à une calibration du système ou à une détermination complexe des paramètres optiques du système 1. Le système 1 peut ainsi être rapidement et simplement

mis en œuvre.

- [0105] De façon remarquable, le procédé permet de déterminer des fréquences de production f_p très élevées, par exemple comprises en 10 et 60 kHz (i.e. 10 000 et 60 000 gouttes par seconde). En effet, comme le montre la [Fig.4], le procédé est adapté à déterminer la fréquence de production f_p de gouttes 2 très proches les unes des autres, voire au contact les unes des autres.
- [0106] Le procédé de détermination de la fréquence de production f_p est ici mis en œuvre dans un procédé de production des gouttes 2 illustré en [Fig.11]. L'idée de ce procédé est, en déterminant la fréquence de production f_p tout au long de la production des gouttes 2, d'asservir la fréquence de production f_p sur une fréquence de référence f_r .
- [0107] Le procédé de production des gouttes 2 comprend classiquement la production des gouttes 2 dans le canal 31 en injectant le liquide d'échantillon et le liquide de gaine au moyen de pompes et/ou de pousse-seringues.
- [0108] Comme le montre la [Fig.11], le procédé de production des gouttes 2 commence plus particulièrement par une étape E0 de sélection de la fréquence de référence f_r pour la production des gouttes 2. Cette fréquence de référence f_r permet d'estimer des consignes initiales de pression, lorsque des pompes sont utilisées pour produire les gouttes 2, ou de débit, lorsque des pousse-seringues sont utilisées pour produire les gouttes 2. Ces consignes initiales permettent de produire les gouttes 2 dont la fréquence de production f_p est déterminée tel que décrit ci-dessus.
- [0109] Comme expliqué en introduction, il est très complexe voire impossible de précisément estimer ces consignes initiales de manière à atteindre la fréquence de référence f_r puisque la pression dans le dispositif fluidique 3 varie au cours du temps. Cependant, grâce à la mesure de la fréquence de production f_p , les consignes initiales peuvent être modifiées pour stabiliser la fréquence de production f_p autour de la fréquence de référence f_r .
- [0110] Pour cela, le procédé comprend tout d'abord une étape E9 de détermination de la fréquence de production des gouttes 2 dans le canal 31 au moyen du procédé de détermination de la fréquence de production f_p . Ici, l'étape E9 correspond à la combinaison des étapes E1 à E8 décrites précédemment.
- [0111] Le procédé comprend ensuite une étape E10 de comparaison de la fréquence de production f_p mesurée à l'étape E9 avec la fréquence de référence f_r sélectionnée à l'étape E0. Lors de l'étape E10, le calculateur 13 effectue ici la différence entre la fréquence de production f_p et la fréquence de référence f_r .
- [0112] Le procédé comprend enfin une étape E11 de détermination de consignes ajustées de débit ou de pression pour les liquides injectés dans le dispositif fluidique 3 en amont du canal 31. Les consignes ajustées comprennent ici une ou plusieurs consignes de débit et/ou une ou plusieurs consignes de pression. Comme expliqué en introduction, la

fréquence de production varie au cours du temps. Ainsi, les consignes ajustées sont calculées de sorte à asservir la fréquence de production f_p sur la fréquence de référence f_r . A titre d'exemple, lorsque la fréquence de production f_p est inférieure à la fréquence de référence f_r , la consigne ajustée de débit d'injection du liquide des gouttes 2 est supérieure à la consigne de référence, de sorte à accélérer la production des gouttes 2. Inversement, lorsque la fréquence de production f_p est supérieure à la fréquence de référence f_r , la consigne ajustée de débit d'injection du liquide des gouttes 2 est inférieure à la consigne de référence, de sorte à ralentir la production des gouttes 2.

- [0113] Comme le montre la [Fig.2], les étapes E9, E10 et E11 sont ici implémentées de façon itérative. Ainsi, les consignes ajustées permettent de corriger en temps réel les variations temporelles de la fréquence de production f_p pour qu'elle soit égale à la fréquence de référence f_r . Les consignes ajustées sont donc évolutives dans le temps pour maintenir la fréquence de production f_p à la valeur de consigne initiale, i.e. à la fréquence de production f_p .
- [0114] Avantagusement, le procédé de détermination de la fréquence de production f_p nécessite peu de puissance de calcul, notamment car le traitement de l'image initiale 40 se base sur des opérations matricielles simples. Ainsi, il est possible de répéter la détermination de la fréquence de production f_p à une cadence élevée, ce qui permet d'établir une rétroaction précise et rapide grâce aux consignes ajustées. L'étape E9 de détermination de la fréquence de production f_p est par exemple exécutée à une cadence comprise entre 0,01 et 150 Hz.
- [0115] De façon remarquable, le système 1 permet aussi de mettre en œuvre un procédé de détermination de la vitesse des gouttes 2. La vitesse d'une goutte 2 est ici exprimée en mètres (ou en unités dérivées du mètre comme les micromètres) par unité de temps, et non pas en pixels par unité de temps comme le taux de déformation T . La vitesse correspond ainsi à une valeur dimensionnée du taux de déformation T . Contrairement au taux de déformation T qui dépend de l'agencement du dispositif de capture d'images 11 par rapport au dispositif fluidique 3, la vitesse est une valeur absolue et indépendante de cet agencement.
- [0116] La vitesse est ainsi exprimée dans des unités dimensionnées du système SI. Pour cela, il est par exemple possible de déterminer la taille effective, par exemple en micromètres, d'un pixel de l'image initiale 40. Cela peut être fait en prenant en compte des paramètres optiques du dispositif de capture d'images 11 notamment le grandissement ou les focales des lentilles du dispositif de capture d'images 11. Cela peut aussi être fait en prenant en compte une distance prédéterminée qui est représentée sur l'image initiale telle que la largeur du canal qui est par exemple de 50 μm .
- [0117] La présente invention n'est nullement limitée aux modes de réalisation décrits et re-

présentés, mais l'homme du métier saura y apporter toute variante conforme à l'invention.

- [0118] De même, la déformation peut ne pas être une unique valeur réelle. Par exemple, la déformation peut être une représentation en deux dimensions du contour d'une goutte. La déformation est par exemple enregistrée sous la forme d'un tableau de valeurs. Il est alors possible de déterminer la vitesse en comparant ce contour à une liste de contours préétablis, par exemple au cours d'une série de tests avec des gouttes parcourant le canal à des vitesses connues. La vitesse peut alors être déterminée en recherchant le contour préétabli dont la forme est la plus proche du contour sur l'image initiale, la vitesse est alors déterminée comme la vitesse correspondant à ce contour préétabli.
- [0119] La direction principale selon laquelle une goutte est en mouvement peut aussi former un angle supérieur à 10 degrés avec les lignes de pixels. Dans un cas extrême, les lignes de pixels (acquises séquentiellement) peuvent même être perpendiculaires au mouvement. La goutte présente alors une forme allongée de symétrie axiale selon la direction principale. Cette forme renseigne aussi sur la vitesse, en ce sens qu'elle permet de la déterminer : plus la goutte est allongée plus elle va vite.

Revendications

- [Revendication 1] Procédé de détermination d'une fréquence de production (fp) d'une série de gouttes (2) en mouvement dans un canal fluide (31), le procédé comprenant les étapes suivantes :
- acquisition, au moyen d'un dispositif de capture d'images (11) à obturateur déroulant, d'une image initiale (40) d'au moins deux gouttes (2) en série dans le canal fluide (31), l'image initiale (40) comprenant une matrice de pixels formant des lignes (LP1, LP2) et des colonnes, les lignes (LP1, LP2) étant acquises séquentiellement les unes après les autres au moyen de l'obturateur déroulant ;
 - détection, à partir de l'image initiale (40), d'un contour (21, 21') d'au moins une des deux gouttes (2) ;
 - calcul de la fréquence de production (fp) sur la base du contour (21, 21'), d'un délai (t_L) entre l'acquisition de deux lignes de pixels (LP1, LP2) successives, et d'une distance entre les deux gouttes (2).
- [Revendication 2] Procédé selon la revendication 1, dans lequel il est prévu de :
- construire des images dérivées (41, 41A, 41B, 41C) à partir de l'image initiale (40), chaque image dérivée (41, 41A, 41B, 41C) étant associée à une valeur de décalage, les lignes (LP1, LP2) de chaque image dérivée (41, 41A, 41B, 41C) étant successivement translatées, par rapport à leur position sur l'image initiale (40), d'un nombre de pixels proportionnel à la valeur de décalage associée ladite image dérivée (41, 41A, 41B, 41C) ;
 - détecter, sur chaque image dérivée (41, 41A, 41B, 41C), un contour dérivé (21') de ladite au moins une des deux gouttes (2) ;
 - déterminer la fréquence de production (fp) sur la base des contours dérivés (21') déduits des images dérivées (41, 41A, 41B, 41C).
- [Revendication 3] Procédé selon la revendication 2, dans lequel les valeurs de décalage sont croissantes de 1 à un nombre entier positif (N) et dans lequel chaque ligne (LP1, LP2) de chaque image dérivée (41, 41A, 41B, 41C) est translatée, par rapport à sa position sur l'image initiale (40), d'un nombre de pixels égal à la valeur de décalage multipliée par un indice de ladite ligne (LP1, LP2).
- [Revendication 4] Procédé selon la revendication 2 ou 3, dans lequel il est prévu de :
- calculer un indice de circularité de chaque contour dérivé (21') associé à chaque image dérivée (41, 41A, 41B, 41C);
 - déterminer une courbe d'ajustement (50) des indices de circularité en

fonction des valeurs de décalage ;

- déterminer la fréquence de production (fp) en fonction d'un minimum (M) de la courbe d'ajustement (50).

[Revendication 5] Procédé selon la revendication 1, dans lequel il est prévu de déterminer une déformation, qui est représentative d'une différence entre une forme de ladite au moins une des deux gouttes (2) sur l'image initiale (40) et une forme circulaire, sur la base d'une différence de position entre une première extrémité (24) de ladite au moins une des deux gouttes (2) dans une ligne de pixels qui est acquise en première lors de l'étape d'acquisition et une deuxième extrémité (25) de ladite au moins une des deux gouttes (2) dans une autre ligne de pixels qui est acquise en dernière lors de l'étape d'acquisition, la fréquence de production (fp) étant aussi calculée sur la base de la déformation.

[Revendication 6] Procédé selon l'une des revendications 1 à 5, dans lequel il est prévu de :

- détecter un contour (21) de l'autre des deux gouttes (2),
- calculer la fréquence de production (fp) sur la base d'une moyenne du contour (21, 21') de ladite au moins une des deux gouttes (2) et du contour (21) de l'autre des deux gouttes (2).

[Revendication 7] Procédé selon l'une des revendications 1 à 6, dans lequel un temps d'acquisition de l'image initiale (40) est inférieur à 10 ms.

[Revendication 8] Procédé selon l'une des revendications 1 à 7, le canal fluide (31) ayant une direction longitudinale, dans lequel il est prévu, avant l'étape d'acquisition, d'agencer le dispositif de capture d'images (11) par rapport au canal fluide (31) de sorte que, sur l'image initiale (40), la direction longitudinale du canal fluide (31) forme un angle inférieur à 10 degrés avec les lignes (LP1, LP2).

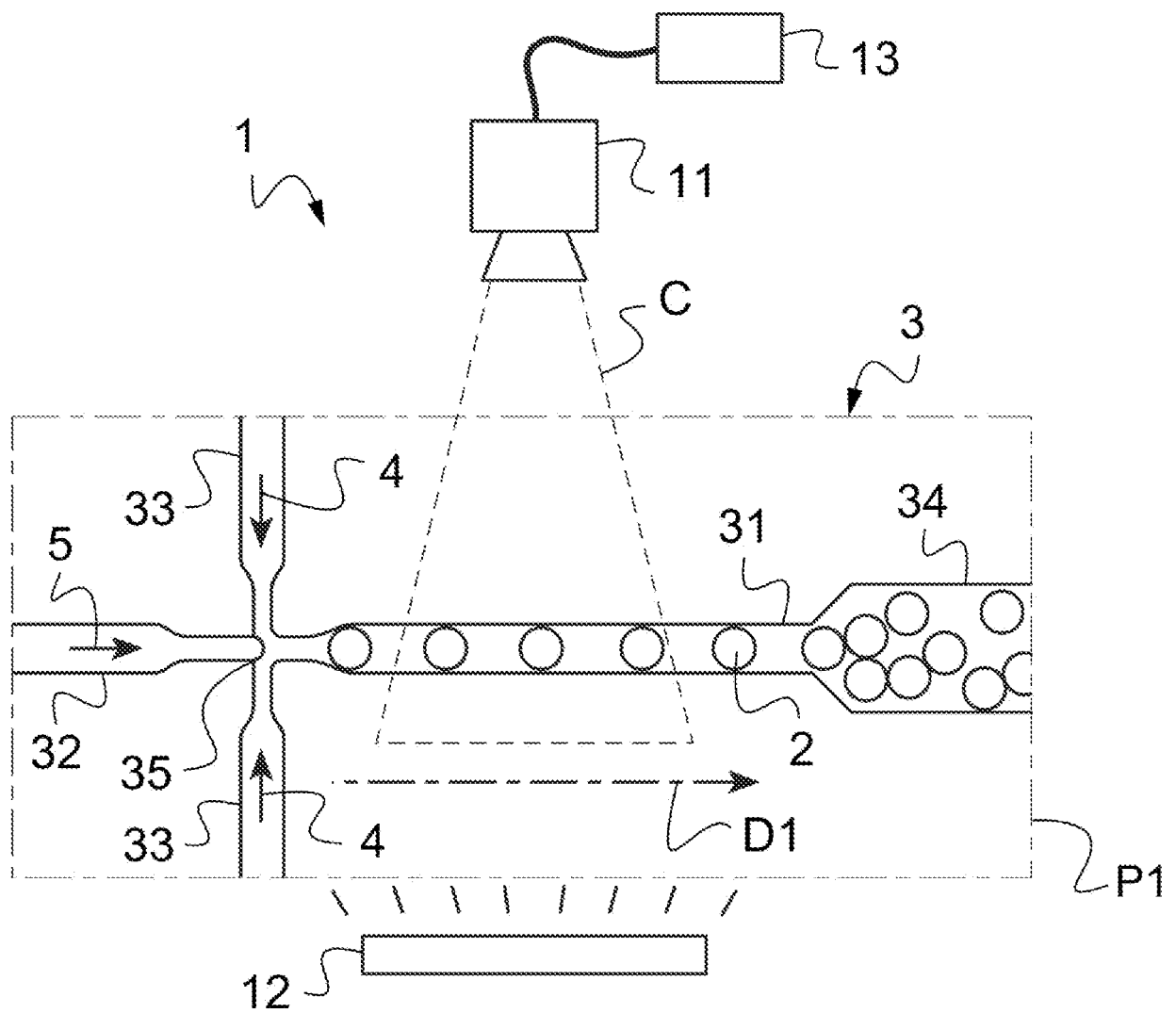
[Revendication 9] Procédé selon l'une des revendications 1 à 8, dans lequel il est prévu d'éclairer le canal fluide (31) et lesdites au moins deux gouttes (2) tout au long de l'acquisition au moyen d'une source de lumière (12).

[Revendication 10] Procédé selon l'une des revendications 1 à 9, dans lequel il est prévu de déterminer un centre de gravité (G) de chacune des deux gouttes (2) et de calculer la distance entre les deux gouttes (2) comme la distance entre les deux centres de gravité (G).

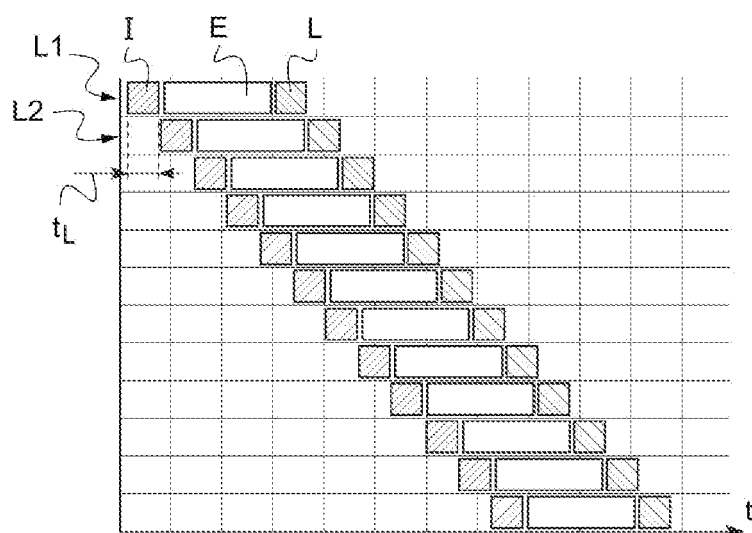
[Revendication 11] Procédé selon l'une des revendications 1 à 10, dans lequel il est prévu de déterminer une vitesse de ladite au moins une des deux gouttes (2) sur la base du contour (21), du délai (t_L) et en prenant en compte au moins un paramètre optique du dispositif de capture d'images (11) ou

- une distance prédéterminée représentée sur l'image initiale (40).
- [Revendication 12] Procédé de production d'une série de gouttes (2), la série de gouttes (2) étant en mouvement dans un canal fluidique (31) d'un dispositif fluidique (3), le procédé comprenant les étapes suivantes :
- sélection d'une fréquence de référence (f_r) pour la production de la série de gouttes (2) ;
 - détermination d'une fréquence de production (f_p) de la série gouttes (2) dans le canal fluidique (31) par un procédé selon l'une des revendications 1 à 11 ;
 - comparaison de la fréquence de production (f_p) et de la fréquence de référence (f_r) ;
 - détermination, sur la base de la comparaison, d'une consigne de débit ou de pression d'un fluide injecté dans le dispositif fluidique (3) en amont du canal fluidique (31) pour produire la série de gouttes (2).
- [Revendication 13] Dispositif de détermination d'une fréquence de production (f_p) d'une série de gouttes (2) en mouvement dans un canal fluidique (31), le système comprenant un dispositif de capture d'images (11) à obturateur déroulant adapté à acquérir une image initiale (40) d'au moins deux gouttes (2) en série dans le canal fluidique (31), l'image initiale (40) comprenant une matrice de pixels formant des lignes (LP1, LP2) et des colonnes, les lignes (LP1, LP2) étant acquises séquentiellement les unes après les autres au moyen de l'obturateur déroulant, et un calculateur (13) programmé pour mettre en œuvre :
- la détection, à partir de l'image initiale l'image initiale (40), d'un contour (21, 21') d'au moins une des deux gouttes (2) ;
 - le calcul de la fréquence de production (f_p), sur la base du contour (21, 21'), d'un délai (t_L) entre l'acquisition de deux lignes de pixels (LP1, LP2) successives et d'une distance entre les deux gouttes (2).
- [Revendication 14] Système de tri de gouttes comprenant un dispositif selon la revendication 13.
- [Revendication 15] Système de tri de gouttes selon la revendication 14, dans lequel le système est un dispositif microfluidique ou un cytomètre en flux.

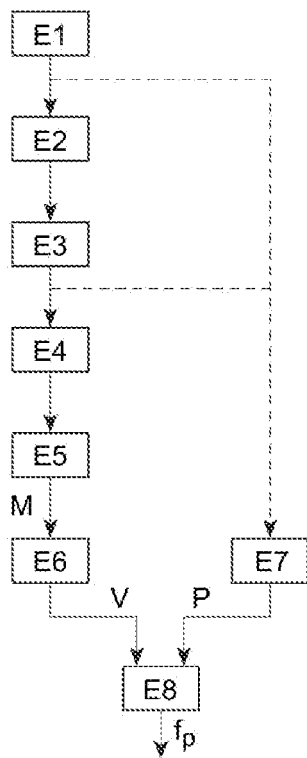
[Fig. 1]



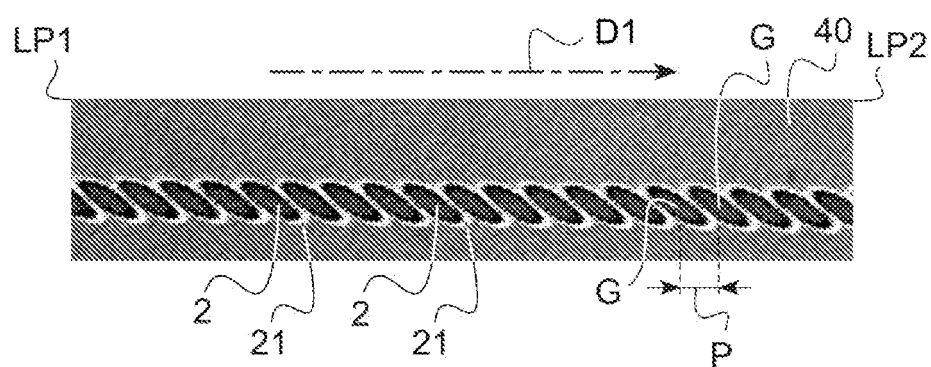
[Fig. 2]



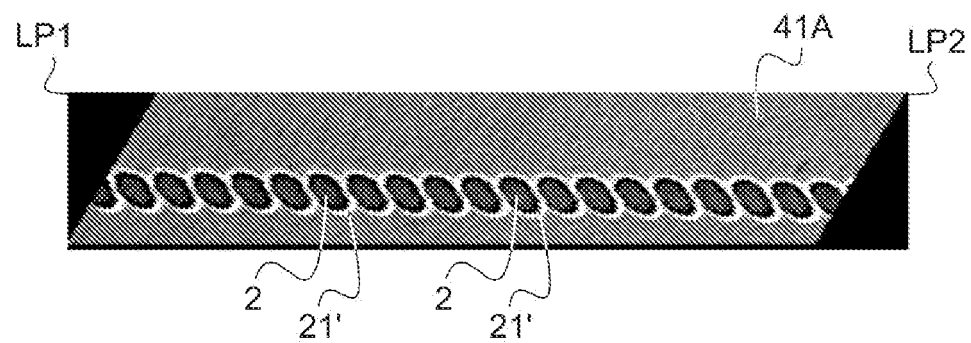
[Fig. 3]



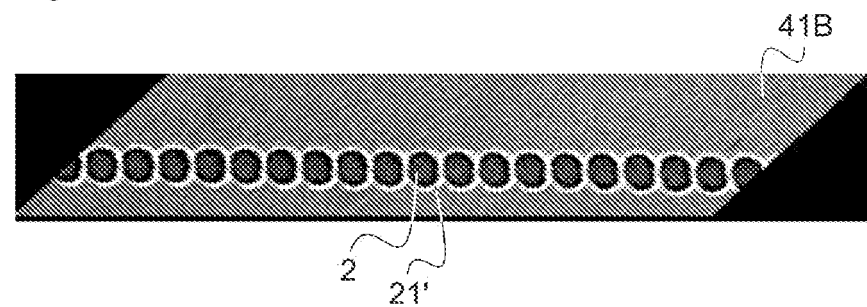
[Fig. 4]



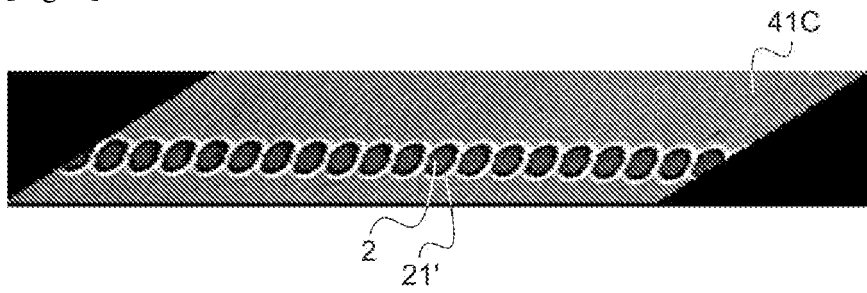
[Fig. 5]



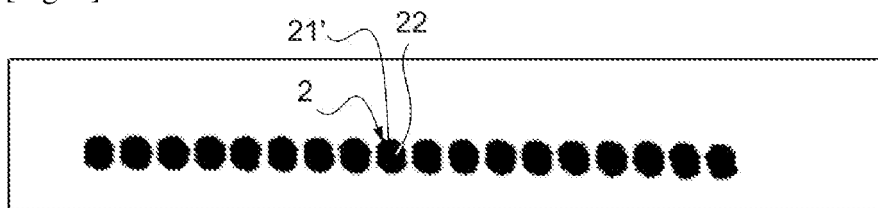
[Fig. 6]



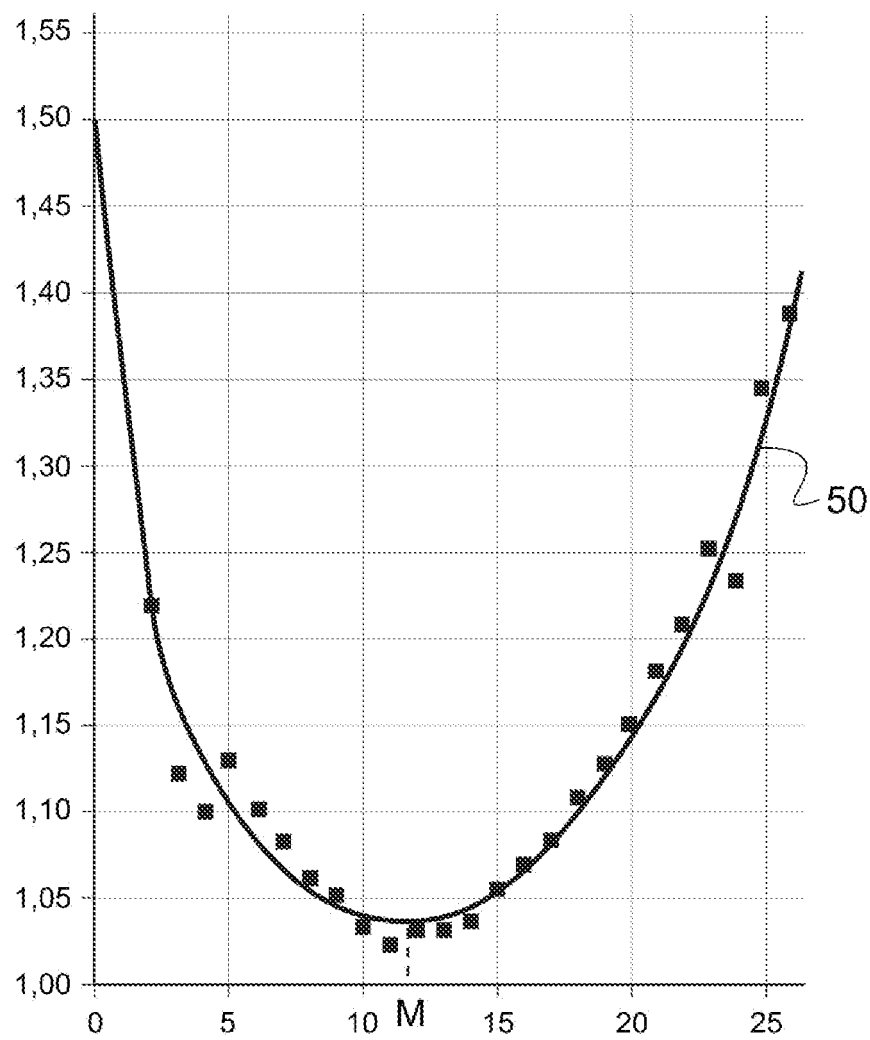
[Fig. 7]



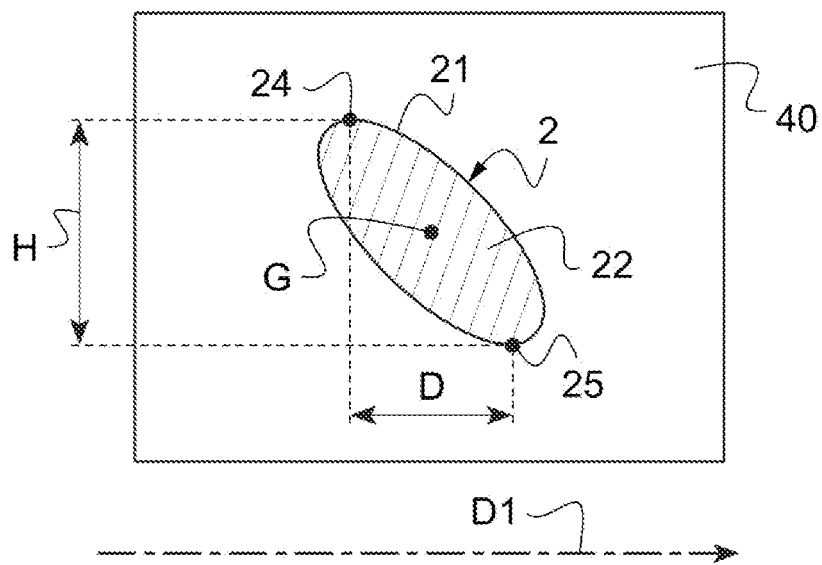
[Fig. 8]



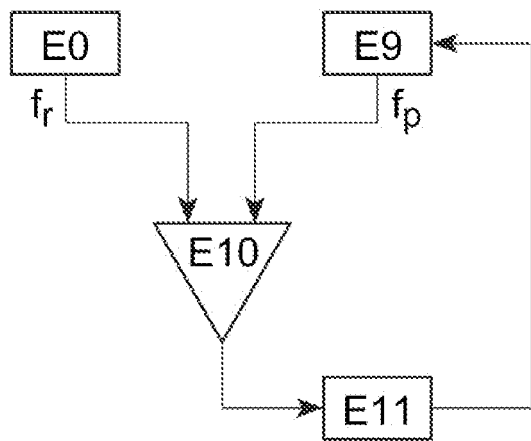
[Fig. 9]



[Fig. 10]



[Fig. 11]



RAPPORT DE RECHERCHE

articles L.612-14, L.612-53 à 69 du code de la propriété intellectuelle

OBJET DU RAPPORT DE RECHERCHE

L'I.N.P.I. annexe à chaque brevet un "RAPPORT DE RECHERCHE" citant les éléments de l'état de la technique qui peuvent être pris en considération pour apprécier la brevetabilité de l'invention, au sens des articles L. 611-11 (nouveau) et L. 611-14 (activité inventive) du code de la propriété intellectuelle. Ce rapport porte sur les revendications du brevet qui définissent l'objet de l'invention et délimitent l'étendue de la protection.

Après délivrance, l'I.N.P.I. peut, à la requête de toute personne intéressée, formuler un "AVIS DOCUMENTAIRE" sur la base des documents cités dans ce rapport de recherche et de tout autre document que le requérant souhaite voir prendre en considération.

CONDITIONS D'ETABLISSEMENT DU PRESENT RAPPORT DE RECHERCHE

☐ Le demandeur a présenté des observations en réponse au rapport de recherche préliminaire.

☒ Le demandeur a maintenu les revendications.

☐ Le demandeur a modifié les revendications.

☐ Le demandeur a modifié la description pour en éliminer les éléments qui n'étaient plus en concordance avec les nouvelles revendications.

☐ Les tiers ont présenté des observations après publication du rapport de recherche préliminaire.

☐ Un rapport de recherche préliminaire complémentaire a été établi.

DOCUMENTS CITES DANS LE PRESENT RAPPORT DE RECHERCHE

La répartition des documents entre les rubriques 1, 2 et 3 tient compte, le cas échéant, des revendications déposées en dernier lieu et/ou des observations présentées.

☐ Les documents énumérés à la rubrique 1 ci-après sont susceptibles d'être pris en considération pour apprécier la brevetabilité de l'invention.

☒ Les documents énumérés à la rubrique 2 ci-après illustrent l'arrière-plan technologique général.

☐ Les documents énumérés à la rubrique 3 ci-après ont été cités en cours de procédure, mais leur pertinence dépend de la validité des priorités revendiquées.

☐ Aucun document n'a été cité en cours de procédure.

**1. ELEMENTS DE L'ETAT DE LA TECHNIQUE SUSCEPTIBLES D'ETRE PRIS EN
CONSIDERATION POUR APPRECIER LA BREVETABILITE DE L'INVENTION**

NEANT

**2. ELEMENTS DE L'ETAT DE LA TECHNIQUE ILLUSTRANT L'ARRIERE-PLAN
TECHNOLOGIQUE GENERAL**US 2022/143617 A1 (MILLER BENJAMIN [US] ET
AL) 12 mai 2022 (2022-05-12)US 2019/265152 A1 (ISSADORE DAVID [US] ET
AL) 29 août 2019 (2019-08-29)**3. ELEMENTS DE L'ETAT DE LA TECHNIQUE DONT LA PERTINENCE DEPEND
DE LA VALIDITE DES PRIORITES**

NEANT