

UNIVERSITÉ DE MONTRÉAL

Design d'un système d'une tomographie par cohérence optique
sensible à la polarisation

Par Ghada Jerbi

Département de médecine
Faculté de médecine

Mémoire présenté
En vue de l'obtention du grade de maîtrise
En sciences biomédicales
Option médecine expérimentale

Février, 2018

© Jerbi Ghada, 2018

Résumé

Ce travail de maîtrise s'inscrit dans le cadre du développement d'une technique d'imagerie médicale microscopique basée sur la Tomographie par Cohérence Optique (OCT) plein champ sensible à la polarisation dans le but de répondre à un problème de recherche en neuroanatomie. En effet, des études récentes suggèrent que la démence cognitive est associée à une perte d'intégrité de la matière blanche. Le problème qui se pose est que l'OCT conventionnelle est insensible à l'orientation des fibres nerveuses de la matière blanche, en particulier, celles qui se sont déplacées dans une direction perpendiculaire à l'axe optique. De plus, la résolution spatiale reste limitée pour visualiser les fibres de très petite taille ($\sim 1 \mu\text{m}$). Alors, en exploitant d'autres propriétés optiques des fibres telles que la biréfringence, il sera possible de mieux caractériser la structure de la matière blanche.

L'OCT développée est un interféromètre de Michelson dans sa configuration Linnik, et avec une source halogène-quartz centré à $\lambda_0=750 \text{ nm}$. Le système produit des images tomographiques 2D en *face* (XY), et ceci sans recourt au balayage transverse du faisceau lumineux. L'image finale *en face* est obtenue par la combinaison différentielle de quatre images interférométriques acquises par deux caméras CMOS à 120 Hz. Une résolution axiale micrométrique ($1.7 \mu\text{m}$) a été obtenue à faible coût, grâce à l'utilisation d'une source à faible longueur de cohérence et à l'emploi de deux objectifs identiques dans les deux bras de l'interféromètre. Cette technique a été testée sur des cibles microscopiques biréfringentes telles qu'un cristal et sur un tissu biologique.

Mots clés : OCT, polarisation, biréfringence, plein champ, modulation de phase sinusoïdale.

Abstract

The aim of this work is to develop a polarization-sensitive full-field optical coherence tomography, able to answer to a problem in neuroanatomy research. Recent findings suggest an association between disturbances in white matter (WM) and cognitive impairment. White matter is composed mainly of myelinated nerve fibers that connect the various regions of the brain and are oriented from different angles. The problem is that the conventional OCT (*Optical Coherence Tomography*) technique is insensitive to the orientation of fibers, especially displaced in a perpendicular direction to the optical axis. Furthermore, the spatial resolution is still too low to characterize very small fibers ($\sim 1\mu\text{m}$). By exploring the intrinsic birefringence optical properties of nerve fibers, it will be possible to visualize the orientation of nerve fibers of the white matter.

The system is based on a Linnik interferometric microscope, with a quartz halogen source centered at $\lambda_0=750\text{ nm}$. The experimental setup produces *en face* (XY) a 2D image of the sample without the scanning of the incident beam transverse direction as in conventional OCT, owing to the use of a full-field illumination coupled to CMOS cameras. The final image is calculated with a differential linear combination of four interferometric images, recorded simultaneously by two CMOS cameras at a frame rate of 120 Hz. A micrometric resolution axial resolution is achieved at $1.7\mu\text{m}$ at low cost, due to the use of a short coherence length of the source and the use of the same objective in the two arms. The setup is tested on a birefringent material such as a crystal and a biological tissue.

Keywords: OCT, polarization, birefringence, optical coherence, full field, sinusoidal phase modulation.

Table des matières

Abstract.....	iii
Table des matières.....	iv
Liste des tableaux.....	vii
Liste des figures.....	viii
Liste des sigles.....	ix
Liste des abréviations.....	xi
Dédicace.....	xii
Remerciements.....	xiii
Chapitre 1. Introduction et revue de littérature.....	1
1.1 La démence cognitive et la matière blanche.....	1
1.2 La maladie d'Alzheimer, l'hypertension et la matière blanche.....	2
1.3 Imagerie de la matière blanche.....	4
1.3.1 Imagerie de la matière blanche par IRM.....	4
1.3.2 Imagerie de la matière blanche à l'aide de la tomographie par cohérence optique.....	5
1.3.3 Imagerie sérielle.....	5
1.4 Objectifs du travail de Maitrise.....	6
Chapitre 2. Tomographie par cohérence optique : théorie.....	7
2.1 Introduction.....	7
2.2 Les différents modes d'acquisition de l'OCT.....	7
2.2.1 OCT dans le domaine temporel.....	7
2.2.2 OCT dans le domaine fréquentiel.....	9
2.2.3 OCT Doppler.....	11
2.2.4 OCT plein champ.....	12
2.3 Polarisation de la lumière.....	17
2.3.1 Description de l'onde de lumière.....	17

2.3.2	Onde polarisée circulairement	18
2.3.3	Représentation de la lumière polarisée	19
2.4	La biréfringence	26
2.5	Évaluation des performances d'un système OCT	28
2.5.1	Résolution d'un système d'imagerie.....	28
2.5.2	Résolution axiale (RA)	29
2.5.3	Résolution latérale (RL).....	30
2.5.4	Profondeur de champ	30
Chapitre 3.	Instrumentation	31
3.1	Introduction.....	31
3.2	Description du montage	31
3.3	Caméras CMOS : caractéristiques spectrales et temporelles.....	35
3.4	Le piézoélectrique	36
3.5	Conception mécanique.....	36
3.5.1	Système de cages et supports	37
3.5.2	Conception du bras de référence.....	37
3.6	Logiciel de contrôle et d'acquisition.....	38
3.6.1	Contrôle des composants	38
3.6.2	Affichage et sauvegarde des images en temps réel.....	39
Chapitre 4.	Caractérisation du système	41
4.1	Alignement du faisceau lumineux : procédure expérimentale.....	41
4.2	Calcul de l'état de polarisation dans les deux bras de l'interféromètre	43
4.2.1	État de polarisation de la lumière incidente	44
4.2.2	État de polarisation de la lumière dans le bras de référence	44
4.2.3	État de polarisation de la lumière dans le bras d'échantillon.....	45
4.3	Résolution axiale.....	45
4.4	Résolution latérale	46
4.5	Rapport signal sur bruit (RSB)	48
4.6	Contraste	48
4.7	Imagerie d'un matériau biréfringent	50

4.8	Imagerie <i>ex vivo</i> d'un échantillon biologique.....	52
Chapitre 5.	Discussion générale	56
5.1	Conception d'un OCT plein champ sensible à la polarisation.....	56
5.2	Performances du système.....	59
5.3	Imagerie d'un échantillon biologique	61
Chapitre 6.	Conclusion générale.....	64
6.1	Réflexion sur les difficultés rencontrées.....	64
6.2	Directions futures.....	65
Bibliographie.....		66

Liste des tableaux

Tableau I. Performances du système d'imagerie microscopique.....	50
--	----

Liste des figures

Figure 2.1. Diagramme de l'OCT dans le domaine temporel.....	8
Figure 2.2. Les configurations d'OCT plein champ	13
Figure 2.3. Lumière polarisée linéairement	18
Figure 2.4. Rotation du champ électrique dans le sens horaire.	19
Figure 2.5. Action d'un polariseur linéaire sur un faisceau lumineux.....	23
Figure 2.6. Action d'une lame demi-onde de la lumière polarisée circulairement.....	24
Figure 2.7. Création d'un faisceau lumineux polarisé circulairement lors de l'interaction d'une lumière orientée à $+45^\circ$ par rapport à l'axe rapide d'une lame quart d'onde	25
Figure 2.8. La biréfringence.....	27
Figure 2.9. Critère de Rayleigh.....	28
Figure 3.1. Principe d'illumination Köhler.....	32
Figure 3.2. Schéma expérimental de l'OCT plein champ sensible à la polarisation	33
Figure 3.3. Schéma du dispositif expérimental réalisé avec <i>Inventor</i>	34
Figure 3.4. Variation de l'efficacité quantique en fonction de la longueur d'onde de la caméra MV1-D1024E-160-CL.....	35
Figure 3.5. Le déplacement de PA3JEW en fonction de la tension générée par le contrôleur déterminé expérimentalement à 20°	36
Figure 3.6. Bras de référence d'OCT polarisé à plein champ.....	37
Figure 3.7. Synchronisation des caméras avec l'oscillation du miroir de la référence en se basant sur la méthode de modulation de phase	38
Figure 3.8. Diagramme de fonctionnement des logiciels du système.....	40
Figure 4.1. Réalignement du faisceau par un réglage d'angle du miroir de référence	43
Figure 4.2. Mesure de la résolution axiale.....	46
Figure 4.3. Mesure de la résolution latérale.....	48
Figure 4.4. Calcul du contraste de l'image d'OCT.....	49
Figure 4.5. Images tomographiques <i>en face</i> obtenues par l'OCT plein champ sensible à la polarisation d'un cristal.....	51
Figure 4.6. Coupes tomographiques 2D <i>en face</i> obtenues par OCT plein champ sensible à la polarisation.....	55

Liste des sigles

A β	Amyloïde beta
APP	Amyloïde Precursor Protein (Protéine précurseur de l'amyloïde)
AQWP	Achromatic Wave Plates (lame quart-d'onde)
BHE	Barrière hémato-encéphalique
CCD	Charge Coupled Device (Récepteur à transfert de charge)
CMOS	Complementary metal oxide semi-conductor (Semi-conducteur à oxyde de métal complémentaire)
d_f	Distance focale
DTI	Diffusion Tensor Imaging (Imagerie de tenseur de diffusion)
D_s	Diamètre de la source
FA	Fraction d'anisotropie
f_D	Fréquence Doppler
FD-OCT	Fourier Domain Optical Coherence Tomography (OCT dans le domaine de Fourier)
Fps	Frame per second (Image par seconde)
FWHM	Largeur à mi-hauteur (Full Width at Half Maximum)
i_{det}	Intensité détectée
I_{max}	Intensité maximale
I_{min}	Intensité minimale
IR	Infra-rouge
OD	Optical density (Densité optique)
ON	Ouverture numérique
l_c	Longueur de cohérence
L_{max}	Luminance maximale
L_{min}	Luminance minimale
LS	Lame séparatrice
LPS	Lame séparatrice polarisée
MA	Maladie d'Alzheimer

MMP-2	Matrice métalloprotéase 2
MO	Microscope objective (Objectif de microscope)
NO	Nitrogen Oxide (Oxyde nitrique)
OCT	Optical Coherence Tomography (La Tomographie par Cohérence Optique)
ON	Ouverture numérique
PDAPP	Platelet-derived growth factor promoter (Facteur de croissance dérivé des plaques)
PZT	Transducteur piézoélectrique (Piezoelectric transducer)
QE	Quantum efficiency (Efficacité quantique)
RA	Résolution axiale
RL	Résolution latérale
ROS	Reactive Oxygen Species (Espèces réactives d'oxygène)
RSB	Rapport signal sur bruit
SS-OCT	Swept-source OCT (source à balayage spectral)
T_e	Temps d'exposition
TTL	Transistor-Transistor Logic
IRM	Imagerie par résonance magnétique
TCP	Transmission Control Protocol (protocole de contrôle de transmissions)
USB	Universal Serial Bus (Bus universel en Série)
WM	White Matter (Matière blanche)

Liste des abréviations

Aq : Acquisition

Etc : Et cætera

Ti : Titane

Dédicace

À ma chère mère

Remerciements

*S'il m'a été donné de voir plus loin que les autres,
C'est parce que je me tenais sur les épaules des géants*

Issac Newton

Je remercie mon directeur de recherche Pr. Éric Thorin, pour votre encouragement, vos conseils et votre suivi.

Je tiens à exprimer ma gratitude et ma reconnaissance à mon co-directeur de recherche, Pr. Frédéric Lesage, qui m'a guidé dans mon parcours. Je vous remercie pour votre grande patience, pour vos précieux conseils et pour la confiance que vous m'avez accordée. Je vous remercie également pour votre disponibilité à m'aider, à être toujours à l'écoute. Je vous remercie pour votre encouragement et pour l'opportunité que vous m'avez donnée d'être une de vos étudiantes et d'acquérir une formation dans un environnement de travail de très haut calibre. Merci énormément pour votre support financier et pour toute aide, je serai toujours reconnaissante !

Mes sincères remerciements s'adressent également à tous mes chers amis du laboratoire d'imagerie optique et moléculaire (LIOM), pour les beaux moments que nous avons passés ensemble.

Un merci spécial à Samuel Bélanger et à Alexandre Castonguay, pour vos conseils judicieux, votre soutien, ainsi que pour votre encouragement.

Je tiens à remercier également le Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique de la Tunisie ainsi que l'Université de Montréal pour leur support financier durant mes études.

Je remercie chaleureusement ma perle, ma mère Houdène et mon petit ange, mon frère Mohamed Oussama, pour votre support et votre encouragement à aller au bout de mes ambitions.

Je remercie également tous ceux qui m'ont aidée et qui m'ont soutenue de loin ou de près.

Du fond du cœur, merci.

Chapitre 1. Introduction et revue de littérature

1.1 La démence cognitive et la matière blanche

La matière blanche du système nerveux central est composée d'axones myélinisés (fibres nerveuses) [1] qui assurent la connexion entre de différentes régions du cerveau [2]. La myéline est formée par les oligodendrocytes et composée principalement par des lipides (80 %) et des protéines (20 %) qui entourent l'axone, assurant une isolation électrique [3]. Cette isolation augmente la vitesse de transmission du signal nerveux [2, 4]. Toute détérioration au niveau de la matière blanche a le potentiel d'entraîner non seulement des troubles de la fonction cognitive, mais aussi des troubles sensoriels et moteurs [2]. De nombreuses études en neurosciences ont démontré une association entre le déclin cognitif et la dégénérescence de la matière blanche [5, 6].

La maladie d'Alzheimer (MA) est la forme neurodégénérative la plus fréquente de la démence dans le monde entier [7, 8]. Elle est liée à une atrophie de la matière grise causée par une perte de synapses et des dendrites [9]. Par contre, plusieurs études *in vivo* montrent que l'Alzheimer n'est pas seulement liée à l'atrophie de la matière grise mais qu'elle est aussi associée à des changements microstructurels de l'intégrité de la matière blanche. Plusieurs régions du cerveau sont susceptibles d'être touchées. Une perte significative de volume de matière blanche a été enregistrée au niveau du lobe temporel médian chez les personnes souffrant d'Alzheimer, principalement associée à des pertes des fibres nerveuses par démyélinisation, ce qui entraîne la dégénérescence des neurones à leur tour [10]. L'étude de Barber *et coll.* (1999) chez les personnes âgées montrent des lésions de la matière blanche au niveau de tous les lobes dont le lobe frontal (prévalence de 89 %) et pariétal (46 %) qui sont les plus touchés par un tel dommage, lorsque comparés aux lobes temporaux (14 %) et occipitaux (11 %). Ce résultat est confirmé dans l'étude de Leeuw *et coll.* (2001) qui montre que le volume moyen des lésions est plus grand dans le lobe frontal [11]. L'IRM de diffusion montre une perte microstructurelle de l'intégrité de la matière blanche quantifiée par l'index de réseau et associée à une atrophie des fibres nerveuses au niveau du splénum du corps calleux, du faisceau longitudinal supérieur et du cingulum gauche [12]. De plus, une réduction similaire a été observée dans les voies

d'association cortico-corticales comme le faisceau unciné du cerveau, le faisceau inférieur longitudinal, le faisceau supérieur longitudinal, les voies commissurales (ex. splenium), les voies limbiques (ex. fornix, strie terminale, cingulum) [13]. De nombreuses études ont démontré plus de sévérité des lésions de la matière blanche dans les régions périventriculaires [14, 15] que dans les régions sous-corticales [5, 6].

Les données histologiques chez la souris transgénique (APP) ont démontré un dépôt des plaques de β amyloïdes (peptides A β) chez des souris âgées, dans le néocortex et l'hippocampe [16, 17]. Ces dépôts sont entourés par des neurites dégénérées, de synaptophysines, et de protéines précurseurs d'amyloïdes (APP). De plus, des données IRM de diffusion *in vivo* montrent un changement structurel de la matière blanche chez la souris transgénique (APP) à partir de l'âge de 8 mois, âge correspondant à l'apparition des dépôts des plaques β -amyloïde dans le cerveau [16, 18, 19]. Les données histologiques, plus précises, montrent une accumulation des plaques d'amyloïdes à partir de l'âge de 6 mois dans des régions corticales ainsi que dans l'hippocampe, le corps calleux et stratum [20]. Par ailleurs, les données *in vivo* d'imagerie du tenseur de diffusion (DTI) de l'étude de Song *et coll.* (2004) chez la souris transgénique PDAPP, montrent une élévation de la diffusivité radiale associée à une perte de myéline dans les régions sous-corticales suivantes : le pédoncule cérébral, le corps calleux, la capsule externe, le fornix. Une telle perte de myéline est peut-être expliquée par une réduction des lipides, qui en est un composant majeur, des plasmagènes ainsi qu'une réduction des cérébro-sulfamides qui sont produits principalement par les oligodendrocytes [16].

1.2 La maladie d'Alzheimer, l'hypertension et la matière blanche

Plusieurs études ont démontré une forte corrélation entre la démence vasculaire cérébrale et la maladie d'Alzheimer qui a pour facteur de risque parmi d'autres l'hypertension [21-24]. En effet, les personnes ayant une hypertension à l'âge adulte (40-60 ans) ont une plus grande probabilité de développer l'Alzheimer [25]. De même, lors d'une étude longitudinale [26], l'évidence montre que les patients ayant une pression diastolique élevée à l'âge de 70 ans développent l'Alzheimer de 10 à 15 ans plus tard. Le mécanisme par lequel la démence vasculaire accélère la maladie d'Alzheimer n'est pas encore bien compris [21].

L'hypertension est un facteur de risque majeur de détérioration de la matière blanche. En effet,

de nombreuses études ont démontré que l'hypertension peut entraîner une perturbation de l'autorégulation cérébrale [23, 27]. En particulier l'hypertrophie des artères piales, qui jouent un rôle crucial dans le couplage neurovasculaire par la régulation de débit sanguin cérébral [22] est à l'origine d'une hypoperfusion cérébrale [27]. Cette réduction de la perfusion peut entraîner des dommages de la matière blanche [23] résultant de la matrice métalloprotéase 2 (MMP-2) [28]. En effet, MMP-2 peut digérer la membrane basale entraînant une perturbation de la BHE ou peut être impliquée directement dans les lésions de la matière blanche par une digestion de la myéline [28, 29].

L'hypertension entraîne également une augmentation de la rigidité des grosses artères [23] menant à une élévation de la pression sanguine systolique sans introduire des changements au niveau de la pression sanguine diastolique. Par conséquent, une élévation importante de la pression artérielle pulsée est observée et elle est associée à une diminution de la résistance des artérioles. Par ce mécanisme, la microcirculation cérébrale peut s'endommager entraînant une diminution de débit sanguin susceptible d'engendrer une ischémie cérébrale [22, 23, 30]. D'autres changements structurels sont associés à l'hypertension, notamment l'accumulation des plaques d'athérosclérose dans les artères cérébrales, la lipohyalinose et l'artériosclérose qui peut entraîner des lésions au niveau de la matière blanche [22, 23].

Du point de vue fonctionnel, l'hypertension peut engendrer un dysfonctionnement de l'endothélium [22, 23, 31-33] suite à une réduction de la synthèse de l'oxyde nitrique (NO), responsable du maintien de la fonction de l'endothélium vasculaire [31, 34]. Ce dysfonctionnement entraîne, une vasoconstriction, une réaction inflammatoire ainsi qu'un potentiel de thrombose [31, 34]. Chez la souris hypertensive, une augmentation des espèces réactives d'oxygène (ROS) a été observée [35], ainsi qu'une diminution de la densité vasculaire cérébrale, une réduction du débit sanguin cérébral et une augmentation de la perméabilité de BHE [22, 35, 36]. Le dysfonctionnement de BHE peut entraîner une accumulation des beta-amyloïdes [15], engendrant à son tour une altération de la matière blanche. En effet, plusieurs études suggèrent aussi l'implication de dépôts de plaques de beta-amyloïdes dans la réduction de l'intégrité de la matière blanche, que ce soit par dégénérescence d'axone [20, 37] ou par perte de la myéline [16, 19]. Quant aux régions les plus vulnérables à l'hypertension, des études cliniques ont démontré que les lésions de la matière blanche sont plus sévères dans les régions périventriculaires que dans les régions sous-corticales [38-40]. Le mécanisme exact qui

contribue à la dégradation de la matière blanche reste mal connu.

1.3 Imagerie de la matière blanche

Parmi les défis permettant d'atteindre une meilleure compréhension de la pathogenèse, celui d'identifier et de mesurer dans le cerveau entier la matière blanche, et son intégralité en présence d'hypertension et d'Alzheimer est lié au développement de nouvelles techniques d'imagerie.

1.3.1 Imagerie de la matière blanche par IRM

L'imagerie par résonance magnétique du tenseur de diffusion, une technique d'imagerie cérébrale non invasive, est basée sur la mesure de la diffusion anisotrope des molécules d'eau le long des fibres nerveuses. Cette diffusion anisotrope est due aux composantes cellulaires des axones, à la gaine de myéline, ainsi qu'aux neurofilaments, qui freinent le mouvement des molécules d'eau dans la direction perpendiculaire à l'axone [41, 42]. L'IRM de diffusion a été utilisée afin de caractériser les changements structurels *in vivo* de l'architecture et de l'intégrité de la matière blanche en 2D et 3D [9, 42-44]. Par exemple, l'augmentation de la fraction d'anisotropie (FA) correspond à une élévation de la diffusion dans une direction parallèle aux axones ce qui reflète leur dégénérescence [9, 41], tandis qu'une élévation de la valeur de la diffusivité radiale indique une démyélinisation.

Toutefois, cette technique est limitée par une faible résolution spatiale de l'ordre du millimètre [45] qui ne permet pas de visualiser les fibres individuelles. Quoiqu'utilisée pour mesurer la connectivité des fibres nerveuses, des ambiguïtés émergent en présence d'une couche de fibres entremêlées [46, 47], de différentes orientations et de très faibles diamètres de l'ordre de quelques micromètres [43, 48, 49]. Chez l'humain, le diamètre des fibres nerveuses myélinisées du corps calleux varie entre 0.2 et 10 μm et de 1 à 10 μm pour les fibres non myélinisées. 87,9 % des fibres du faisceau pyramidal sont de diamètre inférieur à 4 μm , alors que la résolution en IRM *in vivo* est de l'ordre du millimètre. Plusieurs régions restent plus difficiles à caractériser telles que les régions sous-corticales où les fibres nerveuses ne sont pas arrangées en paquets et sont beaucoup plus entremêlées [48]. À l'échelle microscopique, chez la souris la taille des fibres nerveuses varie généralement de 1 à 5 μm [1] alors que la résolution spatiale de l'IRM est de l'ordre de 50 μm [50].

1.3.2 Imagerie de la matière blanche à l'aide de la tomographie par cohérence optique

La Tomographie par Cohérence Optique est une technique microscopique ayant la capacité de différencier entre la matière grise et la matière blanche en raison de leurs propriétés optiques distinctes telles que la diffusion, l'atténuation et l'indice de réfraction. La matière blanche est caractérisée par un coefficient de diffusion plus élevé que celui de la matière grise, ce qui peut être dû à la myélinisation. Par contre, l'OCT conventionnel est insensible à l'orientation des fibres. Notamment, il ne permet pas la visualisation de la biréfringence des fibres nerveuses myélinisées dans la direction perpendiculaire à l'axe optique [51]. La biréfringence est une propriété optique de la matière blanche qui est due à l'arrangement des macromolécules de phospholipides, cholestérol et protéines de la gaine de myéline, des composantes cellulaires des axones (microtubules et neurofilaments), mais surtout de la disposition radiale des lipides [47, 52]. Par définition, elle change l'état de polarisation de la lumière. En effet, lors de l'interaction d'une lumière incidente avec un matériel biréfringent, ses composantes orthogonales sont modulées différemment [47].

1.3.3 Imagerie sérielle

En microscopie, l'approche usuelle vise à imager des tranches de tissu *ex vivo*. Cette technique présente toutefois de nombreuses limites telles que la distorsion des coupes, l'effet de coupe en soit qui entraîne des pertes de tissu [3, 53] et finalement l'acquisition d'un grand nombre de coupes placées manuellement sur une lamelle de verre, ce qui demande un temps considérable [54]. Au cours des dernières années, une technique automatique d'imagerie sérielle a été développée où on forme des images d'un tissu tranche par tranche en le coupant. En combinant un système de coupe à l'imagerie en bloc, cette technique permet de réduire le temps d'acquisition et l'étude à grande échelle des tissus biologiques en combinant des systèmes d'imagerie microscopique permettant d'imager en profondeur tels l'imagerie à deux photons [55] et l'OCT [45, 56].

Dans le cadre de ce projet, un système d'imagerie OCT sensible à la polarisation est développé en utilisant une technique plein champ. À terme ce système pourrait être combiné à un vibratome dans le but d'étudier la matière blanche chez la souris Alzheimer hypertensive.

1.4 Objectifs du travail de Maitrise

Ce travail visait à développer un système d'imagerie microscopique qui par design, pourra être intégré à un vibratome automatisé. Les objectifs de la maîtrise sont :

Objectif 1 : Construire un système d'imagerie microscopique combiné à l'OCT sensible à la polarisation à plein champ

Objectif 2 : Caractériser le système pour sa résolution spatiale latérale et axiale, le rapport signal à bruit et sa capacité à imager des cibles microscopiques.

Objectif 3 : Caractériser la capacité du système à imager un tissu biologique.

Chapitre 2. Tomographie par cohérence optique : théorie

2.1 Introduction

La Tomographie par cohérence optique, initialement développée par Huang *et coll.* du *Massachusetts Institute of Technology* en 1991 [57], a connu un grand essor dans le domaine de l'imagerie médicale. Cette technique est similaire à celle de l'imagerie acoustique [58], qui est basée sur la mesure de la réflectivité des ultrasons par les tissus biologiques ayant différentes impédances acoustiques [59], sauf que l'OCT utilise la lumière au lieu du son [57, 60]. L'OCT permet de fournir des images tomographiques en temps réel des tissus biologiques à très haute résolution spatiale [57, 58, 61], de l'ordre de 1-15 μm [60]. Plusieurs champs d'applications ont été développés, notamment la cardiologie où elle a été utilisée pour faire l'imagerie des plaques de l'athérosclérose [57, 62], la dermatologie, la neurologie et la neurochirurgie [51], l'imagerie gastro-intestinale [62, 63], l'urologie [64], la caractérisation des changements du néoplasme, le guidage chirurgical, etc. [62]. L'application clinique la plus répandue de cette modalité d'imagerie reste en ophtalmologie [63], par exemple pour diagnostiquer la glaucome [60], la dégénérescence maculaire [60, 63] ou même pour la détection précoce de la perte de vue [62]. Elle peut aussi servir comme moyen de surveillance de l'évolution de la maladie ou de l'efficacité de traitement [62].

2.2 Les différents modes d'acquisition de l'OCT

L'acquisition d'une image OCT peut se faire selon différents modes, chacun exploitant le même principe physique sous-jacent, mais de différente manière.

2.2.1 OCT dans le domaine temporel

Dans son implémentation la plus simple, l'OCT utilise un dispositif expérimental illustré dans la Figure 2.1, et consiste en une source de lumière de faible cohérence optique [60] éclairant un interféromètre de Michelson [65]. Une lame séparatrice ou un coupleur est employé afin de séparer le faisceau lumineux issu de la source en deux parties qui ensuite traversent une distance

L_R et L_S respectivement dans les bras de référence et de l'échantillon de l'interféromètre. L'interférence entre la lumière réfléchiée par l'objet et celle du miroir de référence, n'aura lieu que si la différence de marche ($\delta = 2l_R - 2l_S = 2\Delta l$) [66] entre les deux bras de l'interféromètre est inférieure à la longueur de cohérence temporelle de la source [67, 68]. Un balayage en profondeur de l'échantillon peut être réalisé par un déplacement du miroir de référence, ce qui permettra d'accéder aux différentes interfaces réfléchissantes de l'objet [68]. L'acquisition du signal se fait généralement par une photodiode [69] afin d'enregistrer un profil de réflectivité de l'échantillon. Un balayage de faisceau sur l'échantillon latéralement permettra quant à lui de former une image. La reconstruction d'une image tomographique en 2D est possible par la combinaison de lignes A successives [60]. Cette configuration est appelée Tomographie par Cohérence Optique Temporelle.

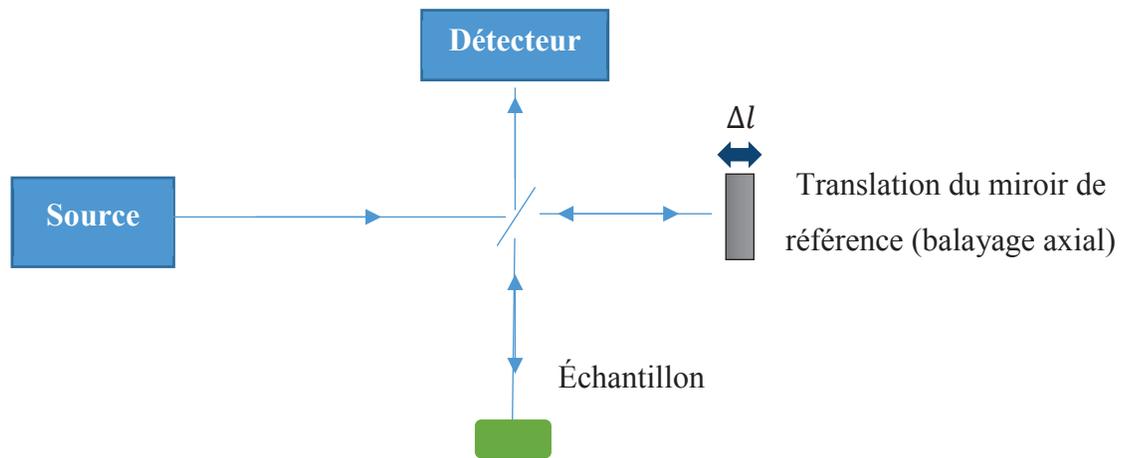


Figure 2.1. Diagramme de l'OCT dans le domaine temporel, adaptée de [70].

L'intensité globale réfléchiée mesurée à l'entrée du détecteur en négligeant la polarisation de la lumière est donnée par l'expression suivante [70]:

$$I(t) = |E_R + E_S|^2 \quad (2.1)$$

où E_R et E_S désignent respectivement les champs électriques réfléchis par les bras de référence et d'échantillon :

$$E_R = E_{R0} \exp(i(2k_R l_R - \omega t)) \quad (2.2)$$

$$E_S = E_{S0} \exp(i(2k_S l_S - \omega t)) \quad (2.3)$$

et k_R et k_S décrivent la constante de propagation de la lumière respectivement dans le bras de référence et d'échantillon, ω est la fréquence angulaire optique. En remplaçant l'équation (2.2) et (2.3) dans l'équation (2.1), on obtient :

$$I(t) = E_{R0}^2 + E_{S0}^2 + 2E_{R0} E_{S0} \cos \Delta\phi \quad (2.4)$$

$$\Delta\phi = 2k_S l_S - 2k_R l_R \quad (2.5)$$

Ainsi, le signal d'interférence est représenté par un terme en cosinus qui voit une différence de phase générée entre les deux bras de l'interféromètre variant selon le déplacement du miroir de référence, ce qui engendre une variation périodique du signal.

Dans le cas où $k = k_S = k_R = \frac{2\pi n}{\lambda_0}$ avec n l'indice de réfraction du milieu et λ_0 la longueur d'onde centrale, l'équation 2.5 devient :

$$\Delta\phi = 2k\Delta l = 2\pi \frac{2n\Delta l}{\lambda_0} \quad (2.6)$$

où $\Delta L = l_S - l_R \quad (2.7)$

2.2.2 OCT dans le domaine fréquentiel

L'OCT dans le domaine de Fourier (FD-OCT, *Fourier Domain Optical Coherence Tomography*) est développé par Fercher *et coll.* en 1995 [61, 71]. Cette technique a permis l'accès à l'information en profondeur de l'échantillon par un calcul de la transformée de Fourier du spectre du signal interférométrique acquis, sans recours à un déplacement du miroir de référence [61].

Dans l'OCT fréquentielle, deux configurations possibles sont distinguées : la première consiste en une source de spectre large [72] et un spectromètre [61, 73, 74]. Lorsque le faisceau combiné en sortie des bras d'échantillon et de référence est couplé à un réseau de diffraction, il est

possible de décomposer le signal résultant en des composantes spectrales ($k = \frac{2\pi n}{\lambda}$ avec λ la longueur d'onde et n l'indice de réfraction du milieu [75]). Le signal ensuite enregistré par un photodétecteur linéaire permet de lire tout le spectre d'un coup et qui pourrait être un dispositif à transfert de charge (barrette CCD) [61, 73, 75, 76] ou un semi-conducteur à oxyde de métal complémentaire (CMOS) [73]. La deuxième configuration est similaire à celle de l'OCT temporelle, mais réalisée cette fois à l'aide d'une source à balayage spectral (SS-OCT, *Swept Source Optical Coherence Tomography*) qui balaie les longueurs d'ondes [73, 75]. Ce balayage peut être très rapide menant à des temps d'acquisition plus courts dans l'OCT fréquentielle par rapport à la configuration dans le domaine temporel [69].

L'analyse du signal provenant de l'OCT fréquentielle est similaire [70]. En notant les signaux réfléchis par les deux bras de l'interféromètre par :

$$E_R(\omega) = E_0(\omega)r_R \exp(i(2k(\omega)l_R - \omega t)) \quad (2.8)$$

$$E_S(\omega) = E_0(\omega) \int_{-\infty}^{+\infty} r'_S(l_S) \exp(i(2k(\omega)l_S - \omega t)) dl_S \quad (2.9)$$

où $E_0(\omega)$ est le champ électrique incident sur le bras de référence ou d'échantillon, r_R est l'amplitude du signal réfléchi par le miroir de référence, $r'_S(l_S)$ représente la densité de réflectivité apparente des diffuseurs dans l'échantillon, l_S et l_R désignent respectivement les longueurs des bras de référence et des diffuseurs dans le bras d'échantillon.

En négligeant la dispersion spectrale, la constante de propagation s'écrit encore :

$$\frac{k_R}{n_R} = \frac{k_S}{n_S} = k = \frac{\omega}{c} \quad (2.10)$$

où ω est la fréquence angulaire optique, n_S et n_R désignent l'indice de réfraction respectivement dans le milieu du bras de référence et de l'échantillon.

Comme dans l'OCT temporelle, l'intensité du signal d'interférence est déterminée en fonction du train d'ondes réfléchi dans les deux bras de l'interféromètre :

$$I(k) = |E_R(kc) + E_S(kc)|^2 \quad (2.11)$$

En remplaçant les équations 2.8 et 2.9 dans l'équation 2.11 on obtient :

$$I(k) = S(k)r_R^2 + 2S(k)r_R \int_{-\infty}^{+\infty} r'_S(l_S) \cos(2k(n_S l_S - l_R)) dl_S \quad (2.12)$$

$$+ S(k) \left| \int_{-\infty}^{+\infty} r'_S(l_S) \exp(i2k(n_S l_S)) dl_S \right|^2 \quad (2.13)$$

où $S(k) = |E_0(kc)|$ est la distribution de la densité spectrale de la source. Le premier terme correspond à l'intensité du signal réfléchi par le bras de référence, le deuxième terme réfère au signal d'interférence entre l'intensité issue du bras de référence et celle de l'échantillon. Le dernier terme désigne l'intensité de la lumière réfléchie par les différentes structures réfléchissantes de l'échantillon et possède une fréquence $2(n_S l_S - l_R)$.

2.2.3 OCT Doppler

L'imagerie OCT fonctionnelle est devenue possible avec l'introduction du mode Doppler, qui permettra non seulement l'imagerie anatomique, mais aussi l'imagerie fonctionnelle, notamment l'imagerie *in vivo* du flux sanguin [77-79] avec plusieurs démonstrations notamment dans l'œil i.e. dans la rétine, les fibres nerveuses et choroïdiennes sous-fovéale [78] ou dans la peau [80]. Ce concept est basé sur la combinaison l'effet Doppler et l'OCT [69, 71, 80].

La fréquence Doppler varie en fonction de la vitesse entre l'émetteur et le récepteur, celle-ci sera plus grande s'ils se rapprochent et vice versa [69]. En mesurant la fréquence Doppler, il est donc possible de retrouver la vitesse de déplacement d'une particule en mouvement d'après l'équation suivante [81]:

$$f_D = \frac{2n_t V_s \cos(\theta)}{\lambda_0} \quad (2.14)$$

Où λ_0 est la longueur d'onde centrale de la source, f_D est la fréquence Doppler, V_s la vitesse d'un diffuseur en mouvement, n_t est l'indice de réfraction du milieu, θ est l'angle entre la direction du flux et l'axe de propagation du faisceau lumineux.

Le décalage Doppler peut être extrait à partir de la phase de signal interférométrique, qui est engendrée lors la combinaison entre l'onde réfléchiée par le miroir de référence et celle rétrodiffusée par les différentes interfaces de l'échantillon. L'extraction de la phase peut aussi se faire dans le domaine temporel à partir de l'autocorrélation du signal interférométrique [82, 83].

2.2.4 OCT plein champ

2.2.4.1 Principe

Bien que les techniques conventionnelles d'OCT sont basées sur un balayage transversal de l'échantillon par un faisceau lumineux [69], la configuration plein champ a permis l'acquisition de coupes tomographiques en *face* (dans le plan XY) sans recours au balayage [84-86] et ceci en exploitant une détection parallèle à l'aide d'une caméra CCD [87].

2.2.4.2 Les différentes configurations de l'OCT plein champ

De nombreuses configurations d'OCT plein champ ont été conçues et sont liées au type d'interféromètre utilisé : les configurations de Linnik, Michelson et Mirau. Dans la première configuration représentée dans la figure 2.2, un objectif de microscope est installé dans les deux bras d'un interféromètre de Michelson [69, 84, 86, 88, 89]. L'utilisation d'objectifs de grande ouverture numérique est possible afin d'avoir une haute résolution latérale [86]. Les deux objectifs sont réglés l'un par rapport à l'autre afin d'optimiser la distance focale et la différence de marche dans chaque bras de l'interféromètre [69, 86]. Dans cette configuration, chaque point mesuré traverse la même quantité de verre.

La configuration Michelson dispose d'un seul objectif placé avant un cube séparateur divisant la lumière incidente en deux parties égales et se propageant dans le bras de référence et le bras d'échantillon [69, 85, 87, 90]. Le miroir de référence et l'objectif sont réglés de telle façon que la surface de référence et celle de la mise au point coïncident [69, 87].

Dans la configuration de Type Mirau, une lame séparatrice est placée entre un miroir de référence intégré à l'objectif et l'échantillon [91-93]. Cette configuration possède l'avantage d'être plus stable et plus résistante aux vibrations par rapport à la configuration Linnik [91, 93] en raison de la courte distance parcourue par le faisceau lumineux [93]. L'utilisation de grandes

distances de travail [91, 93] permet une distance frontale suffisante pour focaliser le faisceau à l'extérieur de la lame séparatrice. Par contre, ceci diminue l'ouverture numérique de l'objectif, d'où la détérioration de la résolution transversale [69].

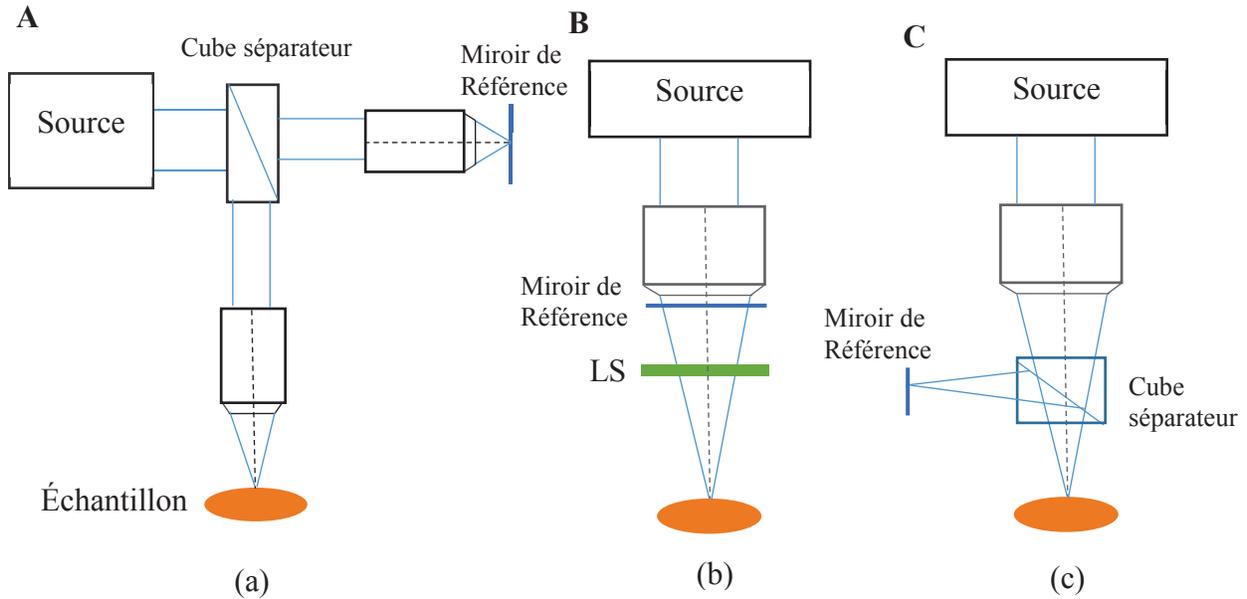


Figure 2.2. Les configurations d'OCT plein champ : a) configuration Linnik, b) configuration de Mirau, c) configuration de Michelson, adaptée de [69].

2.2.4.3 Technique de détection : Méthode de modulation de phase sinusoïdale

La méthode de modulation de phase est une technique qui a été largement utilisée dans la plupart des techniques d'interférométrie. Elle permet d'extraire la phase du signal par la mesure de l'intensité. De nombreux algorithmes ont été conçus, dont la technique basée sur l'oscillation sinusoïdale d'un miroir à une fréquence f attaché à un piézoélectrique. Cette oscillation entraîne une modulation de phase du signal interférométrique [94].

En absence de modulation de phase, l'intensité du signal pour chaque pixel (x, y) est représentée par [86, 94]:

$$I(x, y, t) = \bar{I}(x, y) + A(x, y) \cos \phi(x, y) \quad (2.15)$$

où \bar{I} est l'intensité moyenne du signal, A l'amplitude du signal interférométrique ϕ est sa phase optique.

En faisant une modulation de phase, l'intensité du signal pour chaque pixel (x, y) est définie par [86]:

$$I(x, y, t) = \bar{I}(x, y) + A(x, y) \cos[\phi(x, y) + \psi \sin(\omega t + \theta)] \quad (2.16)$$

où ψ et θ sont respectivement l'amplitude et la phase de modulation. L'oscillation du miroir est synchronisée avec une caméra, qui enregistre N images interférométriques décalées entre eux par période de modulation $T = \frac{2\pi}{\omega}$, par exemple $N = 4$.

Le signal pour chaque image en tout pixel (x, y) est donnée par l'équation suivante [94] :

$$E_p(x, y) = \int_{(p-1)T/4}^{pT/4} I(x, y, t) dt \quad p = 1, 2, 3, 4. \quad (2.17)$$

Le calcul de l'intégrale de l'équation 2.17 se fait d'abord en décomposant l'intensité en série de Fourier en utilisant les fonctions de Bessel, on obtient [94]:

$$\begin{aligned} E_p = & \left(\frac{T}{4}\right) (\bar{I} + A J_0 \psi \cos \phi) + \left(\frac{T}{\pi}\right) A \cos \phi \sum_{n=1}^{+\infty} \frac{J_{2n}(\psi)}{2n} \{ \sin[np\pi + 2n\theta] - \\ & \sin[n(p-1)\pi + 2n\theta] \} - \left(\frac{T}{\pi}\right) A \sin \phi \sum_{n=0}^{+\infty} \frac{J_{2n+1}(\psi)}{2n+1} \times \left\{ \cos[(2n+1)(p-1)\pi/2 + \right. \\ & \left. (2n+1)\theta] - \cos\left[\frac{(2n+1)p\pi}{2} + (2n+1)\theta\right] \right\} \end{aligned} \quad (2.18)$$

En remplaçant p par sa valeur dans l'équation 2.18, on obtient :

$$\begin{aligned}
E_1 = & \left(\frac{T}{4}\right)(\bar{I} + AJ_0(\psi)\cos\phi) + \left(\frac{T}{\pi}\right)A \cos\phi \sum_{n=1}^{+\infty} J_{\frac{2(2n+1)(\psi)}{2n+1}} \{(-1)\sin(2(2n+1)\theta)\} \\
& - \left(\frac{T}{\pi}\right)A \sin\phi \sum_{n=0}^{+\infty} J_{\frac{2(2n+1)(\psi)}{2n+1}} \{\cos((2n+1)\theta) - (-1)^n \sin(2n+1)\theta\}.
\end{aligned} \tag{2.19}$$

$$\begin{aligned}
E_2 = & \left(\frac{T}{4}\right)(\bar{I} + AJ_0(\psi)\cos\phi) + \left(\frac{T}{\pi}\right)A \cos\phi \sum_{n=1}^{+\infty} J_{\frac{2(2n+1)(\psi)}{2n+1}} \{\sin(2(2n+1)\theta)\} \\
& - \left(\frac{T}{\pi}\right)A \sin\phi \sum_{n=0}^{+\infty} J_{\frac{2(2n+1)(\psi)}{2n+1}} \{\cos((2n+1)\theta) + (-1)^n \sin(2n+1)\theta\}.
\end{aligned} \tag{2.20}$$

$$\begin{aligned}
E_3 = & \left(\frac{T}{4}\right)(\bar{I} + AJ_0(\psi)\cos\phi) + \left(\frac{T}{\pi}\right)A \cos\phi \sum_{n=1}^{+\infty} J_{\frac{2(2n+1)(\psi)}{2n+1}} \{\sin(2(2n+1)\theta)\} \\
& - \left(\frac{T}{\pi}\right)A \sin\phi \sum_{n=0}^{+\infty} J_{\frac{2(2n+1)(\psi)}{2n+1}} \{-\cos((2n+1)\theta) + (-1)^n \sin(2n+1)\theta\}.
\end{aligned} \tag{2.21}$$

$$\begin{aligned}
E_4 = & \left(\frac{T}{4}\right)(\bar{I} + AJ_0(\psi)\cos\phi) + \left(\frac{T}{\pi}\right)A \cos\phi \sum_{n=1}^{+\infty} J_{\frac{2(2n+1)(\psi)}{2n+1}} \{\sin(2(2n+1)\theta)\} \\
& - \left(\frac{T}{\pi}\right)A \sin\phi \sum_{n=0}^{+\infty} J_{\frac{2(2n+1)(\psi)}{2n+1}} \{-\cos((2n+1)\theta) - (-1)^n \sin(2n+1)\theta\}.
\end{aligned} \tag{2.22}$$

L'image résultante obtenue par est la combinaison différentielle des quatre images interférométriques :

$$E = (E_1 - E_2)^2 + (E_3 - E_4)^2 \tag{2.23}$$

$$(E_1 - E_2) = -(2TA/\pi) \left[\cos\phi \sum_{n=1}^{+\infty} J_{\frac{2(2n+1)(\psi)}{2n+1}} \sin 2(2n+1)\theta \right. \\ \left. - \sin\phi \sum_{n=0}^{+\infty} J_{\frac{(2n+1)(\psi)}{2n+1}} (-1)^n \sin(2n+1)\theta \right] \quad (2.24)$$

$$(E_1 - E_2) = (2TA/\pi) [\cos\phi \Gamma_c - \sin\phi \Gamma_s] \quad (2.25)$$

$$\text{où} \quad \Gamma_c = \sum_{n=1}^{+\infty} J_{\frac{2(2n+1)}{2n+1}} \sin(2(2n+1)\theta) \quad (2.26)$$

$$\Gamma_s = \sum_{n=0}^{+\infty} (-1)^n J_{\frac{2(2n+1)}{2n+1}} \sin(2n+1)\theta \quad (2.27)$$

$$(E_1 - E_2)^2 = (4T^2 A^2 / \pi^2) [\Gamma_c \cos\phi + \Gamma_s \sin\phi]^2 \quad (2.28)$$

$$(E_3 - E_4) = -(2TA/\pi) \left[\cos\phi \sum_{n=1}^{+\infty} J_{\frac{2(2n+1)(\psi)}{2n+1}} \sin 2(2n+1)\theta \right. \\ \left. + \sin\phi \sum_{n=0}^{+\infty} J_{\frac{(2n+1)(\psi)}{2n+1}} (-1)^n \sin(2n+1)\theta \right] \quad (2.29)$$

$$(E_3 - E_4)^2 = (4T^2 A^2 / \pi^2) [\Gamma_c \cos\phi + \Gamma_s \sin\phi]^2 \quad (2.30)$$

En remplaçant les équations 2.27 et 2.29 dans l'équation 2.23 :

$$E = (4T^2 A^2 / \pi^2) ([\cos\phi \Gamma_c - \sin\phi \Gamma_s]^2 + [\Gamma_c \cos\phi + \Gamma_s \sin\phi]^2) \quad (2.31)$$

Afin de simplifier l'équation 2.27, on pose :

$$\Gamma_c = B \cos \delta \quad (2.32)$$

$$\Gamma_s = B \sin \delta \quad \text{Telle que } B \in \mathcal{R} \quad (2.33)$$

En remplaçant 2.31 et 2.32 dans l'équation 2.30 :

$$E = \left(4T^2A^2/\pi^2\right)B^2 \left(\cos^2(\phi - \delta)^2 + \cos^2(\phi - \delta)^2\right) \quad (2.34)$$

2.3 Polarisation de la lumière

2.3.1 Description de l'onde de lumière

Depuis les années 1800, J. Clerk et Maxwell ont décrit la lumière comme une onde électromagnétique. Celle-ci est composée d'un champ magnétique \vec{B} et d'un champ électrique \vec{E} se propageant chacun dans la direction du changement de l'autre. Par exemple, un champ magnétique B est généré par la variation de E en fonction du temps. L'onde est représentée généralement par son champ électrique \vec{E} et sa direction de propagation.

Soit une onde lumineuse propageant selon la direction z, celle-ci oscille dans le plan transverse x-y. Le champ électrique résultant représenté dans la figure 2.3 est décrit par l'expression suivante :

$$\vec{E}_{(z,t)} = \vec{E}_x(z, t) + \vec{E}_y(z, t) \quad (2.35)$$

$\vec{E}_x(z, t) = \hat{i} E_{0x} \cos(kz - \omega t)$, $\vec{E}_y(z, t) = \hat{j} E_{0y} \cos(kz - \omega t + \varepsilon)$, ε est la différence de phase entre les deux ondes propageant selon la direction z, E_{0x} et E_{0y} sont les amplitudes des ondes orthogonales qui oscillent respectivement selon l'axe x et y et ω est la fréquence angulaire. La lumière est dite polarisée linéaire horizontale ou verticale si l'amplitude du champ dans l'une des deux directions x ou y est nulle [95]. Une onde est polarisée linéaire dans le plan xy et orientée selon un angle qui dépend du rapport entre les deux amplitudes [96] dans le cas où la différence de phase est un multiple entier de $\pm n\pi$. Dans ce cas on distingue deux possibilités [95]:

Si ε est un multiple entier pair de $\pm n\pi$ avec ($n = 0, 2, 4, \dots$) alors les deux ondes sont en phases, le champ électrique résultant devient :

$$\vec{E} = (\hat{i} E_{0x} + \hat{j} E_{0y}) \cos(kz - \omega t) \quad (2.36)$$

Si ε est un entier multiple impair de $\pm n\pi$ alors les deux ondes sont déphasées de 180° , le champ électrique s'écrit sous la forme de :

$$\vec{E} = (\hat{i} E_{0x} - \hat{j} E_{0y}) \cos(kz - \omega t) \quad (2.37)$$

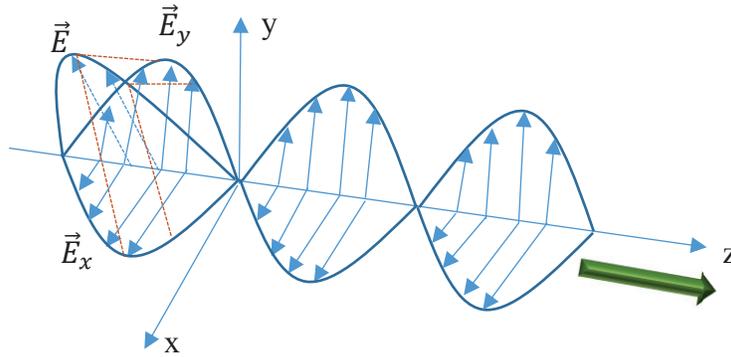


Figure 2.3. Lumière polarisée linéairement, adaptée de [95].

2.3.2 Onde polarisée circulairement

Dans le cas où les deux amplitudes E_{0x} et E_{0y} sont égales, et que la valeur de différence de phase $\varepsilon = -\frac{\pi}{2} + 2m\pi$, avec $m = (\pm 0, 1, 2, 3 \dots)$, la polarisation est dite circulaire. En effet, la direction d'oscillation du champ électrique \vec{E} varie au cours du temps, par conséquent, il n'existe pas un plan privilégié d'oscillation. Les composantes du champ électrique s'expriment alors par [95]:

$$\vec{E}_x(z, t) = \hat{i} E_0 \cos(kz - \omega t) \quad (2.38)$$

$$\vec{E}_y(z, t) = \hat{j} E_0 \sin(kz - \omega t) \quad (2.39)$$

Le champ électrique résultant tourne dans le sens horaire (figure 2.4) avec une fréquence angulaire ω :

$$\vec{E} = E_0 [\hat{i} \cos(kz - \omega t) + \hat{j} \sin(kz - \omega t)] \quad (2.40)$$

Pour une différence de phase $\varepsilon = \frac{\pi}{2} + 2m\pi$, avec $m = (\pm 0, 1, 2, 3 \dots)$, la lumière garde son état de polarisation circulaire mais dans un sens anti-horaire et son champ électrique dans ce devient :

$$\vec{E} = E_0 [\hat{i} \cos(kz - \omega t) - \hat{j} \sin(kz - \omega t)] \quad (2.41)$$

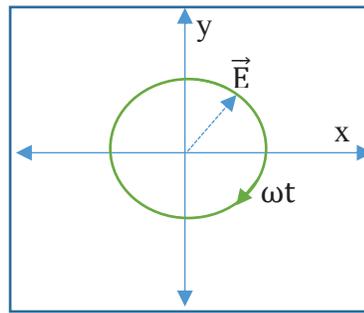


Figure 2.4. Rotation du champ électrique dans le sens horaire, adaptée de [95].

2.3.3 Représentation de la lumière polarisée

2.3.3.1 Polarimétrie de Stokes

Une première représentation de l'état de polarisation d'un faisceau lumineux a été introduite par Georges Gabriel Stokes en 1852 [95, 97, 98]. Dans ce formalisme, l'état de polarisation de la lumière est déterminé par quatre quantités mesurables I , Q , U et V appelés paramètres de Stokes [97-100], parfois aussi désignés par S_0 , S_1 , S_2 et S_3 [95]. La représentation de stokes peut être déterminée expérimentalement en mesurant l'intensité de la lumière de différents états de polarisation à l'aide d'un détecteur et de deux polariseurs dont le premier permettra l'obtention d'une polarisation rectiligne et l'autre d'une polarisation circulaire [99]. Le vecteur de Stokes décrivant l'état de polarisation est un *vecteur colonne* donné par l'expression suivante :

$$S = \begin{pmatrix} S_0 \\ S_1 \\ S_2 \\ S_3 \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} I \\ Q \\ U \\ V \end{pmatrix} \quad (2.42)$$

Les paramètres de Stokes sont représentés en fonction des composants du champ électrique comme suit [98] :

$$S_0 = E_{0x}^2 + E_{0y}^2, \quad (2.43)$$

$$S_1 = E_{0x}^2 - E_{0y}^2, \quad (2.44)$$

$$S_2 = 2E_{0x}E_{0y} \cos \varepsilon, \quad (2.45)$$

$$S_3 = 2E_{0x}E_{0y} \sin \varepsilon, \quad (2.46)$$

où S_0 est l'intensité totale de la lumière, S_1 décrit l'intensité de la polarisation rectiligne transmise par un polariseur orienté respectivement à 0° et 90° , S_2 désigne l'état de polarisation de la lumière à $\pm 45^\circ$ mesuré par une orientation de l'angle du polariseur à $+45^\circ$ et -45° , S_3 est l'intensité de la polarisation circulaire gauche ou droite.

Pour une polarisation linéaire horizontale, la composante verticale est nulle $E_{0y}^2 = 0$ et $E_{0x}^2 = I_0$ alors le vecteur de Stokes est :

$$S = I_0 \begin{pmatrix} 1 \\ 1 \\ 0 \\ 0 \end{pmatrix} \quad (2.47)$$

De la même manière, le vecteur de Stokes pour une polarisation linéaire verticale est défini par :

$$S = I_0 \begin{pmatrix} 1 \\ -1 \\ 0 \\ 0 \end{pmatrix} \quad (2.48)$$

où $E_{0y}^2 = I_0$ et $E_{0x}^2 = 0$.

Dans le cas où les deux composantes verticale et horizontale sont en phase ($\varepsilon = 0$) et possèdent la même amplitude ($E_{0x}^2 = E_{0y}^2 = E_0^2$), alors on peut écrire :

$$S = I_0 \begin{pmatrix} 1 \\ 0 \\ 1 \\ 0 \end{pmatrix} \quad (2.49)$$

où $I_0 = 2E_0^2$

Pour une polarisation rectiligne à -45° , la différence de phase $\varepsilon = 180^\circ$, par contre les valeurs d'amplitudes pour les deux composantes verticale et horizontale restent égaux, le vecteur de Stokes est défini par :

$$S = I_0 \begin{pmatrix} 1 \\ 0 \\ -1 \\ 0 \end{pmatrix} \quad (2.50)$$

où $I_0 = 2E_0^2$

Prenons le cas d'une polarisation circulaire droite, $E_{0x}^2 = E_{0y}^2 = E_0^2$ et $\varepsilon = 90^\circ$ alors :

$$S = I_0 \begin{pmatrix} 1 \\ 0 \\ 0 \\ 1 \end{pmatrix} \quad (2.51)$$

où $I_0 = 2E_0^2$

Ces deux conditions $E_{0x}^2 = E_{0y}^2 = E_0^2$ et une différence de phase $\varepsilon = -90^\circ$ définissent une polarisation circulaire gauche, alors on peut écrire :

$$S = I_0 \begin{pmatrix} 1 \\ 0 \\ 0 \\ -1 \end{pmatrix} \quad (2.52)$$

où $I_0 = 2E_0^2$

La normalisation des paramètres de Stokes peut être effectuée en les divisant par la valeur de l'intensité totale S_0 [95, 99], ce qui donne les vecteurs suivants : $(1,1,0,0)$, $(1,-1,0,0)$, $(1,0,1,0)$, $(1,0,-1,0)$, $(1,0,0,1)$, $(1,0,0,-1)$ qui correspondent respectivement à l'état de polarisation horizontal, vertical, rectiligne à $+45^\circ$ et -45° , circulaire droit et gauche [95, 100, 101]. La lumière totalement polarisée vérifie la condition suivante $S_0^2 = S_1^2 + S_2^2 + S_3^2$, tandis que pour une onde partiellement polarisée $S_0^2 \geq S_1^2 + S_2^2 + S_3^2$ [98].

2.3.3.2 La matrice de Mueller

En 1943, Hans Mueller a proposé dans le papier de Perrin puis de Soleillet que les paramètres de Stokes peuvent être calculés lors de leur passage à travers les éléments optiques à l'aide d'une matrice 4×4 . La matrice décrit un élément optique capable d'introduire des changements à l'état de polarisation de la lumière comme les polariseurs, les lames à retards, les dépolarisateurs et les rotateurs [98].

Soit S le vecteur de Stokes d'une onde lumineuse polarisée et M la matrice de transformation d'un matériau polarisant, le vecteur de Stokes S' décrivant l'état de polarisation de la lumière transmise est défini par la relation suivante [98] :

$$S' = M.S \quad (2.53)$$

$$\begin{pmatrix} S'_0 \\ S'_1 \\ S'_2 \\ S'_3 \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} m_{00} & m_{01} & m_{02} & m_{03} \\ m_{10} & m_{11} & m_{12} & m_{13} \\ m_{20} & m_{21} & m_{22} & m_{23} \\ m_{30} & m_{31} & m_{32} & m_{33} \end{pmatrix} \begin{pmatrix} S_0 \\ S_1 \\ S_2 \\ S_3 \end{pmatrix} \quad (2.54)$$

2.3.3.2.1 Matrice de Mueller pour un polariseur

La matrice de Mueller d'un polariseur peut être présentée en fonction de l'amplitude des coefficients d'atténuation des axes de transmission orthogonaux par p_x et p_y :

$$M = \begin{bmatrix} p_x^2 + p_y^2 & p_x^2 - p_y^2 & 0 & 0 \\ p_x^2 - p_y^2 & p_x^2 + p_y^2 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 2p_x p_y & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 2p_x p_y \end{bmatrix} \quad (2.55)$$

La matrice de Mueller est représentée sous la forme trigonométrique par :

$$M = \frac{p^2}{2} \begin{pmatrix} 1 & \cos 2\gamma & 0 & 0 \\ \cos 2\gamma & 1 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & \sin 2\gamma & 0 \\ 0 & 0 & 0 & \sin 2\gamma \end{pmatrix} \quad (2.56)$$

Où $p^2 = p_x^2 + p_y^2$ et $p_x = p \cos \gamma$, $p_y = p \sin \gamma$, γ est la différence de phase comprise entre 0° et 90° . Le polariseur linéaire permettra d'avoir une lumière polarisée dans une direction parallèle à son axe de transmission. Prenons l'exemple d'un faisceau lumineux naturel L traversant un polariseur (P) parfait, linéaire horizontal représenté dans la figure 2.5, seules les composantes du champ qui sont dans la direction de l'axe de transmission seront sélectionnées et la lumière transmise sera polarisée dans une direction transversale [95] :

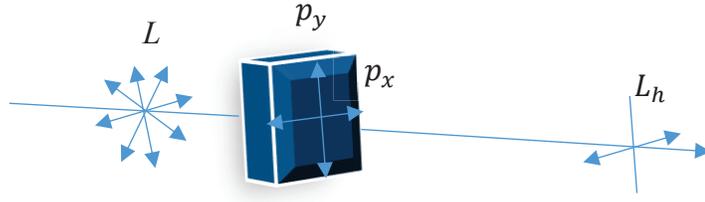


Figure 2.5. Action d'un polariseur linéaire sur un faisceau lumineux, adaptée de [95, 98]

Le vecteur de Stokes décrivant l'état de polarisation de la lumière résultante peut être calculé comme suit [100] :

$$S' = M(P).S_L, \quad (2.57)$$

$$S' = \frac{1}{2} \begin{pmatrix} 1 & 1 & 0 & 0 \\ 1 & 1 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 \end{pmatrix} \begin{pmatrix} 1 \\ 0 \\ 0 \\ 0 \end{pmatrix} = \frac{1}{2} \begin{pmatrix} 1 \\ 0 \\ 0 \\ 0 \end{pmatrix} \quad (2.58)$$

2.3.3.2 Matrice de Mueller pour une lame à retard

Les lames à retard sont des matériaux biréfringents (voir la section suivante) [95] capables d'introduire un changement de l'état de polarisation de la lumière incidente, en créant une différence de phase entre les deux composantes orthogonales du faisceau [98]. On distingue la lame à demi-onde et à quart d'onde. Le premier type de lame permettra d'introduire une différence de phase de $\frac{\lambda_0}{2}$, (π en radians et 180 en degré) entre les deux composantes de la lumière, par contre la lame à quart d'onde crée une différence de phase = 90° [98]. La matrice de Mueller représentant l'action d'une lame à retard est exprimée par [98]:

$$M = \begin{pmatrix} 1 & 1 & 0 & 0 \\ 0 & 1 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & \cos\phi & \sin\phi \\ 0 & 0 & -\sin\phi & \cos\phi \end{pmatrix} \quad (2.59)$$

La matrice de Mueller d'une lame à retard à demi-onde dont son axe rapide est orienté selon x est déterminée à partir de l'équation 2.59 par :

$$M\left(\frac{\lambda}{2}\right) = \begin{pmatrix} 1 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 1 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & -1 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & -1 \end{pmatrix} \quad (2.60)$$

Prenons l'exemple d'une polarisation circulaire droite S_d qui interagit avec une lame demi-onde, celle-ci inverse le sens de rotation de la polarisation, le vecteur de Stokes S' de la polarisation résultante est déterminé comme suit :

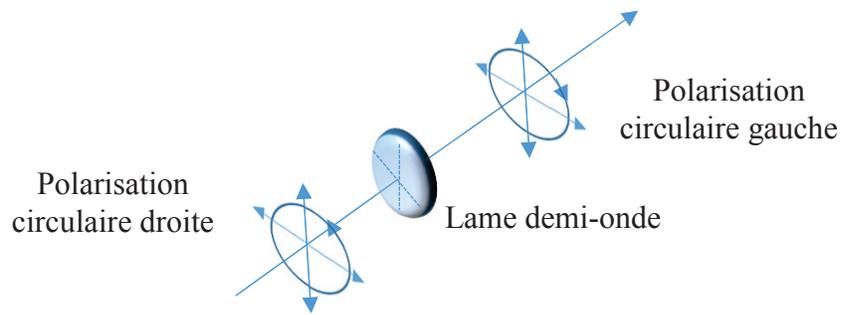


Figure 2.6. Action d'une lame demi-onde de la lumière polarisée circulairement

$$S' = M\left(\frac{\lambda_0}{2}\right) \cdot S_d, \quad (2.61)$$

$$\begin{pmatrix} 1 \\ 0 \\ -1 \\ 0 \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} 1 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 1 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & -1 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & -1 \end{pmatrix} \begin{pmatrix} 1 \\ 0 \\ 1 \\ 0 \end{pmatrix} \quad (2.62)$$

Pour une lame quart d'onde dont l'axe rapide est orienté selon la direction horizontale, la matrice de Mueller est :

$$M\left(\frac{\lambda}{4}\right) = \begin{pmatrix} 1 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 1 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & -1 & 0 \end{pmatrix} \quad (2.63)$$

Une lame à retard est capable d'engendrer un faisceau lumineux polarisé circulairement (gauche ou droit), si la lumière incidente polarisée linéairement est orientée à $\pm 45^\circ$ par rapport à l'axe rapide de la lame [98] :

$$S' = M\left(\frac{\lambda_0}{4}\right) \cdot S_{\pm 45^\circ}, \quad (2.64)$$

$$\begin{pmatrix} 1 \\ 0 \\ \pm 1 \\ 0 \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} 1 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 1 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & -1 & 0 \end{pmatrix} \begin{pmatrix} 1 \\ 0 \\ \pm 1 \\ 0 \end{pmatrix} \quad (2.65)$$

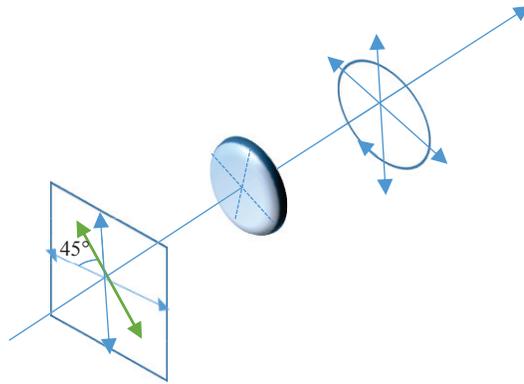


Figure 2.7. Création d'un faisceau lumineux polarisé circulairement lors de l'interaction d'une lumière orientée à $+45^\circ$ par rapport à l'axe rapide d'une lame quart d'onde.

2.3.3.3 Formalisme de Jones

Dans les années 1940, R. Clark Jones a développé un formalisme permettant de déterminer l'état de polarisation de la lumière en utilisant des vecteurs complexes. En utilisant un vecteur 2×1 appelé vecteur de Jones, la polarisation elliptique de la lumière est représentée par [98] :

$$E = \begin{pmatrix} E_x \\ E_y \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} E_{0x} e^{i\varphi_x} \\ E_{0y} e^{i\varphi_y} \end{pmatrix} \quad (2.66)$$

La normalisation de vecteur de Jones est donnée par [70] :

$$E = \frac{1}{\sqrt{E_{x0}^2 + E_{y0}^2}} \begin{pmatrix} E_{x0} \\ E_{y0} e^{i\Delta\varphi} \end{pmatrix} \quad (2.67)$$

Pour une polarisation horizontale, en remplaçant E_{0y} dans l'équation de normalisation on obtient :

$$E = \begin{pmatrix} 1 \\ 0 \end{pmatrix} \quad (2.68)$$

Pour une polarisation verticale, $E_{0x} = 0$ le vecteur de Jones est donné par :

$$E = \begin{pmatrix} 0 \\ 1 \end{pmatrix} \quad (2.69)$$

De la même façon, pour une polarisation rectiligne à 45° , $E_{0y} = E_{0x}$ et $\varphi_x = \varphi_y$ alors :

$$E = \frac{1}{\sqrt{2}} \begin{pmatrix} 1 \\ 1 \end{pmatrix} \quad (2.70)$$

Pour une lumière polarisée circulaire droite, $E_{0y} = E_{0x}$ et $\varphi_y - \varphi_x = +\frac{\pi}{2}$ donc on obtient :

$$E = \frac{1}{\sqrt{2}} \begin{pmatrix} 1 \\ -i \end{pmatrix} \quad (2.71)$$

Pour une lumière polarisée circulaire gauche, $E_{0y} = E_{0x}$ et $\varphi_x - \varphi_y = -\frac{\pi}{2}$ donc on obtient :

$$E = \frac{1}{\sqrt{2}} \begin{pmatrix} 1 \\ +i \end{pmatrix} \quad (2.72)$$

2.4 La biréfringence

Certains matériaux cristallins comme la calcite et le quartz présentent un arrangement géométrique asymétrique des molécules qui les constituent, les rendant anisotropes [95]. Cette anisotropie permettra la double réfraction appelée également ‘‘Biréfringence’’ (Figure 2.8 (a)). Cette propriété optique fut découverte par Christian Huygens en 1690 [102].

Lors de l'interaction d'une lumière non polarisée avec un matériau biréfringent (ex. le calcite) dans une direction normale à la surface principale (Figure 2.8 (b)), ceci se divise en deux rayons

polarisés linéaires orthogonaux appelés rayons ordinaire (o) et extraordinaire (e) [95, 102]. Le champ électrique du rayon ordinaire est normal à l'axe optique et se propage avec un indice de réfraction n_o et une vitesse v_o . Par contre, dans une direction normale à l'axe optique, le champ électrique du rayon e est parallèle à l'axe optique, traversant la calcite avec une vitesse v_e et un indice de réfraction n_e avec $n_o \neq n_e$ [95].

La vitesse de propagation du rayon est calculée à partir de l'indice de réfraction [66] selon l'expression suivante [95] :

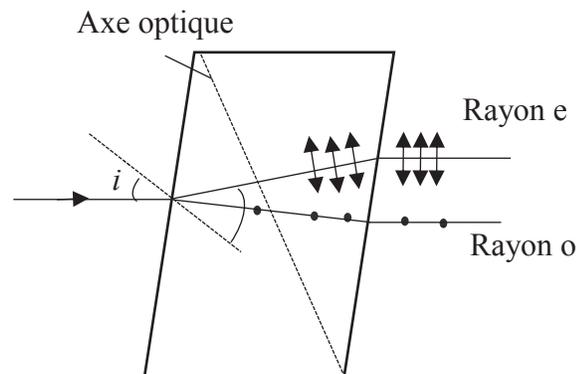
$$n_e = \frac{c}{v_e}, \tag{2.73}$$

$$n_o = \frac{c}{v_o} \tag{2.74}$$

Les deux indices de réfraction définissent la biréfringence d'un matériau $\Delta_n = n_e - n_o$, qui peut être négative ou positive. Si $n_e > n_o$, le matériau possède une biréfringence positive, c'est le cas du quartz (à $\lambda_0 = 589,3$ nm, $n_e = 1,5534$ et $n_o = 1,15443$, $\Delta_n = -0,0091$) [95], autrement le matériau est dit négatif comme le calcite ($\lambda_0 = 394$ nm, $n_e = 1,49810$ et $n_o = 1,68374$, $\Delta_n = -0,1856$) [102].



(a)



(b)

Figure 2.8. La biréfringence : a) la double réfraction d'un cristal de calcite (photo prise par G. Jerbi), b) Division d'une lumière incidente lors de l'interaction avec un cristal de calcite en deux rayons ordinaire (o) et extraordinaire (e), adaptée de [95].

On trouve également d'autres matériaux biréfringents dits biaxes, comme ceux qui appartiennent à la famille des cristaux monocliniques, orthorhombiques et tétragonaux. Ceux-ci possèdent deux axes optiques et trois indices de réfraction. Leur biréfringence peut-être calculée à partir de la valeur maximum et minimum des indices de réfraction principaux [95].

2.5 Évaluation des performances d'un système OCT

2.5.1 Résolution d'un système d'imagerie

Le pouvoir de résolution d'un système de microscopie est le plus souvent identifié par le critère de Rayleigh. Considérons l'image de deux points lumineux proches d'un objet qui se recouvrent partiellement, ceux-ci sont résolus par le système si le minimum du premier lobe central de l'image du premier point coïncide avec le maximum du lobe central de l'image de second point lumineux (figure 2.9). D'autres critères sont également admis au début du XXe siècle tels que le critère de Schuster, qui considère que deux objets ponctuels sont séparés s'il n'y a aucun chevauchement entre les lobes centraux des deux points lumineux d'un objet [103].

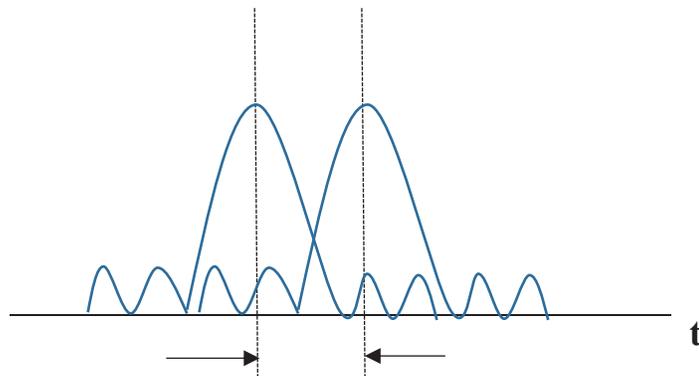


Figure 2.9. Critère de Rayleigh adaptée de [103].

Pour un système OCT, l'image est tri-dimensionnelle et la résolution est distincte dans les directions axiales et latérales.

2.5.2 Résolution axiale (RA)

La résolution axiale est déterminée à partir de la largeur à mi-hauteur (FWHM pour *Full Width at Half Maximum*) de l'enveloppe gaussienne de l'interférogramme. Elle est également proportionnelle à la longueur de cohérence temporelle de la source lumineuse [69]. Pour une source possédant une forme gaussienne, la résolution axiale (RA) dans l'air est définie par [70] :

$$RA = 2(\sqrt{2\ln 2}) \sigma_l \quad (2.75)$$

$$\sigma_l = \frac{c\sigma_\tau}{2}, \quad (2.76)$$

où σ_τ est l'écart type de l'enveloppe gaussienne temporelle définie par :

$$\sigma_\tau = \frac{1}{\sigma_\omega} \quad (2.77)$$

$$\sigma_\omega = \frac{2\pi c}{\lambda_0^2} \sigma_\lambda = \frac{\pi c}{\lambda_0^2} \frac{\Delta\lambda}{\sqrt{2\ln 2}} \quad (2.78)$$

$$\sigma_\lambda = \frac{\Delta\lambda}{2\sqrt{2\ln 2}} \quad (2.79)$$

En remplaçant 2.78 et 2.79 dans 2.76, on obtient :

$$\sigma_l = \frac{\lambda_0^2 \sqrt{2\ln 2}}{2 \Delta\lambda} \quad (2.80)$$

L'expression de la résolution axiale est alors donnée par :

$$RA = \frac{2\ln 2}{\pi} \frac{\lambda_0^2}{\Delta\lambda} \quad (2.81)$$

où λ_0 et $\Delta\lambda$ sont respectivement la longueur d'onde centrale de la source lumineuse et sa largeur spectrale à mi-hauteur.

2.5.3 Résolution latérale (RL)

Une caractéristique particulière de l'OCT vient du fait que les résolutions latérales et axiales sont mesurées à partir de paramètres indépendants. Bien que la première dépend principalement des caractéristiques de la source lumineuse, la deuxième est définie par l'ouverture numérique de l'objectif utilisé pour imager l'échantillon [69, 104]. Pour une source lumineuse de distribution gaussienne, la résolution latérale dans l'air est déterminée par [70]:

$$R_L = \frac{2\lambda_0^2}{\pi} \frac{1}{ON} \quad (2.82)$$

où λ_0 est la longueur d'onde centrale du faisceau incident illuminant l'objet, et l'ouverture numérique est $ON \approx \frac{D}{2d_f}$ (D est le diamètre du faisceau incident, d_f est la focale de la lentille de l'objectif).

2.5.4 Profondeur de champ

Au cours de la propagation de la lumière au sein d'un tissu biologique hétérogène, celle-ci subit une dégradation à cause des phénomènes de diffusion et d'absorption. Cette dégradation rend la visualisation de tissu au-delà d'une certaine profondeur impossible. Cette profondeur est appelée profondeur de champ (ou profondeur de pénétration). Il est important de noter que l'OCT est caractérisée par une profondeur d'imagerie moins étendue que celle de la pénétration de la lumière. Pour un faisceau gaussien, la profondeur de champ, z_{max} , est définie comme le double de la zone de Rayleigh [105]:

$$z_{max} = \frac{\pi R_L^2}{2\lambda_0} \quad (2.83)$$

Plus l'ouverture numérique est grande, plus la résolution transversale est grande, par contre, cela diminue la profondeur de pénétration de la lumière au sein de tissu. Un compromis entre une haute résolution spatiale et une grande profondeur de pénétration doit être pris en considération lors de la conception d'un système d'imagerie OCT.

Chapitre 3. Instrumentation

3.1 Introduction

Après avoir décrit les concepts théoriques de base de l'OCT, ce chapitre aborde une description de la conception d'un système OCT sensible à la polarisation, l'ensemble des caractéristiques optiques, électromécaniques et électriques sont décrites.

3.2 Description du montage

Tel que mentionné précédemment, le système développé dans le cadre de ce mémoire est un OCT plein champ sensible à la polarisation [106] (voir figure 3.2). Le montage a été conçu suivant une configuration de type Linnik ayant une optique identique dans les deux bras de l'interféromètre. Deux objectifs à immersion d'eau (Olympus UMPlanFLN 10X, ON = 0,3) sont utilisés dans chacun des bras (pour l'imagerie et la référence), ce qui limite la profondeur de champ du système, un requis dans un système plein champ. La source d'illumination utilisée sur ce montage est une lampe halogène-quartz (*Fiber-Lite*, modèle DC-950) d'une puissance de 150 watts. Le principe de fonctionnement de cet OCT repose sur l'utilisation d'une source à large spectre, ce qui a pour effet de réduire la longueur de cohérence temporelle.

La source blanche est reliée au système par un réseau de fibres optiques qui agit comme guide de lumière. Ce dernier permet d'éloigner la source du montage et de réduire les artéfacts causés par les vibrations provenant de la lampe (elle est munie d'un ventilateur pour refroidir qui génère ces vibrations). Par contre, le patron de distribution des fibres dans le guide laisse une empreinte substantielle sur le profil d'illumination. Pour corriger ce problème, un système optique de transmission afocal (de type Köhler) a été ajouté entre la sortie du faisceau de fibres et le montage (illustrée à la figure 3.1) [107]. Une lentille est alors utilisée pour imager la source directement sur l'objectif de microscope. Puisque le diamètre du faisceau de fibre est du même ordre que le diamètre d'ouverture de l'objectif, une lentille de 75 mm de focale a été placée de manière à transmettre l'image de la source avec un facteur de grandissement de 1:2 (à 106,25 mm de la source et à 255 mm de l'objectif).

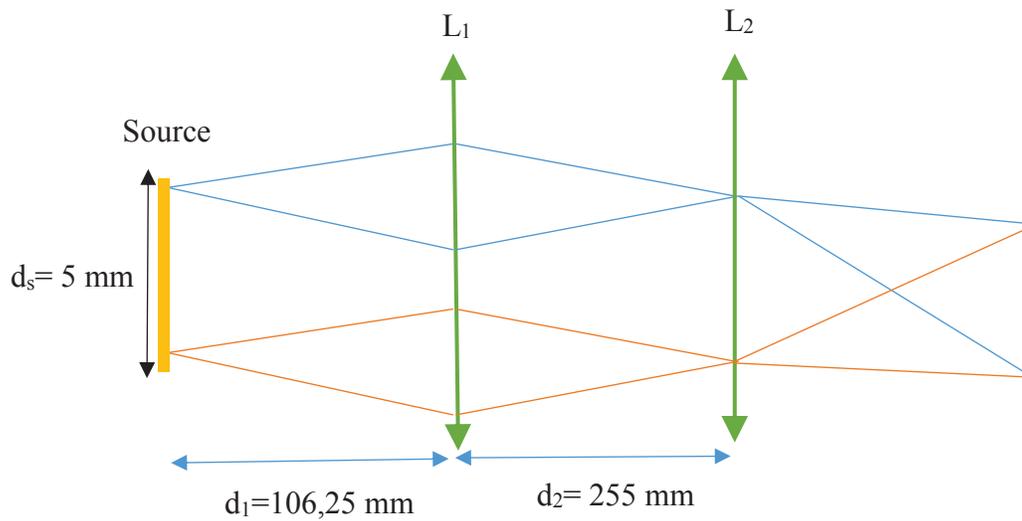


Figure 3.1. Principe d'illumination Köhler.

où : d_s est le diamètre de la source ; d_1 est la distance entre la source et la lentille L_1 ; d_2 est la distance entre la lentille L_1 et L_2 .

Deux filtres optiques sont utilisés pour limiter la largeur de bande de la source. Un premier filtre de type passe-haut (Thorlabs, FEL0600) bloque la lumière ayant une longueur d'onde inférieure à 600 nm. Suivant ce dernier, un second filtre de type passe-bas (Thorlabs, FES0900) bloque à son tour toute lumière supérieure à 900 nm. Le spectre d'illumination résultant couvre donc la plage de 600 à 900 nm, centré sur 750 nm.

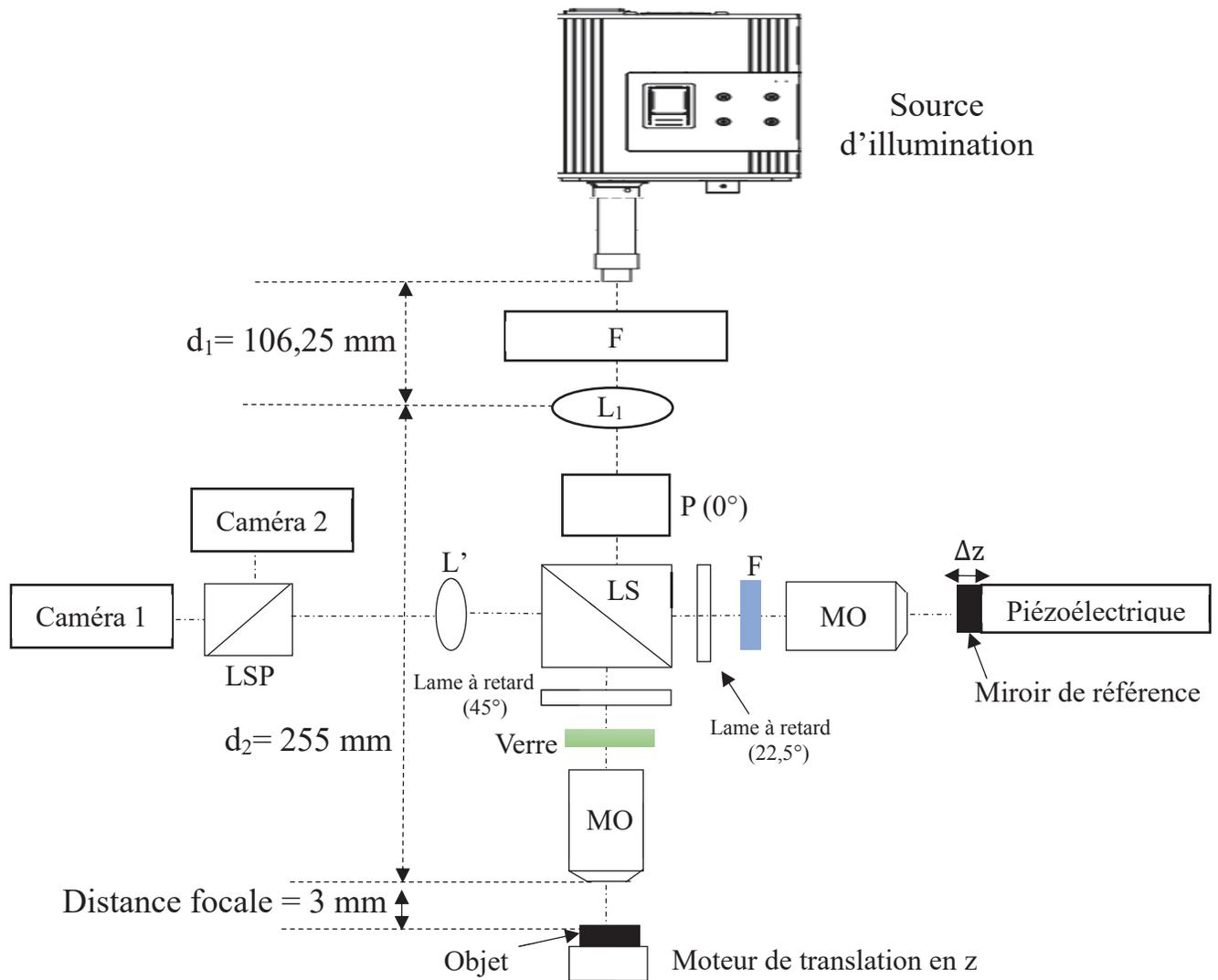


Figure 3.2. Schéma expérimental de l'OCT plein champ sensible à la polarisation. F, filtre ; L₁, lentille ($d_f = 75\text{mm}$) ; P, polariseur ; LS, lame séparatrice ; MO, Microscope objective Olympus UMPlanFLN 10X, $ON = 0,3$; L' ($d_f = 300\text{mm}$) ; LPS, lame séparatrice polarisée ; Miroir de référence de 98% de réflectivité [106].

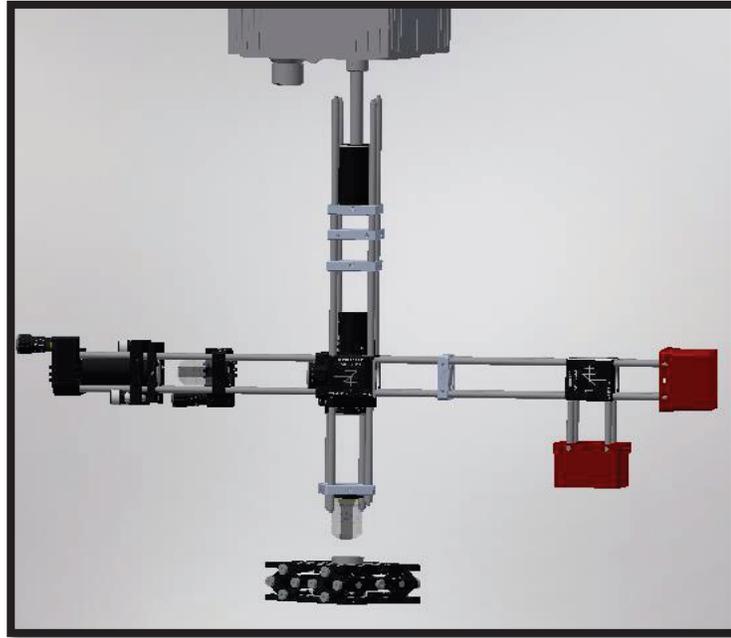


Figure 3.3. Schéma du dispositif expérimental réalisé avec *Inventor*

Ce système OCT reposant sur la lecture de la polarisation de la lumière réfléchie par l'échantillon, la source doit donc être elle-même polarisée. Ceci est fait par l'utilisation d'un polariseur Glan-Thompson (Calcite Polarizer) orienté à 0° ($//$). Une fois la lumière polarisée, un cube séparateur de ratio 50:50 redirige en deux parts égales l'intensité lumineuse vers les bras d'échantillon et de référence. Une lame quart-d'onde (AQWP) à 45° permet d'obtenir une polarisation circulaire dans le bras d'échantillon. À son retour, la lumière réfléchie par l'échantillon repasse par cette lame et une polarisation elliptique est alors obtenue, modulée par la biréfringence de l'objet imagé.

Ce même type de lame est utilisé pour le bras de référence, mais avec une orientation de $22,5^\circ$ par rapport à l'axe du polariseur de l'illumination. Au bout de ce bras se trouve un miroir, réfléchissant la majorité de la lumière qui est collé sur un actuateur piézoélectrique (section 3.4) permettant de le déplacer précisément. À son deuxième passage à travers la lame quart d'onde, la polarisation obtenue est rectiligne à un angle de 45° .

La lumière est combinée à la sortie de la lame séparatrice, puis est divisée en deux composantes orthogonales à 0° ($//$) et 90° (\perp) par un second cube polarisé. Les images interférométriques sont reconstruites sur deux capteurs CMOS (MV1-D1024E, Photon focus) (section 3.3) par une lentille L' ($d_f = 300$ mm). L'oscillation du miroir est synchronisée avec les caméras à une

fréquence $4f = 120$ Hz qui enregistre quatre images interférométriques par période de modulation dont l'image résultante est la combinaison des images interférométriques différentielles.

L'intensité de la lumière réfléchiée par le bras d'échantillon est atténuée par un filtre de densité neutre F' (Thorlabs NE06A-B, $OD = 0,6$) pour la ramener à un ordre de grandeur comparable à celle réfléchiée par l'échantillon. Un verre de même épaisseur que le filtre (≈ 1 mm) est placé dans l'autre bras de l'interféromètre afin de réduire l'effet de la dispersion. À la sortie de l'interféromètre, le même cube séparateur polarisé (Thorlabs, CM1-PBS252) sépare les deux composantes orthogonales du signal, qui sont redirigées vers les deux caméras CMOS (voir détails techniques dans la section 3.3).

3.3 Caméras CMOS : caractéristiques spectrales et temporelles

La caméra PhotonFocus, MV1-D1024E-160-CL-12 est basée sur un capteur de technologie CMOS. La transmission des images se fait par une interface Camera Link, ce qui permet une acquisition d'images à haut débit. Les images obtenues ont une résolution de 1024×1024 pixels (1 Mpixel), et une plage dynamique de 12 bits. Le profil spectral de la caméra est présenté à la figure 3.4. L'efficacité quantique (QE) maximale est d'environ 45% à 550 nm. Sur la plage d'intérêt, entre 600 et 900 nm, le QE de la caméra se situe entre 40% et 10%.

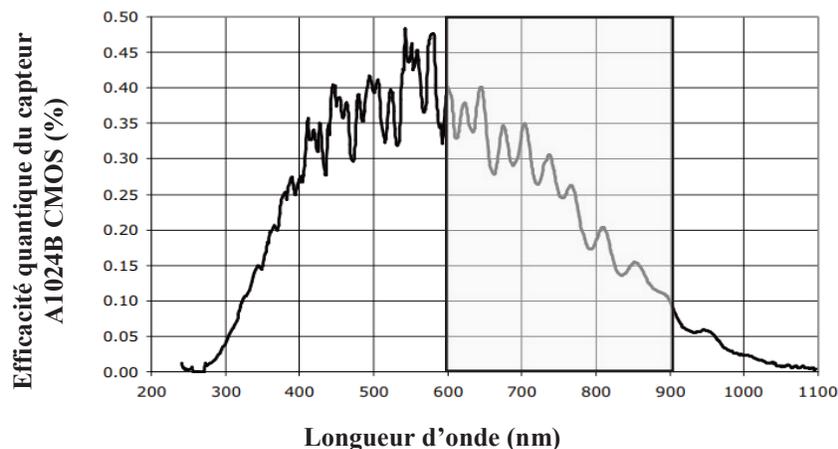


Figure 3.4. Variation de l'efficacité quantique en fonction de la longueur d'onde de la caméra MV1-D1024E-160-CL, tirée du manuel d'utilisation de PhotonFocus.

3.4 Le piézoélectrique

L'élément piézoélectrique (PA3JEW, Thorlabs) permettant de bouger le miroir de référence est fait d'une superposition de plusieurs couches de céramique. Ce composant possède une fréquence de résonance de 450 Hz. De plus, une tension sinusoïdale d'amplitude maximale de 100 V est requise pour le contrôle de son déplacement. L'amplitude de déplacement maximale de ce piézoélectrique est de 2 μm (figure 3.5).

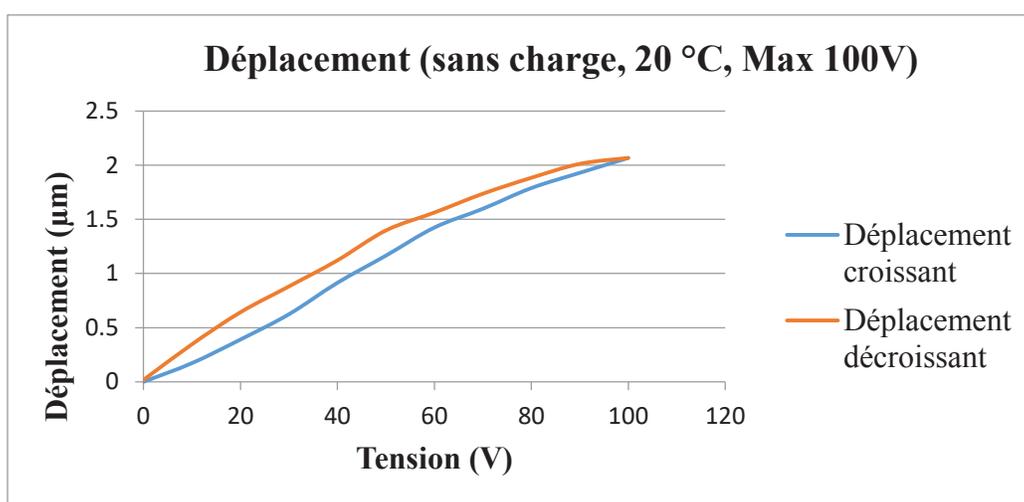


Figure 3.5. Le déplacement de PA3JEW en fonction de la tension générée par le contrôleur déterminé expérimentalement à 20°, tirée de www.thorlabs.com.

L'alimentation du piézoélectrique est faite par un contrôleur externe (MDT694B, Thorlabs). Ce contrôleur peut être relié à l'interface d'acquisition soit par un lien USB, soit par une sortie analogique qui permet de contrôler le déplacement en temps réel.

3.5 Conception mécanique

Cette section décrit la conception mécanique du système, une étape cruciale assurant un alignement adéquat et une stabilité à long terme du montage optique.

3.5.1 Système de cages et supports

Un système de rails (Thorlabs) est le principal support utilisé dans la conception du montage optique. L'utilisation de ce type de cages permet effectivement de mieux aligner le faisceau lumineux sur des axes optiques colinéaires.

3.5.2 Conception du bras de référence

Un miroir de référence en argent de diamètre 7 mm, et est attaché à l'élément piézoélectrique. L'ensemble est collé sur une rondelle métallique compatible avec les pièces Thorlabs et placé dans un support permettant un ajustement fin d'angles. De plus, une seconde pièce permet la translation dans l'axe optique. Il est vraiment important de pouvoir ajuster finement la position du miroir de référence afin de bien le placer dans le plan optique de l'objectif de microscope. Tous les composants doivent être sur le même axe optique afin de fournir un alignement adéquat tel qu'illustré dans la figure (3.6). L'objectif est monté dans une autre pièce de réglage en z, qui permet de le déplacer afin de réajuster la longueur du bras de référence (par rapport à celle du bras d'échantillon) et d'obtenir le signal d'interférence.

Puisque l'objectif de microscope doit être utilisé dans l'eau, et parce que le bras de référence est horizontal, un petit bac en plastique a été collé autour du miroir de référence afin de maintenir l'objectif dans l'eau.

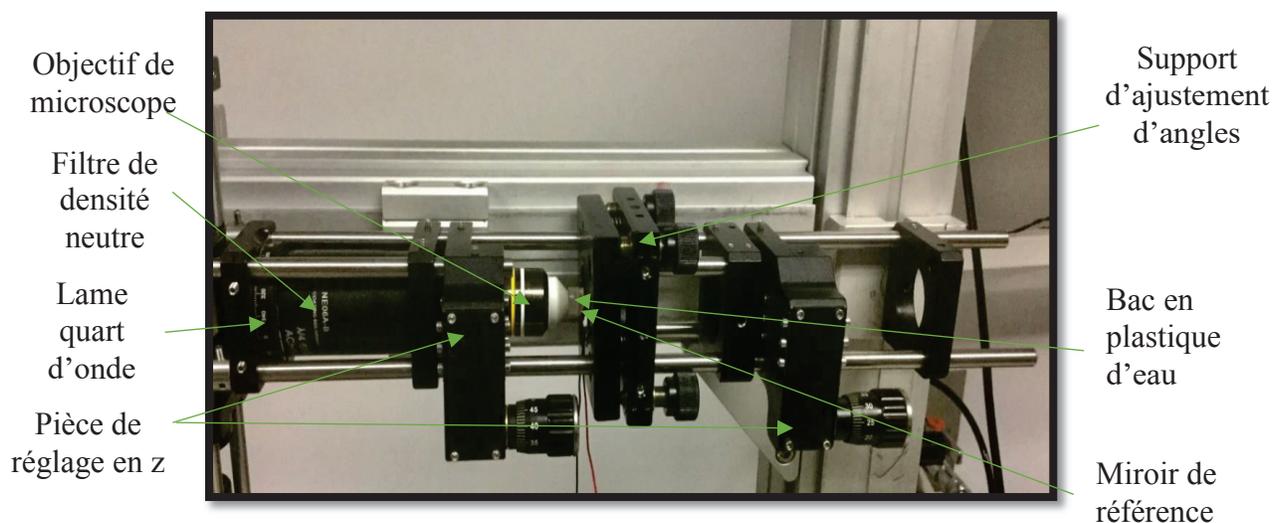


Figure 3.6. Bras de référence d'OCT polarisé à plein champ.

3.6 Logiciel de contrôle et d'acquisition

3.6.1 Contrôle des composants

Un premier logiciel, développé en langage Python, assure la synchronisation de l'oscillation du miroir avec le déclenchement de l'intégration des caméras CMOS. La communication entre ces différents éléments et l'ordinateur se fait via une carte d'interfaçage analogique – digitale USB-6356 (National Instrument). Le programme permet de :

1. Générer une onde sinusoïdale d'une amplitude d'environ 1V et d'une fréquence de 30 Hz (ces paramètres sont configurables via l'interface usager associée au programme). Cette onde contrôle l'oscillation du miroir de référence par un contrôleur piézoélectrique.

2. Générer un signal digital (TTL 5V), sur la même horloge que l'onde sinusoïdale, pour le déclenchement de l'intégration des caméras, à une fréquence quatre fois plus grande que celle du sinus. Aussi, le temps d'intégration et le délai de déclenchement sont contrôlés par la largeur et la phase de cette onde (figure 3.7).

3. Générer une seconde impulsion rectangulaire à $f=30$ Hz afin d'initialiser/lancer l'acquisition des images OCT, une fois que l'acquisition en cours est terminée.

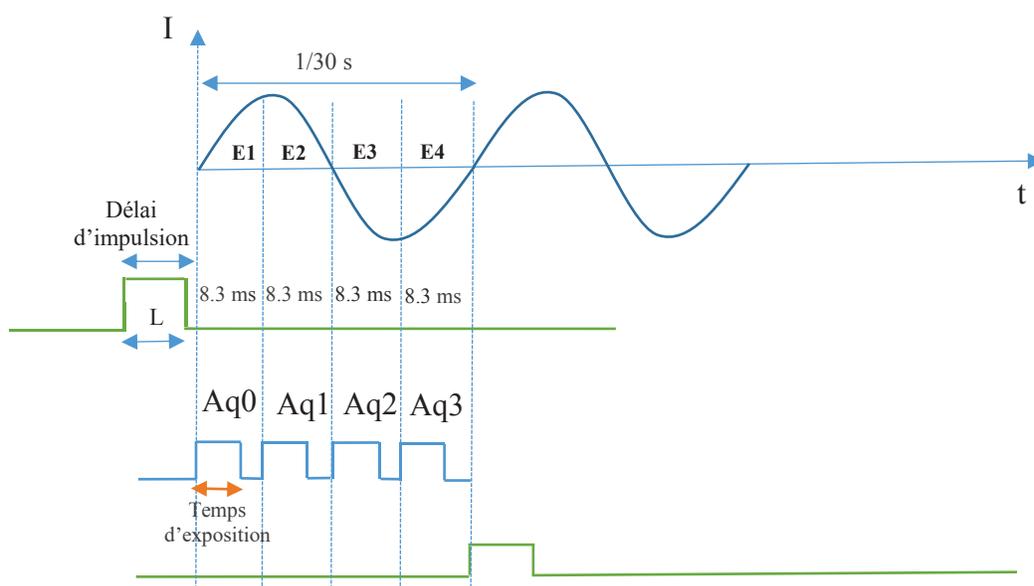


Figure 3.7. Synchronisation des caméras avec l'oscillation du miroir de la référence en se basant sur la méthode de modulation de phase, adaptée du manuel d'utilisation PhotonFocus et [86].

3.6.2 Affichage et sauvegarde des images en temps réel

L'affichage des images durant l'acquisition est géré par un second logiciel développé en C++. La première étape, lors du démarrage, est l'initialisation de la carte d'acquisition et de son pilote. Ensuite, les voies de communication (CameraLink) avec les caméras sont ouvertes et les paramètres d'acquisition sont envoyés à celles-ci (par exemple : la taille de l'image, le nombre de bits par pixel, etc.). De plus, une zone mémoire est réservée pour la création de tampons d'accumulation d'images.

L'acquisition des images interférométriques est faite à travers une boucle itérative selon le nombre d'images désirées. Pour chaque image OCT reconstituée, quatre images séquentielles sont prises avant d'être démodulées (équation 3.1) :

$$E = (E_1 - E_2)^2 + (E_3 - E_4)^2 \quad (3.1)$$

Les images brutes et les images OCT peuvent être visualisées séparément par l'interface de contrôle. De plus, une option permet d'afficher selon une échelle log afin de réduire l'étendue de la plage d'intensité et ainsi, pouvoir observer les détails sur toute la plage disponible pour l'affichage (sur 8 bits au lieu des 12 bits de la caméra).

L'affichage et l'acquisition se fait séparément c'est à dire lorsque l'image est affichée, il n'y aura plus d'acquisition des images et vice versa. En fait, au cours d'affichage, les images sont placées dans la queue d'affichage et pendant le sauvegarde, les images sont placées de même dans la queue d'enregistrement afin d'éviter l'encombrement des images et accélérer chaque processus.

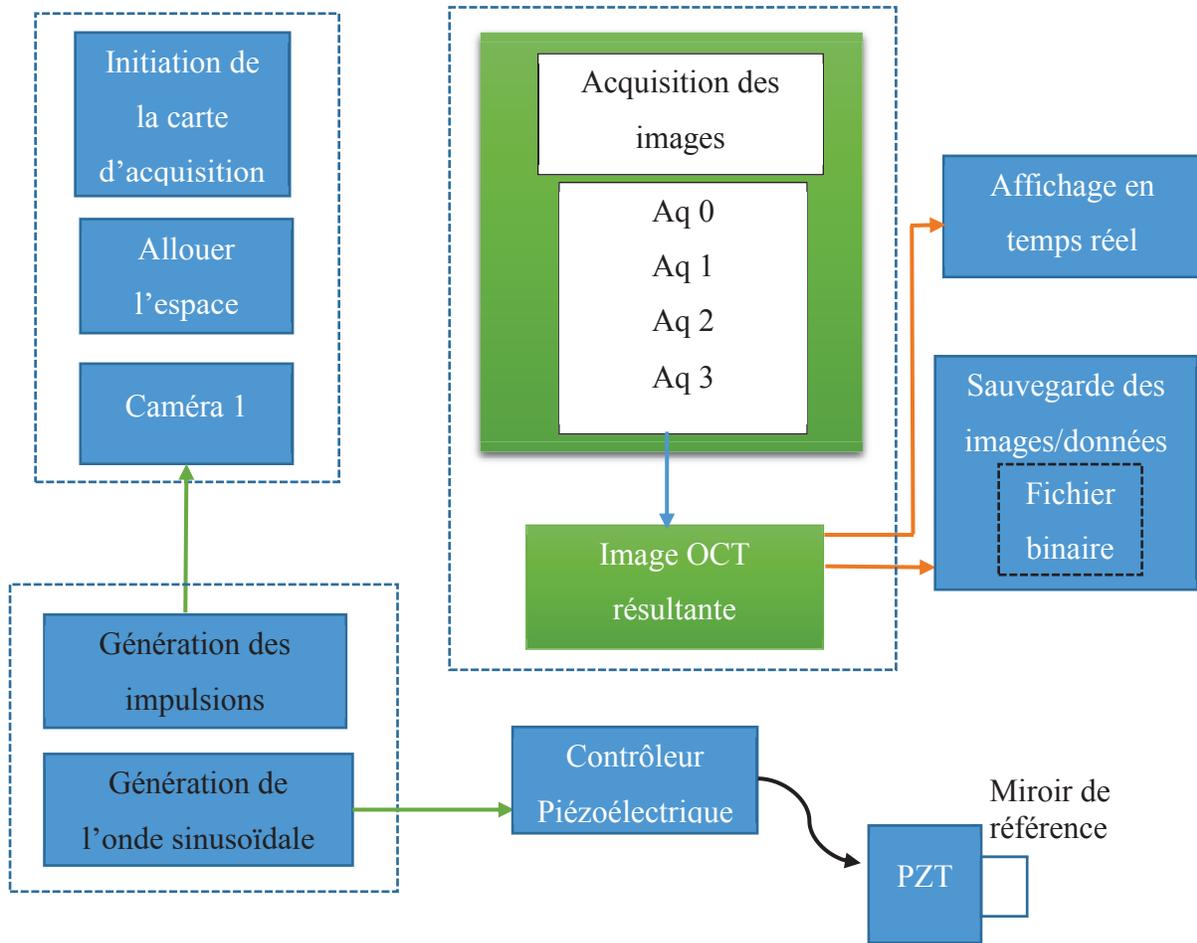


Figure 3.8. Diagramme de fonctionnement des logiciels du système.

Chapitre 4. Caractérisation du système

Dans cette section, une validation des performances du système est effectuée en termes de résolution spatiale, de rapport signal sur bruit, du contraste, sa capacité à imager des matériaux biréfringents ainsi que des échantillons biologiques, etc.

4.1 Alignement du faisceau lumineux : procédure expérimentale

La conception mécanique du système est conçue de telle façon à assurer un alignement adéquat du faisceau. Par contre, il faudrait bien s'assurer de l'alignement des deux faisceaux provenant du bras de l'interféromètre avant de commencer les expériences. Pour ce faire, nous avons procédé comme suit : d'abord, l'alignement du bras de référence se fait en supprimant le signal provenant du bras d'échantillon. Puis, le diamètre de faisceau est diminué en réduisant l'ouverture de l'iris placé dans le bras d'illumination. Ensuite l'image du faisceau lumineux est centrée sur l'écran en faisant un réglage d'angle du miroir de référence tel qu'illustré dans la figure 4.1. De la même façon, l'alignement de l'autre bras est effectué en plaçant un miroir à la place d'échantillon et en éliminant le signal provenant du bras de référence.

Afin d'atteindre un alignement adéquat, il est important que les deux miroirs soient perpendiculaires à l'axe optique, autrement dit aux objectifs dans les deux bras.

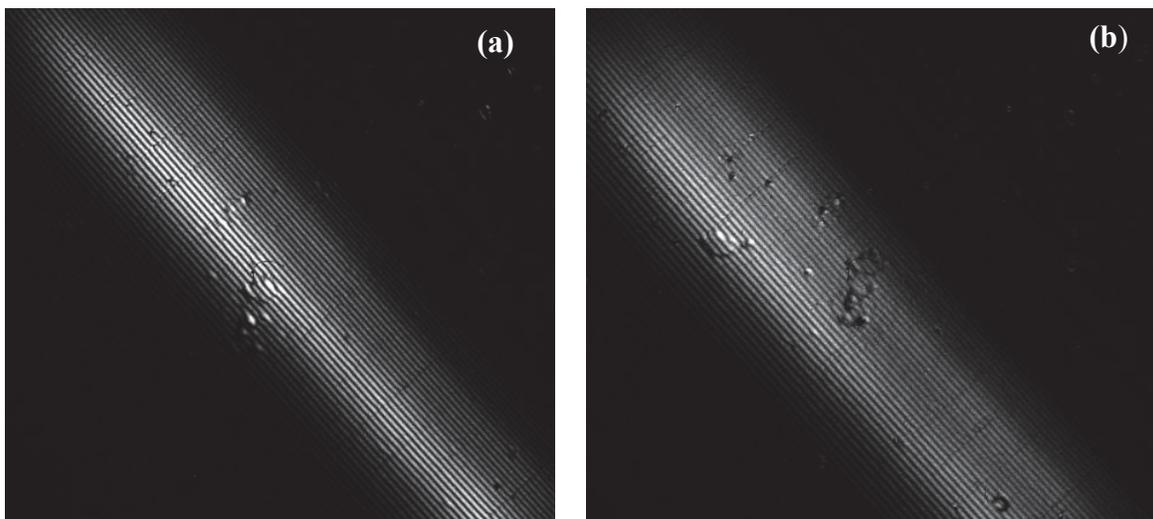
L'étape suivante consiste à trouver l'interférence. La première étape consiste à optimiser la distance entre les deux bras. D'abord, il faut mettre les deux bras à la même longueur d , qui correspond à la distance entre le centre du cube séparateur et la lentille de sortie de l'objectif. Ensuite, les deux miroirs sont placés au plan focal de l'objectif correspondant, dans ce cas à 3 mm. Après avoir optimisé la longueur des deux bras, un réglage fin de la distance entre les bras doit être apporté afin de trouver le signal, puisque la différence de marche ne dépasse pas quelques micromètres. Pour cela, nous avons utilisé deux techniques :

La première consiste à garder la longueur du bras d'échantillon fixe, et de moduler la différence de marche entre les deux bras en faisant un ajustement de la longueur du bras de référence jusqu'à ce que la distance parcourue par la lumière soit égale entre les deux bras. L'ajustement se fait essentiellement par une translation de l'objectif dans un sens ou l'autre, tout en gardant la même distance focale par rapport au miroir. Il faut donc bouger l'objectif et le miroir en même temps et dans le même sens. La translation maximale de l'objectif est de 2 mm, ce qui impose

de conserver une différence de longueur entre les deux bras inférieurs à $\pm 2\text{mm}$. L'autre méthode consiste à faire varier la longueur du bras d'échantillon par rapport à l'autre bras, jusqu'à avoir le signal d'interférence. Lorsque le signal trouvé n'est pas au point focal du bras d'échantillon, il est ensuite remis au point focal et la différence de longueur entre les deux bras est compensée en modulant la distance du bras de référence par la méthode citée ci-dessus.

Lors d'une acquisition typique du signal suite à cette procédure, un désalignement est observé en examinant l'image de l'interférogramme telle qu'illustré dans la figure 4.1 (a). Supposant que le bras d'échantillon est parfaitement haute résolution spatiale et une grande perpendiculaire au plan de l'objectif correspondant, l'autre bras est incliné d'un angle α par rapport à l'axe optique. La solution retenue pour un réalignement adéquat est d'ajuster l'angle du miroir de référence par rapport à l'objectif correspondant tout en gardant l'angle de l'autre miroir fixe, jusqu'à avoir un interférogramme couvrant toute l'image. Le choix de la direction d'ajustement est basé sur l'observation de la direction permettant d'obtenir des franges sur toute l'image.

Le nombre des franges, ainsi que l'interfrange i augmente au fur et à mesure que l'angle θ entre les deux bras diminue telle qu'illustré dans la figure 4.1 de (a) à (f). Ceci indique que l'angle entre les deux miroirs diminue et tend un alignement parallèle.



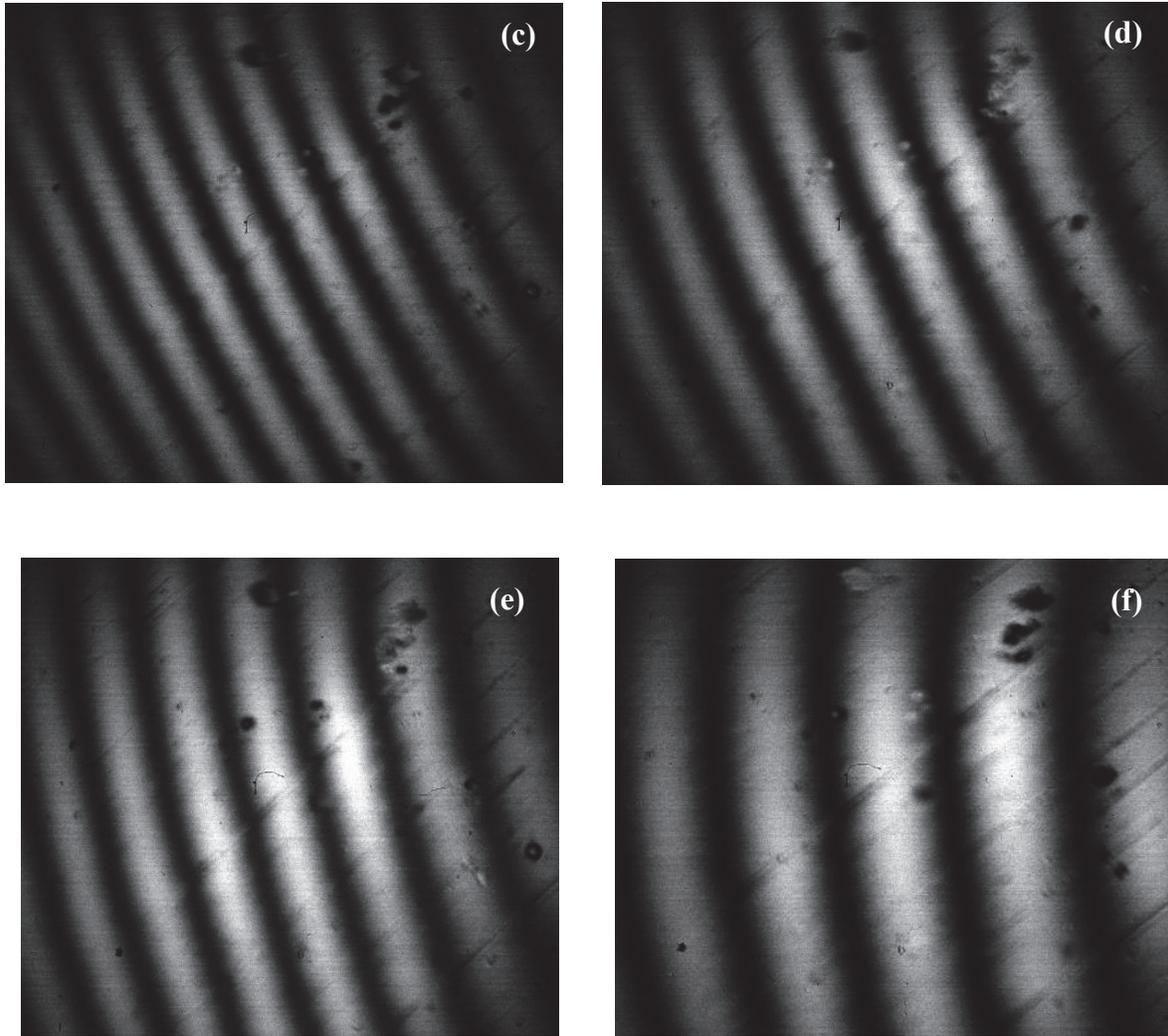


Figure 4.1. Réalignement du faisceau par un réglage d'angle du miroir de référence : Augmentation du nombre des franges et élargissement des interfranges jusqu'à ce que l'interférogramme soit sur toute l'image.

4.2 Calcul de l'état de polarisation dans les deux bras de l'interféromètre

Afin de s'assurer que les deux lames à retard sont bien orientées, un calcul d'état de polarisation de la lumière issue des deux bras de l'interféromètre en présence du miroir comme échantillon a été effectué. En effet, le miroir est un matériau non biréfringent, alors d'après la théorie, on est censé d'apercevoir l'interférogramme sur un seul canal de détection.

4.2.1 État de polarisation de la lumière incidente

Admettant que la lumière est polarisée verticalement après avoir traversé le polariseur Glan-Thompson orienté à 0° ($//$), alors son état de polarisation peut être représenté par la matrice de Jones comme suit [95]:

$$\vec{E}_i = \begin{pmatrix} 1 \\ -1 \\ 0 \\ 0 \end{pmatrix}$$

4.2.2 État de polarisation de la lumière dans le bras de référence

La matrice de Muller représentant la lame à retard quart d'onde dont son axe rapide est orienté sous un angle θ par rapport à la polarisation incidente est [98]:

$$M(\varphi, 2\theta) = \begin{pmatrix} 1 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & \cos^2(2\theta) + \cos\varphi \sin^2 2\theta & (1 - \cos\varphi)\sin 2\theta \cos 2\theta & -\sin\theta \sin 2\theta \\ 0 & (1 - \cos\varphi)\sin 2\theta \cos 2\theta & \sin^2 2\theta + \cos\varphi \cos^2 2\theta & \sin\varphi \cos 2\theta \\ 0 & \sin\varphi \sin 2\theta & -\sin\varphi \cos 2\theta & \cos\varphi \end{pmatrix} \quad (4.1)$$

Pour le bras de référence, la matrice de Mueller du faisceau lumineux traversant la lame quart d'onde orientée sous un angle $\theta = 22,5^\circ$ par rapport à l'axe du polariseur, et après avoir réfléchi par le miroir de référence, est déterminée par la multiplication de la matrice représentant le faisceau incident \vec{E}_i par la matrice de l'élément correspond tel que :

$$\vec{E}_t = M(90^\circ, 2\theta) M_{mir} M(90^\circ, 2\theta) \vec{E}_i \quad (4.2)$$

où M_{mir} est la matrice de Mueller du miroir défini par [108]:

$$M_{mir} = \frac{1}{2} \begin{pmatrix} 1 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 1 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 1 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 1 \end{pmatrix} \quad (4.3)$$

En remplaçant l'équation 4.2 par leur matrice correspond, on obtient une polarisation oblique à $+45^\circ$:

$$\vec{E}_t = \frac{1}{2} \begin{pmatrix} 1 \\ 0 \\ 1 \\ 0 \end{pmatrix} \quad (4.4)$$

4.2.3 État de polarisation de la lumière dans le bras d'échantillon

De la même façon, l'état de polarisation de la lumière dans le bras d'échantillon après double passage par une lame quart d'onde dont son axe rapide est orienté à 45° par rapport à la polarisation incidente, est donnée par :

$$\vec{E}_t = M(90^\circ, 2\theta) M_{mir} M(90^\circ, 2\theta) \vec{E}_i \quad (4.5)$$

Le calcul de l'équation 4.5 donne une lumière polarisée selon une direction horizontale :

$$\vec{E}_t = \frac{1}{2} \begin{pmatrix} 1 \\ 1 \\ 0 \\ 0 \end{pmatrix} \quad (4.6)$$

À la sortie de l'interféromètre, la composante horizontale de la lumière issue du bras de référence s'interfère avec celle du bras d'échantillon et la composante verticale s'annule. On aura une image d'interférence perçue sur CMOS₁.

4.3 Résolution axiale

La résolution axiale théorique dans l'air est obtenue en remplaçant les paramètres du spectre de la source $\lambda_0 = 750 \text{ nm}$ et $\Delta\lambda = 300 \text{ nm}$ dans l'équation 2.81, la valeur obtenue est $0,82 \text{ }\mu\text{m}$. La résolution axiale dans un milieu est déterminée par [70, 109]:

$$RA_{milieu} = \frac{2 \ln 2}{\pi} \frac{\lambda_0^2}{n \Delta \lambda} \quad (4.7)$$

où n est l'indice de réfraction du milieu. À partir de l'équation 4.7, la résolution axiale dans l'eau (indice de réfraction 1,33) est $0,41 \mu\text{m}$.

Afin de mesurer la résolution axiale réelle du système :

1. Placer un miroir sous l'objectif comme échantillon.
2. Une fois que l'interférence est produite, déplacer le miroir en z par un pas de $1 \mu\text{m}$ et rapporter les valeurs d'intensité maximale des franges d'interférence sur un histogramme de chaque image obtenue jusqu'à l'annulation du signal d'interférence.
3. La résolution axiale réelle est déterminée à partir de la largeur à mi-hauteur (ou FWHM, *full width at half maximum*) de la courbe de profil de réflectivité (figure 4.2). Suite à cette procédure, la résolution axiale du système mesurée est de $1,7 \mu\text{m}$.

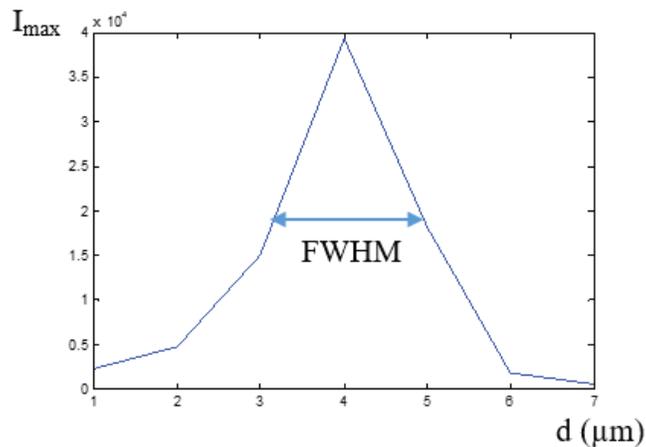


Figure 4.2. Mesure de la résolution axiale : la largeur à mi-hauteur du profil de réflectivité.

4.4 Résolution latérale

Afin de calculer la résolution latérale dans l'eau, rappelons l'équation 2.82 :

$$R_L = \frac{2\lambda_0^2}{\pi} \frac{1}{ON} \quad (4.8)$$

où $ON = 0,3$, alors la valeur de résolution latérale théorique dans l'air est de $1,59 \mu\text{m}$. La résolution latérale dans l'eau est diminuée de $4/3$ de celle dans l'air, soit $1,19 \mu\text{m}$ [109].

Le calcul expérimental de la résolution latérale consiste à :

1. Imager un élément d'une cible de résolution standard USAF 1951. Cette cible possède des éléments par groupe. Chaque groupe est composé d'une série des lignes horizontales et verticales. L'élément 2 du groupe 2 a été imagé (figure 4.3 (a)) possédant 4,49 paires de lignes par millimètres. En connaissant la taille et le nombre de pixels N d'une paire de ligne (figure 4.3 (b)), soit respectivement $223 \mu\text{m}$ et 340 pixels. Il est possible de déduire la taille du chaque pixel latéralement, $0,65 \mu\text{m}$.
2. Calculer l'espacement D requis pour passer de 10% à 90% de l'intensité maximale du signal en utilisant deux lignes et multiplier la valeur trouvée par la taille du pixel (On peut utiliser 3 lignes pour augmenter la précision du calcul), une résolution latérale dans l'eau de $2,6 \mu\text{m}$ a été obtenue.

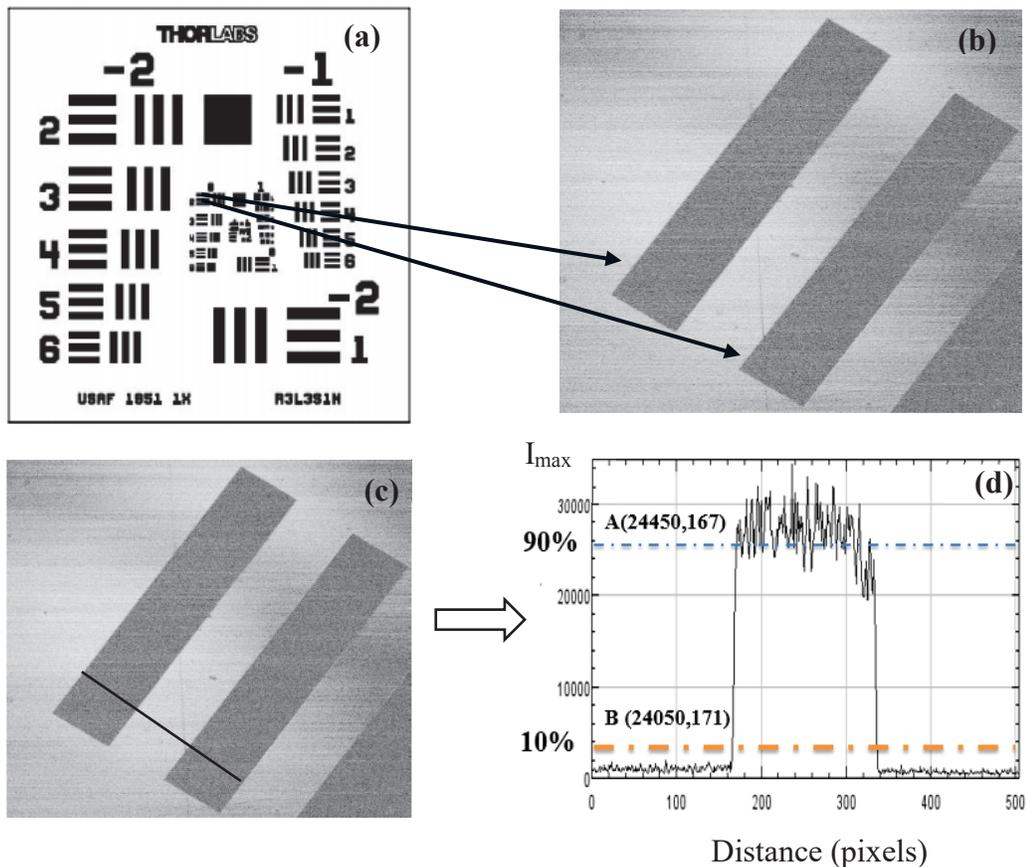


Figure 4.3. Mesure de la résolution latérale. (a) Une cible de résolution USAF 1951, tirée de Thorlabs. (b) Image OCT de l'élément 2 du groupe 2 de la cible de résolution. (c) Le trait en bleu représente les éléments sélectionnés pour la mesure. (d) profil de réflectivité de la zone sélectionnée dans la figure c. Le trait pointillé en bleu et en jaune désigne respectivement 90% et 10% de l'intensité maximale du signal, inspirée de [75].

4.5 Rapport signal sur bruit (RSB)

Le rapport signal sur bruit est défini comme le rapport entre le carré de l'intensité du signal désigné par i_{det} et la variance du bruit de fond σ_{bf}^2 [62, 110]:

$$RSB = \frac{\langle i_{det} \rangle^2}{\sigma_{bf}^2} \quad (4.9)$$

Le rapport sur bruit en décibel est peut-être exprimé par [111]:

$$RSB_{db} = 20 \log_{10} \left(\frac{i_{det}}{\sigma_{bf}} \right) \quad (4.10)$$

La mesure quantitative du rapport signal sur bruit consiste à [111] :

1. Acquérir une image d'interférence en présence du miroir dans le bras d'échantillon.
2. Soustraire le signal du bruit de fond de l'image interférométrique enregistrée et extraire l'intensité maximale du signal à partir de celle-ci.
3. Mesurer la variance à partir de l'image de bruit du fond est acquise en absence d'interférence par élimination du signal provenant de l'échantillon.
4. Pour une intensité $i_{det} = 63489$ et une déviation standard σ_{bf} de 172,152, on obtient un rapport sur bruit de 57 dB.

4.6 Contraste

Le contraste est défini de différentes manières. Lorsqu'il s'agit d'une image possédant une structure périodique comme les franges d'interférence claires et sombres, le contraste de Michelson est calculé comme suit [112]:

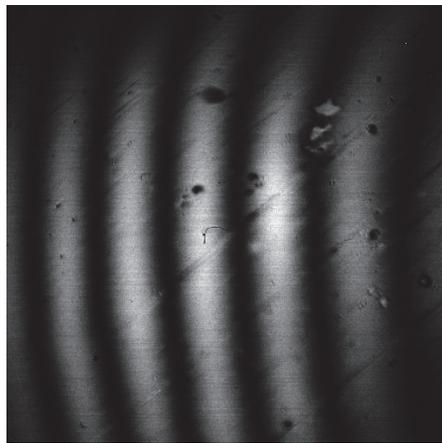
$$C = \frac{L_{max} - I_{min}}{L_{max} + L_{min}} \quad (4.11)$$

où L_{max} et L_{min} sont respectivement la luminance maximale et minimale des franges. La luminance est proportionnelle à l'intensité, alors l'équation 4.11 devient :

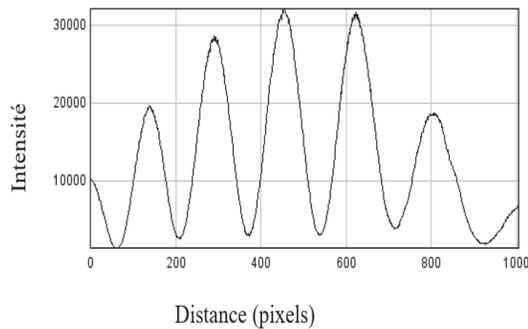
$$C = \frac{I_{max} - I_{min}}{I_{max} + I_{min}} \quad (4.12)$$

Pour déterminer le contraste des franges, on place d'abord un miroir dans le bras d'échantillon. Dès que le signal interférométrique est acquis sur la caméra, le moteur est déplacé dans une direction axiale afin d'ajuster la distance entre les deux bras de l'interféromètre jusqu'à atteindre le maximum de contraste des franges, ce qui correspond à une différence de marche nulle entre les deux bras de l'interféromètre. Puis, on enregistre une image d'interférence (Fig 4.4 (a)) et on extrait la valeur d'intensité maximale (I_{max}) et minimale (I_{min}) à partir de l'histogramme de l'image correspondante, représentée dans la figure 4.4 (b).

La valeur du contraste est comprise entre 0 et 1. En remplaçant les valeurs de $I_{max} = 31777$ et $I_{min} = 1488$ dans l'équation 4.12 , on obtient un contraste de 0,91.



(a)



(b)

Figure 4.4. Calcul du contraste de l'image d'OCT. (a) Image d'interférence composée d'une succession des franges sombres et claires, (b) histogramme de l'image de l'interférogramme.

Paramètres	Formule	Valeurs
Résolution axiale dans l'eau	$RA_{milieu} = \frac{2 \ln 2}{\pi} \frac{\lambda_0^2}{n \Delta \lambda}$	1,7 μm
Résolution latérale dans l'eau	$R_L_{milieu} = \frac{2 \lambda_0^2}{\pi} \frac{1}{n ON}$	2,4 μm
Rapport signal sur bruit	$RSB_{db} = 20 \log_{10} \left(\frac{i_{det}}{\sigma_{bf}} \right)$	57 dB
Contraste	$C = \frac{I_{max} - I_{min}}{I_{max} + I_{min}}$	0,91

Tableau I. Performances du système d'imagerie microscopique

4.7 Imagerie d'un matériau biréfringent

Dans le but de caractériser, la capacité du système à imager des structures biréfringentes, un matériau biréfringent tel qu'un cristal, a été imagé. La figure 4.5 présente deux couples d'images détectés par les deux caméras CMOS, qui représentent respectivement de gauche à droite l'image de l'OCT conventionnelle dite aussi image d'intensité et de biréfringence ou encore de polarisation. Les deux couples d'images sont représentés en échelle logarithmique afin de maximiser le contraste, et sont acquis à la même profondeur simultanément sur les deux caméras à une intensité proche de saturation, afin d'augmenter la plage dynamique de l'image. La couleur noire représente le signal le plus fort, tandis que le blanc correspond à celle du signal le plus faible [89].

Le temps d'acquisition d'une seule image tomographique résultante est 33 ms. Une différence du contraste entre les deux images est bien distinguée. En effet, l'image de biréfringence illustrée dans la Fig. 4.5 (a) présente un contraste plus élevé que celle d'intensité dans la Fig.

4.5 (b) et (d). Les zones sombres sont devenues brillantes sur l'image de polarisation, marquant une forte biréfringence du matériau et de nouveaux détails sont apparus. Les contours des objets et les transitions entre les régions sont plus aperçus sur l'image de polarisation. En revanche, on remarque une surexposition de certaines zones telle que représentée par un triangle bleu sur la Fig 4.5 (b) qui rend les détails moins visibles par rapport à l'image d'intensité.

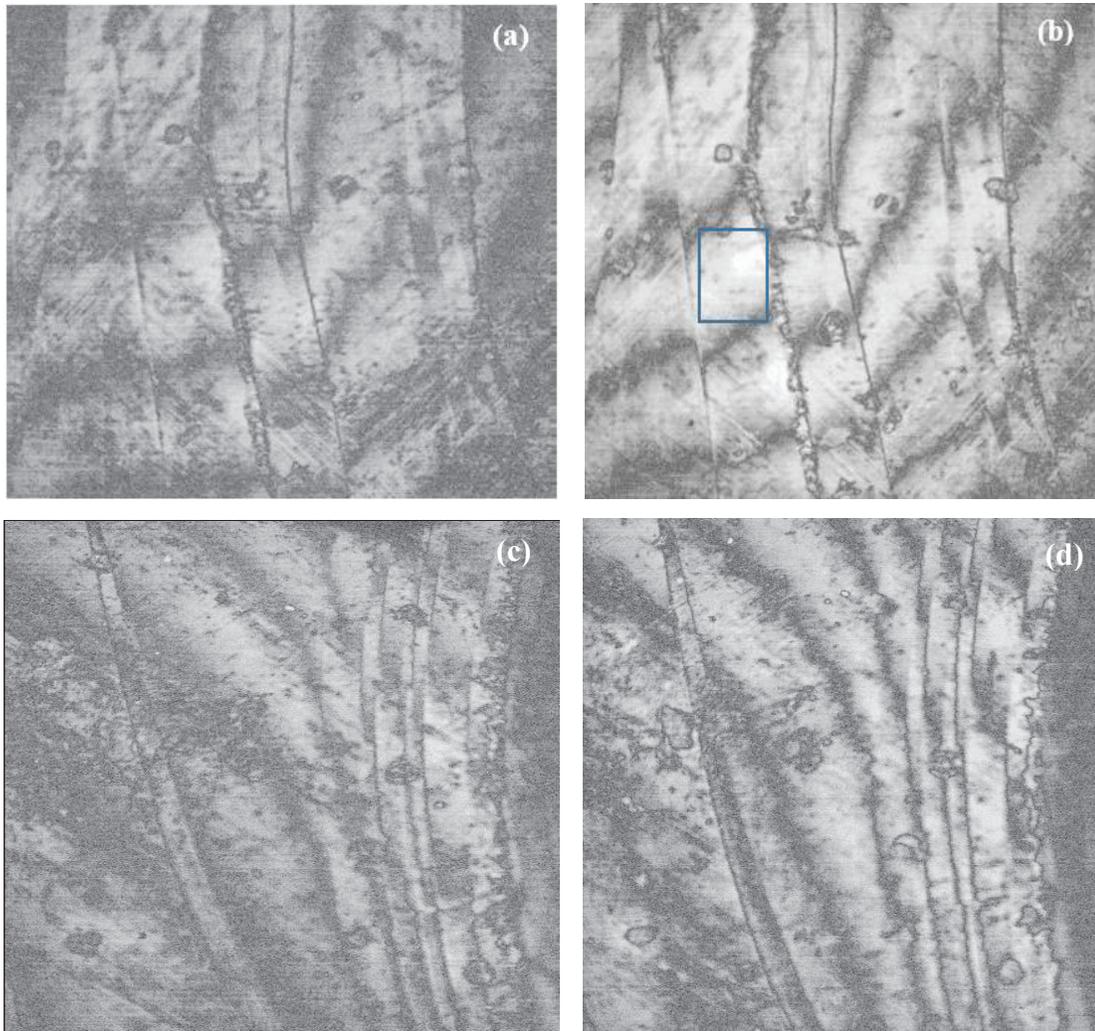


Figure 4.5. Images tomographiques *en face* obtenues par l'OCT plein champ sensible à la polarisation d'un cristal. (a) (c) et (d) (b) sont respectivement les images *en face* (XY) d'intensité et de biréfringence acquises respectivement sur les caméras CMOS₁ et CMOS₂, de taille 1024 x1024 pixels.

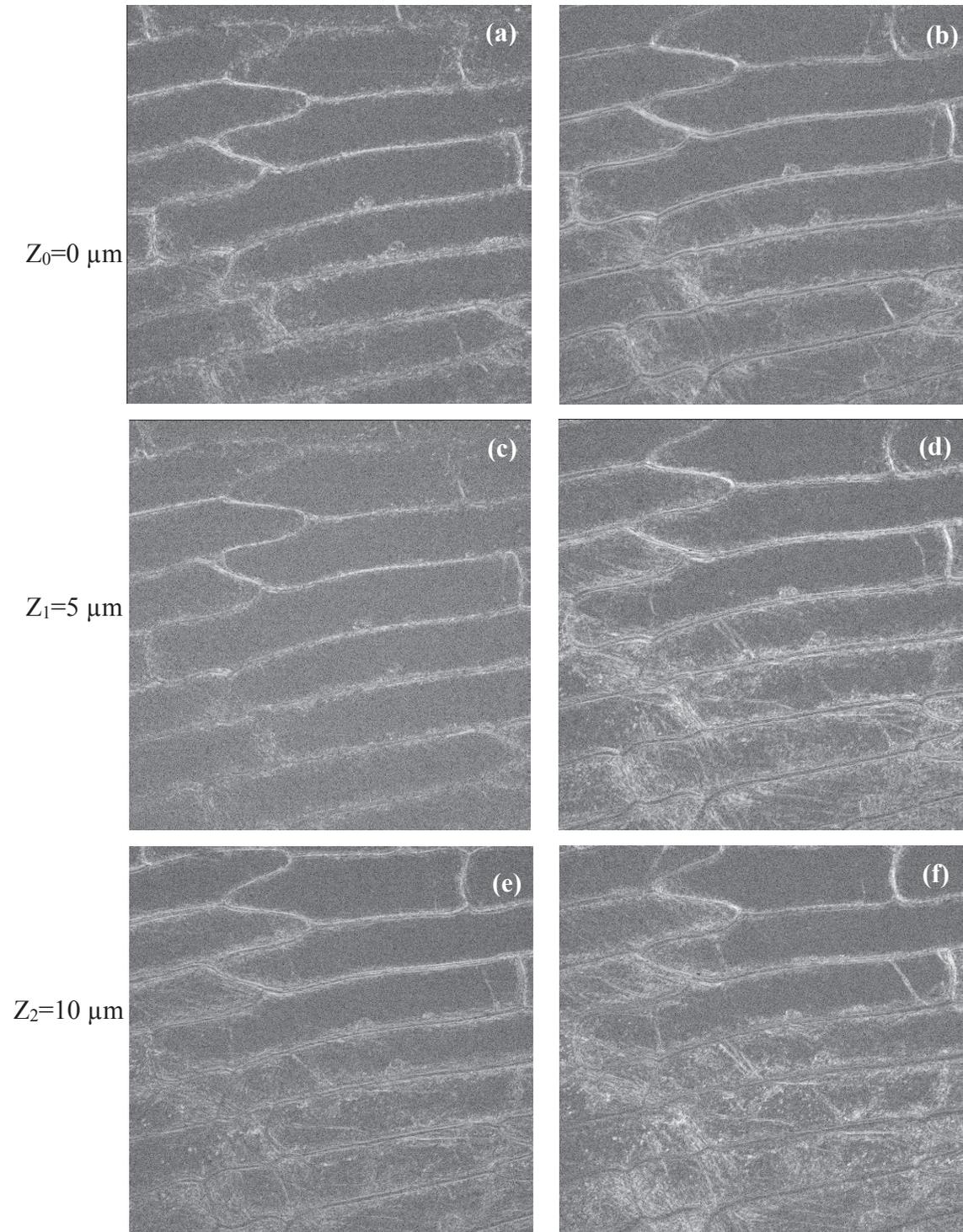
4.8 Imagerie *ex vivo* d'un échantillon biologique

La dernière étape est de démontrer la capacité du dispositif à imager un tissu biologique. Pour ce faire, nous avons imagé comme échantillon une tranche d'oignon. En fait, notre choix s'est porté sur l'oignon par le fait qu'il présente une biréfringence due essentiellement à la disposition régulière de ses composantes cellulaires. Au début, nous avons acquis des images sans fixation de l'objet sur une lamelle de verre. Toutefois, le problème rencontré était que l'eau s'écoulait rapidement en déplaçant le moteur, ce qui demande le réinjecter à chaque fois entre l'objectif et l'échantillon. Ceci a imposé un temps d'acquisition très long et a rendu la procédure d'imagerie plus difficile. La solution retenue fut de fixer l'échantillon dans l'agarose dans un récipient rempli d'eau.

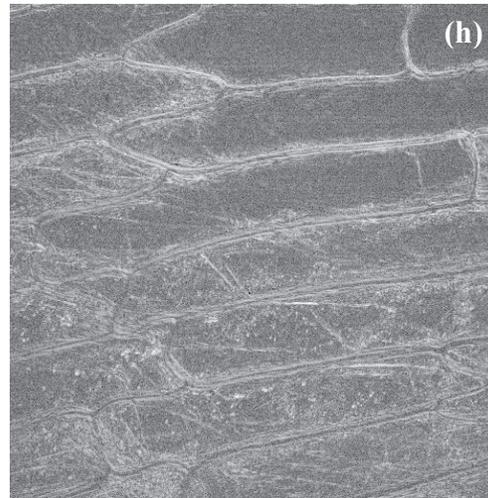
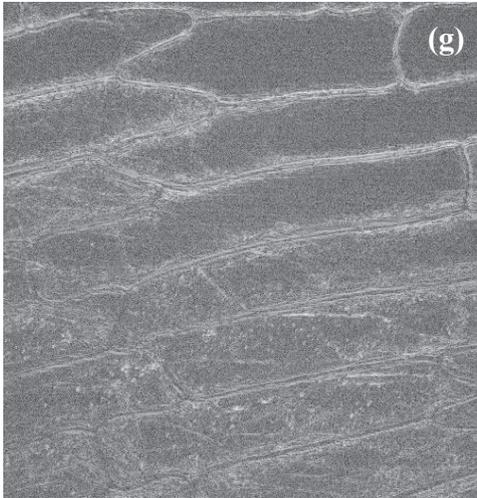
Une pile d'images est acquise par déplacement axial d'un moteur automatisé (Lab Jacks de Thorlabs) par pas de 5 μm , en profondeur sur 30 μm . Le déplacement du moteur permet de sonder l'échantillon et d'accéder à plus de couches en profondeur. La figure 4.6 de (a) à (n), illustre les couples d'images tomographiques 2D *en face* (XY) d'intensité et de polarisation appelée aussi image de biréfringence, représentée en échelle logarithmique, acquis respectivement sur les caméras CMOS₁ et CMOS₂ à une intensité proche de celle de saturation et sur la même zone.

Les cavités de l'oignon sont distinguées sur les couples d'images de l'OCT plein champ conventionnelle et de polarisation ainsi que les noyaux. L'image de biréfringence présente des contrastes additionnels par rapport à l'image d'intensité. En fait, les zones anisotropes sont devenues plus brillantes sur l'image de biréfringence, plus de détails structurels sont perceptibles, les contours des objets ainsi que les transitions entre les régions sont devenus plus nets, dû à une variation de retard de phase entre les deux composantes de la lumière [106] et prouve ainsi la biréfringence de l'échantillon. Toutefois, on remarque que dans certaines régions de l'image de biréfringence, l'intensité reste la même qu'en image en OCT plein champ conventionnelle, ce qui peut être expliqué par l'absence ou un très faible degré de biréfringence dans ces zones. Ceci montre bien une variabilité d'amplitude de biréfringence entre les régions au sein du même tissu. De plus, on remarque que la brillance sur l'image de polarisation augmente en profondeur par exemple sur la Figure 4.6 (j) et (l), ce qui peut être expliquée par une augmentation de retard de phase en profondeur [45, 113] due notamment à la biréfringence

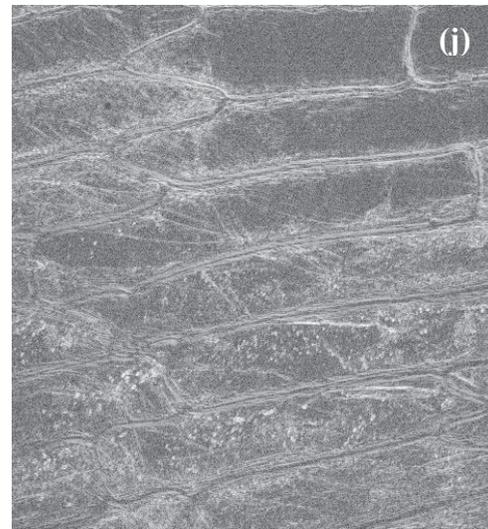
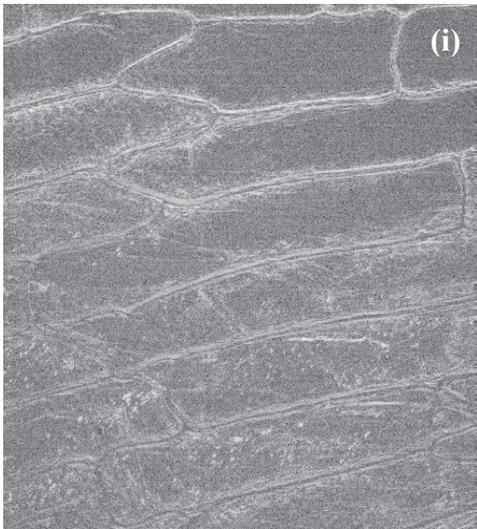
des couches les plus profondes. Ceci traduit le potentiel du système à imager des échantillons multicouches.



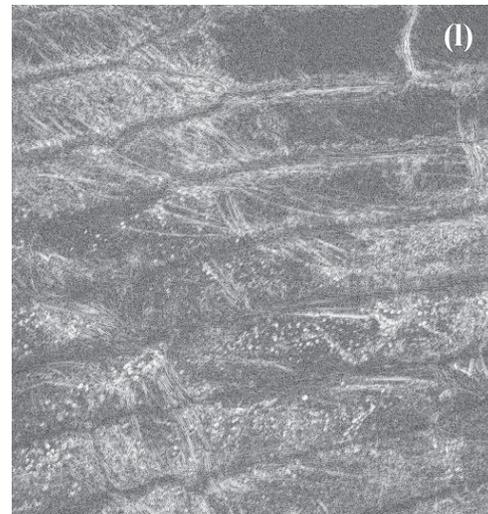
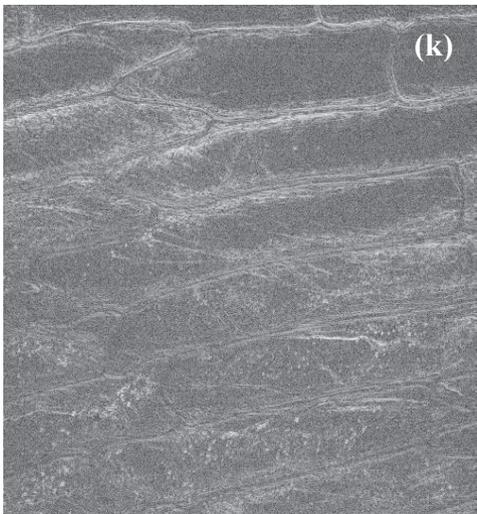
$Z_3=15\ \mu\text{m}$



$Z_4=20\ \mu\text{m}$



$Z_5=25\ \mu\text{m}$



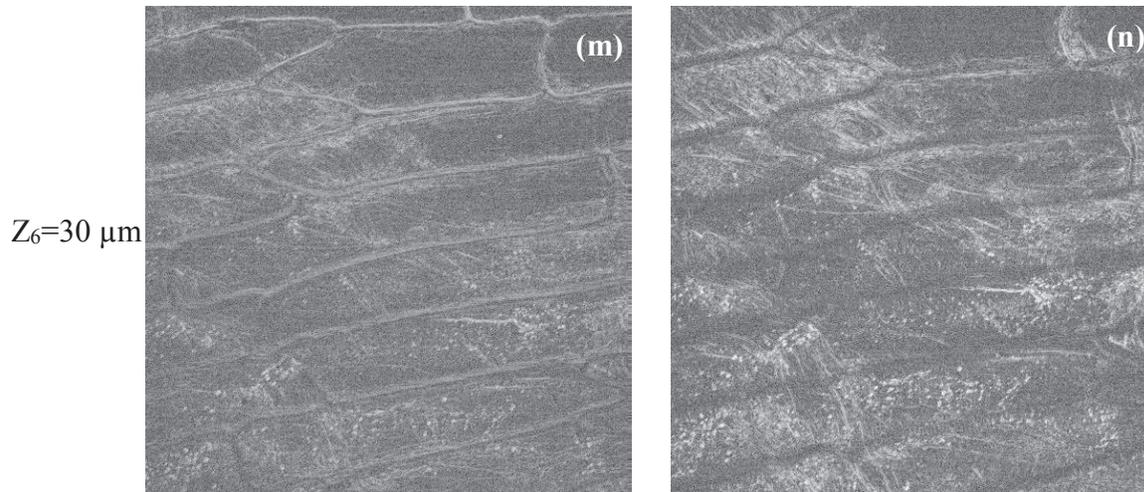


Figure 4.6. Coupes tomographiques 2D *en face* obtenues par OCT plein champ sensible à la polarisation. De gauche à droite, les couples d'images acquises d'intensité et de biréfringence respectivement sur les deux caméras CMOS₁ et CMOS₂ d'un morceau oignon, sur 30 μm par un déplacement axial du moteur par pas de 5 μm . Chaque image est codée sur 2^{12} niveaux de gris, champ de vue 681x 681 μm .

Chapitre 5. Discussion générale

Dans cette section, nous allons discuter les différents objectifs annoncés au début du travail en ce qui concerne la conception mécanique, les performances du système, sa capacité à imager un tissu biologique ainsi que les difficultés rencontrées et les solutions envisagées.

5.1 Conception d'un OCT plein champ sensible à la polarisation

Au début de la conception du système, et dans le but de maintenir l'eau entre l'objectif et le miroir de référence, nous avons utilisé une pièce à angle afin de maintenir la partie sur laquelle le miroir est placé dans une direction parallèle au bras d'échantillon. Par contre, il fallait dans cette configuration allonger le bras de référence pour pouvoir mettre les deux bras presque à la même longueur. Ceci pose problème lorsqu'il s'agit de combiner notre système de microscopie au système de tranchage où il faut mettre un bac d'eau en dessous du bras d'échantillon, ce qui est difficile avec un long bras d'échantillon. Alors, la solution proposée fut soit de déposer le système sur des poteaux plus longs, ce qui permet d'enlever le bras d'échantillon et d'avoir plus d'espace entre le bac d'eau et l'objectif du côté bras d'échantillon, ou tout simplement de concevoir, comme c'était le cas, un petit réservoir d'eau en plastique, tel qu'expliqué dans la partie de la conception mécanique, tout en gardant la même longueur pour les deux bras.

Une autre difficulté rencontrée lors de la conception du dispositif est celle de pouvoir mettre les deux bras d'interféromètre à une différence de marche inférieure à la longueur de cohérence $l_c \sim 3,4 \mu\text{m}$ en présence du miroir ($l_c = 2RA$ [89, 114]) afin d'acquérir le signal d'interférence. Une condition difficile à atteindre avec les métriques de mesures existantes qui ne donnent qu'une précision de l'ordre de millimètres. Pour cette raison, nous avons essayé de concevoir les deux bras avec les mêmes composantes ; cependant, en raison des défauts de construction, les mêmes pièces n'ont pas tout à fait les mêmes dimensions. La solution retenue fut de maintenir la longueur de bras d'échantillon fixe et de réajuster manuellement le bras de référence tel qu'expliqué dans la procédure d'acquisition de l'interférogramme, ce qui constitue

un avantage pour la configuration Linnik qui permet un réglage individuel des deux bras de l'interféromètre.

Lors de la mise en marche du système, un désalignement a été constaté tel qu'expliqué dans la section 4.1. La solution retenue fut de faire un réalignement qui consiste à un réglage d'angle entre les deux bras de l'interféromètre, tout en supposant que le bras d'échantillon est parfaitement aligné. En fait, le but était surtout d'aligner adéquatement le bras de référence, afin de compenser toute perte de signal causée par un désalignement en présence de l'échantillon. Nous ne sommes pas arrivés à satisfaire la condition parfaite d'alignement du système où il devrait avoir au final une seule frange uniforme sur l'image marquant une superposition de plus d'onde. Une solution future pour améliorer l'alignement est de soustraire le signal provenant du bras d'échantillon, de projeter la lumière provenant du miroir de référence à l'infini et de s'assurer que l'alignement du faisceau directement.

Une instabilité des franges interférométriques a été observée sur l'image finale en temps réel qui induit une variation du contraste. D'abord, nous avons pensé que l'agitation des molécules d'eau dans le bras d'échantillon peut être à l'origine de cette fluctuation. Afin de vérifier cette hypothèse, une acquisition du signal interférométrique a été effectuée sans eau dans les deux bras, mais on distingue toujours une instabilité des images. Cependant, même si cette solution avait résolu le problème, il n'aurait pas été possible de travailler sans eau, car ceci aurait diminué la résolution axiale du système par un facteur de $\frac{3}{4}$ et aurait créé plus de dispersion entre les deux bras de l'interféromètre en présence d'un échantillon. Donc, nous avons pensé à la présence d'autres sources de fluctuation d'image. En effet, ce dernier est peut-être dû à l'existence de vibrations mécaniques extrinsèques ou intrinsèques qui affectent l'instabilité et la reproductibilité du système. En fait, les vibrations induisent une variation d'intensité et de phase périodique du signal interférométrique dû au changement de différence de marche entre les deux bras de l'interféromètre, faisant varier le contraste de l'image et induisant par conséquent un signal parasite qui s'ajoute au signal interférométrique original. Ceci peut entraîner une erreur de phase et amener à une interprétation erronée des résultats. Étant donné que le système a été placé au début sur une table métrique sans coussin d'air de Newport, nous avons pensé que cette instabilité pourrait être causée par des vibrations transmises continuellement du sol. Pour cette raison, nous avons déplacé le dispositif sur une table optique à coussin d'air (Nexus, de 1.5 m par 3 m) dans le but d'atténuer ces vibrations mécaniques. Par contre, le problème a persisté, ce

qui peut mettre le fonctionnement de la table en cause et nous a laissé penser d'autres la présence d'autres sources de vibrations. Puis, en examinant encore une fois le dispositif, nous nous sommes rendu compte que la source d'illumination émettait des vibrations mécaniques, particulièrement le système de ventilation. Par contre, une isolation de la source du système n'a pas résolu le problème, ce qui nous a amené à conclure que ces vibrations sont transmises essentiellement à travers la fibre optique, couplée au système, qui fait vibrer légèrement le bras d'échantillon, un peu moins stable que celui de référence. Une première solution proposée est de changer la source d'illumination par une autre source sans vibration, par exemple, une combinaison des diodes LED, mais cela risque de diminuer la résolution axiale par rapport à celle obtenue avec une lampe halogène [69]. La solution la plus simple et la moins coûteuse est de découpler la fibre optique de la source d'illumination. Pour ce faire, il suffit de construire un support qui tient la fibre et de placer des coupleurs entre la source et la fibre afin d'assurer une illumination adéquate du système. Des supports peuvent également être installés afin de mieux stabiliser le bras d'échantillon.

D'autre part, nous nous sommes demandés si l'oscillation du miroir de la référence influe aussi sur l'instabilité des images. Pour vérifier que c'est le cas, nous avons varié le déplacement du miroir de référence dans un sens croissant, puis nous avons caractérisé l'effet directement sur l'image en temps réel. Une augmentation de la vitesse de déplacement du miroir de référence augmente proportionnellement la fréquence du battement du signal interférométrique, induisant ainsi une dégradation graduelle du contraste. Toutefois, l'effet est minime sur le signal, puisque le déplacement du miroir est de l'ordre de quelques nanomètres. Un effet similaire est rapporté dans les travaux de Sachet, 2010, où une dégradation légère du contraste a été observée en OCT plein champ à décalage de phase. Ceci peut être expliqué par les modifications de la phase du signal induites durant l'intégration des images, ce qui confirme notre constatation. Pour cette raison, il est important de s'assurer de la stabilité temporelle de la source afin de garder constant le flux envoyé sur l'objet entre les acquisitions [69]. Des fluctuations de phase du signal similaires ont été rapportées en OCT dynamique, causées essentiellement par des mouvements de l'échantillon [115] et/ ou des galvanomètres et des vibrations environnementales. Des algorithmes de correction globale de phase ont été appliqués [115], dont on peut s'inspirer pour corriger l'effet des fluctuations du signal.

Cette instabilité d'image pose surtout un problème au niveau de la sauvegarde des images en raison de la variabilité du contraste. Afin de remédier à ce problème, nous avons accumulé une pile d'images par profondeur, puis avons procédé à une sélection de l'image qui présentait le contraste le plus haut. Au début, la sauvegarde manuelle des images était lente, puis une sauvegarde plus rapide a été accomplie par le développement d'une acquisition automatique où le nombre d'images est prédéfini par l'utilisateur dès le début de l'expérimentation.

Le logiciel est fonctionnel et facile à utiliser. Par contre, étant donné que les deux caméras sont installées sur deux ordinateurs, des améliorations devraient être apportées à la communication TCP afin de synchroniser le déclenchement des acquisitions sur les deux caméras à partir de la même l'interface graphique, ce qui permet d'accélérer et de simplifier plus le processus d'acquisition.

5.2 Performances du système

Au niveau des performances, le système offre une haute résolution axiale. La valeur expérimentale calculée dans l'eau en présence du miroir comme échantillon est $0,4 \mu\text{m}$, à peu près 4 fois plus grande que la valeur théorique prévue, $1,7 \mu\text{m}$. En effet, en OCT plein champ, la résolution axiale dépend de la longueur de cohérence de la source d'illumination, mais aussi de l'ouverture numérique de l'objectif [86]. Pour une valeur moyenne d'ouverture numérique, dans ce cas-ci, la résolution axiale est imposée par la longueur de cohérence temporelle de la source d'illumination [84] qui est inversement proportionnelle à sa largeur à mi-hauteur du spectre. L'emploi d'une source d'illumination (lampe d'halogène-quartz) de spectre large, $\Delta\lambda=300 \text{ nm}$, a permis d'atteindre une haute résolution axiale, similaire à celle obtenue avec les sources laser femtoseconde (par exemple, Laser Ti: Saphir [69]). Elle est 5 à 10 fois plus haute que celle obtenue par les diodes superluminescentes [84], avec un coût considérablement faible. La différence entre la valeur théorique et celle expérimentale peut s'expliquer par l'existence d'un écart de dispersion entre les deux bras d'interférence [84, 89], qui peut-être dû à des défauts minimes de constructions des objectifs. Par contre, Blandine *et coll.* ont rapporté le même effet de dispersion en l'absence d'objectifs dans les deux bras, ce qui montre que cette dysmétrie n'est pas causée essentiellement par une différence entre les objectifs, mais plutôt par les caractéristiques intrinsèques de l'optique, particulièrement du revêtement diélectrique de la lame séparatrice [84]. En plus, ce décalage peut s'expliquer par l'existence des aberrations

optiques des objectifs [89], notamment une légère courbure du champ observée sur la Fig 4.1 de l'interférogramme. Le choix d'une grande distance entre l'objective et les caméras de 300 mm a permis de minimiser les aberrations [69].

La résolution latérale est imposée par l'ouverture numérique de l'objectif. Une résolution expérimentale est obtenue dans l'eau est $2,6 \mu\text{m}$ pour une ouverture numérique de 0.3, deux fois plus large que celle prévue théoriquement, $1,19 \mu\text{m}$. Toutefois, la résolution transverse expérimentale est considérablement haute par rapport à celle obtenue en OCT conventionnelle, plus précisément de 10 à 20 fois plus large [69]. En fait, les systèmes OCT conventionnels produisent des images tomographiques en coupe axiale (XZ) par balayage de faisceau dans une seule direction transverse, direction dans laquelle des objectifs de faibles ouvertures numériques ont été utilisés afin d'augmenter la profondeur de champ, ce qui limite la résolution latérale. Par la production des images *en face* (XY) en OCT plein champ, il est possible d'employer des objectifs de grande ouverture numérique et de s'affranchir de la dépendance axiale [89]. Par contre, l'emploi d'objectifs d'une grande ON entraîne la formation de plus d'aberrations [69]. Ceci justifie notre choix s'est porté sur l'emploi d'une ON moyenne afin de garder la résolution transverse et minimiser les aberrations. Similaire à la résolution axiale, la dégradation entre la mesure prévue théorique et pratique est peut-être due à l'existence des aberrations optiques [69, 86].

Le signal sur bruit mesuré en présence du miroir dans le bras d'échantillon est de 57 dB. En effet, le RSB varie proportionnellement avec la capacité de charge des caméras [69], relativement haute dans ce cas-ci : 200 K électrons. Il varie également en fonction de la réflectivité du miroir, à la puissance provenant de l'échantillon et inversement proportionnelle à la largeur de la bande de détection [62, 110]. On s'attend à une valeur d'RSB plus haute que celle obtenue en raison de la haute réflectivité du miroir, de la puissance du signal ainsi que de la large bande de détection employée, qui varie proportionnellement avec la largeur à mi-hauteur du spectre de la source d'illumination [116]. Toutefois, la valeur obtenue peut être expliquée par le fait que l'RSB est limité par l'efficacité quantique, qui est proportionnelle à la réponse des caméras [110], dans ce cas-ci 0.25 pour $\lambda_0=750 \text{ nm}$. Une accumulation du nombre d'images tomographiques permet d'augmenter la capacité de charge totale des caméras et d'atteindre un signal interférométrique plus haut [89]. Toutefois, il faudrait prendre en considération que l'accumulation d'un grand nombre d'images ralentit le processus

d'acquisition et demande plus d'espace de stockage lorsqu'il s'agit d'imager un volume entier d'un échantillon biologique.

L'acquisition instantanée des images *en face* présente l'avantage de se débarrasser de balayage du faisceau dans une seule direction, ce qui permet d'accéder à plus de détails qu'en coupe axiale [117]. Cependant, ceci demande un temps d'acquisition plus long par le fait que l'acquisition d'une image complète dans les techniques à balayage égale au temps d'acquisition d'un seul pixel en OCT plein champ [68, 118]. En revanche, l'acquisition de quatre images interférométriques par la méthode de décalage de phase ralentit le processus d'acquisition. La vitesse d'acquisition des images tomographiques dépend également de la fréquence du travail des caméras [69, 119] et du nombre d'accumulations [69]. Une acquisition plus rapide est recommandée en imagerie *in vivo* afin de figer les mouvements d'échantillon en mouvement [120], ce qui n'est pas le cas ici. Toutefois, il est important d'avoir un temps d'acquisition plus court lorsqu'il s'agit de coupler le dispositif à un système de coupe automatisé pour permettre l'étude à grande échelle d'un nombre de tissus *ex vivo*, dans le cas d'imagerie des cerveaux de souris au complet, qui demande un temps d'acquisition très long de l'ordre de quelques heures pour un seul volume. Un temps d'acquisition plus court peut être obtenu par l'emploi de sources d'illumination impulsionnelle, comme une lampe à arc xénon de durée d'impulsion 10 μ s, sans compromettre la résolution axiale de 0,9 μ m [120]. Des caméras CMOS plus rapides peuvent être également employées, avec une fréquence de travail qui peut aller jusqu'à 500 Hz [119, 121], mais cela implique une plage dynamique plus faible.

5.3 Imagerie d'un échantillon biologique

En travaillant avec des échantillons biologiques, il est important de les fixer afin d'éviter toute perte du contraste causé par son flottement dans l'eau, ainsi que de garder la même zone à imager afin d'assurer plus de correspondance entre les caméras. Toutefois, un léger décalage entre les couples d'images tomographiques a été remarqué. Ceci est peut-être causé par des mouvements légers de l'échantillon sous l'effet des vibrations et/ou d'un désalignement. Afin de nous assurer s'il s'agit de l'effet des vibrations, nous avons enregistré à la même profondeur sur une seule caméra des images tomographiques, mais nous n'avons pas remarqué ce décalage, ce qui nous laisse rejeter l'hypothèse d'une telle déviation de l'échantillon par les vibrations.

Une instabilité des images tomographiques a été également observée en présence de l'échantillon. Ceci induit une altération légère du contraste, mais plus significative qu'en présence du miroir en raison de sa faible réflectivité (~2%) par rapport à celle du miroir (réflectivité ~98%). Toutefois, des images tests de très haut contraste ont été acquises, mais une fois qu'on change la position de l'échantillon, le contraste change de même, ce qui montre, ce qui montre qu'il existe une position privilégiée où le contraste sera plus haut. Ceci peut-être expliqué par l'existence d'un désalignement tel qu'indiqué auparavant ; il y a donc moins de signaux provenant de l'échantillon, ce qui réduit ainsi l'intensité du signal interférométrique, et le contraste par conséquent, et rend parfois l'imagerie difficile. En fait, l'échantillon biologique est composé de différentes structures qui rendent sa surface hétérogène, contrairement à un miroir qui présente une surface plane, facilitant leur positionnement dans une direction perpendiculaire à l'axe optique et maximisant ainsi l'intensité. Ceci se corrige par un alignement adéquat du système qui compense toute perte causée par l'hétérogénéité de l'échantillon biologique. La réflectivité du miroir de référence est adaptée à la réflectivité de l'échantillon biologique afin de maximiser le contraste [69].

Le signal dépend également de la quantité de lumière incohérente, qui est minimale en présence du miroir et qui provient principalement des structures de l'échantillon biologique situées en dehors du volume de cohérence [89], ou encore des réflexions des composantes constituant le système microscopique [86]. Ceux-ci ne contribuent pas au signal interférométrique, mais entraînent une dégradation du contraste [89]. Pour cette raison, notre choix s'est porté sur des composantes optiques dotées pour la plupart d'un revêtement antireflet afin de minimiser la portion des réflexions parasites, ainsi que l'utilisation des mêmes objectifs à immersion d'eau dans les deux bras de l'interféromètre permet de réduire les réflexions spéculaires formées à la surface de l'objet [89]. La méthode de décalage de phase a permis également de s'affranchir de la composante incohérente du signal et de n'extraire seulement que la partie utile [69, 89].

Étant donné que les tissus biologiques sont constitués majoritairement d'eau [69, 89], l'emploi des objectifs identiques dans les bras de l'interféromètre offre l'avantage de réduire l'effet de dispersion et de préserver la résolution axiale à certaines profondeurs [69, 84, 119]. Par contre, cet effet reste inévitable en raison de l'inhomogénéité de l'échantillon, où les couches présentent différents indices de réfraction, causant une altération de la résolution axiale à certaines

profondeurs. De plus, les diffusions multiples en profondeur entraînent la formation du bruit Speckle qui dégrade la résolution [89]. C'est pourquoi nous avons choisi de faire l'imagerie dans une plage spectrale dans le proche IR (600-900 nm) sur un tissu biologique semi-transparent afin de privilégier une transmission maximale du signal, dans lequel la diffusion est minimale [69]. Toutefois, il y avait quand même la formation du Speckle sur les images tomographiques, entraînant une légère dégradation de la résolution spatiale. L'application des filtres sur les images *en face* peut réduire le bruit tel que le filtre médian, le filtre de Wiener, le filtre de gauss [89] ou encore le filtrage dans le domaine de la transformée d'ondelettes [45]. Des contrastes supplémentaires ont été révélés sur l'image de polarisation qui n'ont pas été perceptibles sur l'image d'intensité, ce qui montre la complémentarité de cette technique à l'OCT conventionnelle. Toutefois, il est désormais important de valider la technique sur des tissus biologiques bien connus par leurs biréfringences ex. les muscles d'une queue de crevette [106], qui sont constituées de collagène, un matériau biréfringent très abondant dans la plupart des tissus biologiques [122].

Chapitre 6. Conclusion générale

Dans ce mémoire, nous avons conçu un système d'imagerie microscopique combiné à l'OCT plein champ sensible à la polarisation dans le but de développer une technique d'imagerie microscopique qui permet de caractériser les changements de la connectivité et de structure des fibres nerveuses de la matière blanche. En effet, les fibres sont orientées sous différents angles ce qui rend le contraste dépendant de l'orientation des fibres par rapport à la lumière incidente. Celles qui sont placées perpendiculairement à l'axe optique apparaissent en hypo-intensité dans l'image d'intensité en OCT conventionnelle.

6.1 Réflexion sur les difficultés rencontrées

Le système développé a suivi un design de littérature, mais on a découvert plusieurs difficultés en cours de route. En effet, une instabilité des images tomographiques en temps réel, a été détectée, ce qui entraîne une variation périodique du signal interférométrique. Ceci peut être dû à des vibrations mécaniques produites en particulier par la source d'illumination modifiant la différence de marche entre les deux bras d'interféromètre. En revanche, la modulation de la phase par le déplacement du miroir de référence, contribue également aux fluctuations du signal, mais cet effet reste inévitable. Certaines solutions matérielles ont été proposées afin de remédier à ce problème, telles que la solidification du bras d'échantillon et le découplage de la source du système. L'acquisition des images et le contrôle du dispositif s'effectuent à partir d'une interface graphique. Par contre, le code nécessite une amélioration quant à la synchronisation d'acquisition des images sur les deux caméras, qui doit être à partir de la même interface graphique.

La caractérisation des performances du système révèle une très haute résolution spatiale. Toutefois, elle est légèrement inférieure à celle prévue théoriquement, ce décalage est peut-être dû essentiellement à l'existence des aberrations optiques des objectifs.

Le fonctionnement du système a été validé sur un matériau biréfringent et sur un tissu biologique tel qu'un morceau d'oignon. Des contrastes additionnels ont été apparus sur l'image de birefringence, et ceci, sans utilisation du produit de contraste, ce qui en fait une technique potentielle pour étudier les changements structurels des tissus biologiques et d'identifier toute

réduction de la biréfringence en réponse à des dommages de tissu [123]. Par contre, la qualité des images obtenues est moins bonne à celle attendue malgré toutes les précautions prises (ex. le choix de la plage spectrale dans le proche IR, les composantes antireflets, objectifs identiques dans les deux bras, etc.) pour maximiser le signal. Une réduction des vibrations mécaniques ainsi qu'un réaligement plus adéquat du faisceau lumineux peuvent améliorer davantage la qualité des images tomographiques.

6.2 Directions futures

Des mesures futures de précision du système, en particulier, de retard de phase devraient être réalisées lors de la conception, et ceci à l'aide d'un compensateur de Babinet placé dans le bras d'échantillon [106, 124]. Le dispositif peut être intégré par la suite à un système de coupe automatisé pour permettre l'imagerie sérielle d'une grande section des tissus. Des nouveaux contrastes peuvent être extraits à partir des données obtenues tels que l'image en *face* de réflectivité, d'angle de retard de phase, d'orientation de l'axe optique [124, 125]. En plus, la biréfringence peut non seulement être visualisée, mais elle peut être aussi quantifiée à partir de la variation de retard de phase en profondeur [45, 56]. En revanche, une reconstruction d'un volume 3D à partir d'une pile d'images en profondeur est recommandée afin d'obtenir une vue d'ensemble de la structure du tissu.

De nombreux travaux ont été menés en OCT plein champ et polarisé, par contre, à notre connaissance, il n'y a plus d'applications biomédicales rapportées qui combinent à la fois l'OCT plein champ et son extension polarisée. Notre système de microscopie est une technique *non invasive* qui répond à un besoin de recherche en démence cognitive, en particulier, la maladie d'Alzheimer associée à des changements structurels de la matière blanche tel qu'énoncé comme objectif principal.

Bibliographie

- [1] Hildebrand C, Remahl S, Persson H, Bjartmar C. Myelinated nerve fibres in the CNS. *Prog Neurobiol.* 1993;40(3):319-84. Epub 1993/03/01.
- [2] Fields RD. Change in the brain's white matter. *Science.* 2010;330(6005):768-9.
- [3] Laule C, Vavasour IM, Kolind SH, Li DK, Traboulsee TL, Moore GR, et al. Magnetic resonance imaging of myelin. *Neurotherapeutics.* 2007;4(3):460-84. Epub 2007/06/30.
- [4] Attwell D, Buchan AM, Charpak S, Lauritzen M, MacVicar BA, Newman EA. Glial and neuronal control of brain blood flow. *Nature.* 2010;468(7321):232-43.
- [5] Targosz-Gajniak M, Siuda J, Ochudło S, Opala G. Cerebral white matter lesions in patients with dementia—from MCI to severe Alzheimer's disease. *J Neurol Sci.* 2009;283(1):79-82.
- [6] Prins ND, van Dijk EJ, den Heijer T, Vermeer SE, Koudstaal PJ, Oudkerk M, et al. Cerebral white matter lesions and the risk of dementia. *Arch Neurol.* 2004;61(10):1531-4. Epub 2004/10/13.
- [7] Ouldred E, Bryant C. Vascular risk factors and dementia. *British Journal of Cardiac Nursing.* 2010;5(5).
- [8] Adlard PA, Tran BA, Finkelstein DI, Desmond PM, Johnston LA, Bush AI, et al. A review of β -amyloid neuroimaging in Alzheimer's disease. *Front Neurosci.* 2014;8:327.
- [9] Kohama SG, Rosene DL, Sherman LS. Age-related changes in human and non-human primate white matter: from myelination disturbances to cognitive decline. *Age.* 2012;34(5):1093-110.
- [10] Vemuri P, Jack CR. Role of structural MRI in Alzheimer's disease. *Alzheimers Res Ther.* 2010;2(4):1.
- [11] De Leeuw F, de Groot JC, Achten E, Oudkerk M, Ramos L, Heijboer R, et al. Prevalence of cerebral white matter lesions in elderly people: a population based magnetic resonance imaging study. The Rotterdam Scan Study. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 2001;70(1):9-14.
- [12] Rose SE, Chen F, Chalk JB, Zelaya FO, Strugnell WE, Benson M, et al. Loss of connectivity in Alzheimer's disease: an evaluation of white matter tract integrity with colour coded MR diffusion tensor imaging. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 2000;69(4):528-30. Epub 2000/09/16.
- [13] Stricker NH, Schweinsburg B, Delano-Wood L, Wierenga CE, Bangen KJ, Haaland K, et al. Decreased white matter integrity in late-myelinating fiber pathways in Alzheimer's disease supports retrogenesis. *Neuroimage.* 2009;45(1):10-6.

- [14] Barber R, Scheltens P, Gholkar A, Ballard C, McKeith I, Ince P, et al. White matter lesions on magnetic resonance imaging in dementia with Lewy bodies, Alzheimer's disease, vascular dementia, and normal aging. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 1999;67(1):66-72.
- [15] Duron E, Hanon O. Vascular risk factors, cognitive decline, and dementia. *Vascular Health and Risk Management*. 2008;4(2):363.
- [16] Song S-K, Kim JH, Lin S-J, Brendza RP, Holtzman DM. Diffusion tensor imaging detects age-dependent white matter changes in a transgenic mouse model with amyloid deposition. *Neurobiol Dis*. 2004;15(3):640-7.
- [17] Sturchler-Pierrat C, Abramowski D, Duke M, Wiederhold K-H, Mistl C, Rothacher S, et al. Two amyloid precursor protein transgenic mouse models with Alzheimer disease-like pathology. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 1997;94(24):13287-92.
- [18] Redwine JM, Kosofsky B, Jacobs RE, Games D, Reilly JF, Morrison JH, et al. Dentate gyrus volume is reduced before onset of plaque formation in PDAPP mice: a magnetic resonance microscopy and stereologic analysis. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2003;100(3):1381-6.
- [19] Sun S-W, Song S-K, Harms MP, Lin S-J, Holtzman DM, Merchant KM, et al. Detection of age-dependent brain injury in a mouse model of brain amyloidosis associated with Alzheimer's disease using magnetic resonance diffusion tensor imaging. *Exp Neurol*. 2005;191(1):77-85.
- [20] Wirths O, Weis J, Kaye R, Saito TC, Bayer TA. Age-dependent axonal degeneration in an Alzheimer mouse model. *Neurobiol Aging*. 2007;28(11):1689-99.
- [21] Viswanathan A, Rocca WA, Tzourio C. Vascular risk factors and dementia How to move forward? *Neurology*. 2009;72(4):368-74.
- [22] Tzourio C, Laurent S, Debette S. Is hypertension associated with an accelerated aging of the brain? *Hypertension*. 2014;63(5):894-903.
- [23] Iadecola C, Davisson RL. Hypertension and cerebrovascular dysfunction. *Cell Metab*. 2008;7(6):476-84.
- [24] Dartigues J-F, Berr C, Helmer C, Letenneur L. Épidémiologie de la maladie d'Alzheimer. *M/S Revues: Articles de Synthèse*. 2002.
- [25] Kennelly SP, Lawlor BA, Kenny RA. Blood pressure and dementia-a comprehensive review. *Ther Adv Neurol Disord*. 2009.
- [26] Skoog I, Nilsson L, Persson G, Lernfelt B, Landahl S, Palmertz B, et al. 15-year longitudinal study of blood pressure and dementia. *The Lancet*. 1996;347(9009):1141-5.

- [27] de la Torre JC. Cardiovascular risk factors promote brain hypoperfusion leading to cognitive decline and dementia. *Cardiovasc Psychiatry Neurol.* 2012;2012.
- [28] Nakaji K, Ihara M, Takahashi C, Itohara S, Noda M, Takahashi R, et al. Matrix metalloproteinase-2 plays a critical role in the pathogenesis of white matter lesions after chronic cerebral hypoperfusion in rodents. *Stroke.* 2006;37(11):2816-23. Epub 2006/09/30.
- [29] Hamann GF, Okada Y, Fitridge R, Del Zoppo GJ. Microvascular basal lamina antigens disappear during cerebral ischemia and reperfusion. *Stroke.* 1995;26(11):2120-6.
- [30] Guerreschi E. Contribution à l'Appréhension du Système Cardiovasculaire Modélisation et Traitement de Signaux issus de la Macrocirculation et de la Microcirculation sanguines: Université d'Angers; 2013.
- [31] Dharmashankar K, Widlansky ME. Vascular endothelial function and hypertension: insights and directions. *Curr Hypertens Rep.* 2010;12(6):448-55.
- [32] Perticone F, Ceravolo R, Pujia A, Ventura G, Iacopino S, Scozzafava A, et al. Prognostic significance of endothelial dysfunction in hypertensive patients. *Circulation.* 2001;104(2):191-6.
- [33] Girouard H, Iadecola C. Neurovascular coupling in the normal brain and in hypertension, stroke, and Alzheimer disease. *J Appl Physiol.* 2006;100(1):328-35.
- [34] Arora P, Arora A, Sharma S. Vascular Endothelium Dysfunction and Hypertension: Insight on Molecular Basics.
- [35] Bolduc V, Thorin-Trescases N, Thorin E. Endothelium-dependent control of cerebrovascular functions through age: exercise for healthy cerebrovascular aging. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2013;305(5):H620-33. Epub 2013/06/25.
- [36] Faraci FM. Protecting against vascular disease in brain. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology.* 2011;300(5):H1566-H82.
- [37] Zerbi V, Kleinnijenhuis M, Fang X, Jansen D, Veltien A, Van Asten J, et al. Gray and white matter degeneration revealed by diffusion in an Alzheimer mouse model. *Neurobiol Aging.* 2013;34(5):1440-50. Epub 2013/01/01.
- [38] de Leeuw FE, de Groot JC, Oudkerk M, Witteman J, Hofman A, Van Gijn J, et al. Hypertension and cerebral white matter lesions in a prospective cohort study. *Brain.* 2002;125(4):765-72.
- [39] van Dijk EJ, Breteler MM, Schmidt R, Berger K, Nilsson L-G, Oudkerk M, et al. The association between blood pressure, hypertension, and cerebral white matter lesions cardiovascular determinants of dementia study. *Hypertension.* 2004;44(5):625-30.

- [40] Liao D, Cooper L, Cai J, Toole JF, Bryan NR, Hutchinson RG, et al. Presence and severity of cerebral white matter lesions and hypertension, its treatment, and its control The ARIC study. *Stroke*. 1996;27(12):2262-70.
- [41] Bennett IJ, Madden DJ. Disconnected aging: cerebral white matter integrity and age-related differences in cognition. *Neuroscience*. 2014;276:187-205.
- [42] Beaulieu C. The basis of anisotropic water diffusion in the nervous system - a technical review. *NMR Biomed*. 2002;15(7-8):435-55. Epub 2002/12/19.
- [43] Madden DJ, Bennett IJ, Burzynska A, Potter GG, Chen N-k, Song AW. Diffusion tensor imaging of cerebral white matter integrity in cognitive aging. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease*. 2012;1822(3):386-400.
- [44] Assaf Y, Pasternak O. Diffusion tensor imaging (DTI)-based white matter mapping in brain research: a review. *J Mol Neurosci*. 2008;34(1):51-61.
- [45] Wang H, Black AJ, Zhu J, Stigen TW, Al-Qaisi MK, Netoff TI, et al. Reconstructing micrometer-scale fiber pathways in the brain: multi-contrast optical coherence tomography based tractography. *Neuroimage*. 2011;58(4):984-92.
- [46] Axer M, Axer H, Grassel D, Amunts K, Zilles K, Pietrzyk U, rédacteurs. Nerve fiber mapping of the human visual cortex using Polarized Light Imaging (PLI). 2007 IEEE Nuclear Science Symposium Conference Record; 2007: IEEE.
- [47] Larsen L, Griffin LD, GRäbel D, Witte OW, Axer H. Polarized light imaging of white matter architecture. *Microsc Res Tech*. 2007;70(10):851-63.
- [48] Axer M, Prescher A, Witte OW. Microstructural analysis of human white matter architecture using polarized light imaging: views from. *Mapping the connectome: Multi-level analysis of brain connectivity*. 2011.
- [49] Conturo TE, Lori NF, Cull TS, Akbudak E, Snyder AZ, Shimony JS, et al. Tracking neuronal fiber pathways in the living human brain. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 1999;96(18):10422-7.
- [50] Harsan LA, Poulet P, Guignard B, Steibel J, Parizel N, Loureiro de Sousa P, et al. Brain dysmyelination and recovery assessment by noninvasive in vivo diffusion tensor magnetic resonance imaging. *J Neurosci Res*. 2006;83(3):392-402.
- [51] Jeon SW, Shure MA, Baker KB, Huang D, Rollins AM, Chahlavi A, et al. A feasibility study of optical coherence tomography for guiding deep brain probes. *J Neurosci Methods*. 2006;154(1):96-101.
- [52] de Campos Vidal B, Mello ML, Caseiro-Filho AC, Godo C. Anisotropic properties of the myelin sheath. *Acta Histochem*. 1980;66(1):32-9. Epub 1980/01/01.

- [53] Mori S, Zhang J. Principles of diffusion tensor imaging and its applications to basic neuroscience research. *Neuron*. 2006;51(5):527-39.
- [54] Amunts K, Lepage C, Borgeat L, Mohlberg H, Dickscheid T, Rousseau M-É, et al. BigBrain: an ultrahigh-resolution 3D human brain model. *Science*. 2013;340(6139):1472-5.
- [55] Ragan T, Kadiri LR, Venkataraju KU, Bahlmann K, Sutin J, Taranda J, et al. Serial two-photon tomography for automated ex vivo mouse brain imaging. *Nature methods*. 2012;9(3):255-8.
- [56] Wang H, Zhu J, Akkin T. Serial optical coherence scanner for large-scale brain imaging at microscopic resolution. *Neuroimage*. 2014;84:1007-17.
- [57] Yonetsu T, Bouma BE, Kato K, Fujimoto JG, Jang I-K. Optical coherence tomography. *Circ J*. 2013;77(8):1933-40.
- [58] Puliafito CA, Hee MR, Lin CP, Reichel E, Schuman JS, Duker JS, et al. Imaging of macular diseases with optical coherence tomography. *Ophthalmology*. 1995;102(2):217-29.
- [59] Chan V, Perlas A. Basics of ultrasound imaging. *Atlas of ultrasound-guided procedures in interventional pain management*: Springer; 2011. p. 13-9.
- [60] Huang D, Swanson EA, Lin CP, Schuman JS, Stinson WG, Chang W, et al. Optical coherence tomography. *Science (New York, NY)*. 1991;254(5035):1178.
- [61] Wojtkowski M, Leitgeb R, Kowalczyk A, Bajraszewski T, Fercher AF. In vivo human retinal imaging by Fourier domain optical coherence tomography. *Journal of biomedical optics*. 2002;7(3):457-63.
- [62] Fujimoto JG. Optical coherence tomography. *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences-Series IV-Physics*. 2001;2(8):1099-111.
- [63] Pircher M, Hitzenberger CK, Schmidt-Erfurth U. Polarization sensitive optical coherence tomography in the human eye. *Prog Retin Eye Res*. 2011;30(6):431-51.
- [64] Fujii K, Heistad DD, Faraci FM. Flow-mediated dilatation of the basilar artery in vivo. *Circ Res*. 1991;69(3):697-705.
- [65] Youngquist RC, Carr S, Davies DE. Optical coherence-domain reflectometry: a new optical evaluation technique. *Optics Letters*. 1987;12(3):158-60.
- [66] Bennett CA. *Principles of physical optics*. Hoboken (NJ): Wiley; 2008.
- [67] Nakaji H, Kouyama N, Muragaki Y, Kawakami Y, Iseki H. Localization of nerve fiber bundles by polarization-sensitive optical coherence tomography. *J Neurosci Methods*. 2008;174(1):82-90.
- [68] Dubois A. *Tomographie par Cohérence Optique*. Paris: Université Paris-Sud; 2011.

- [69] Sacchet D. Tomographie par cohérence optique plein champ linéaire et non linéaire: Université Paris Sud-Paris XI; 2010.
- [70] Wang LV, Wu H. Biomedical Optics: Principles and Imaging. Hoboken (NJ): Wiley; 2007.
- [71] Leitgeb R, Hitzenberger C, Fercher AF. Performance of fourier domain vs. time domain optical coherence tomography. *Opt Express*. 2003;11(8):889-94.
- [72] Lexer F, Hitzenberger CK, Fercher A, Kulhavy M. Wavelength-tuning interferometry of intraocular distances. *Applied Optics*. 1997;36(25):6548-53.
- [73] Podoleanu AG. Optical coherence tomography. *The British journal of radiology*. 2014.
- [74] Leitgeb R, Wojtkowski M, Kowalczyk A, Hitzenberger C, Sticker M, Fercher A. Spectral measurement of absorption by spectroscopic frequency-domain optical coherence tomography. *Optics letters*. 2000;25(11):820-2.
- [75] Beaudette K. Tomographie par cohérence optique pour le guidage de chirurgies minimalement invasives du rachis [Mémoire]. Montréal: École polytechnique de Montréal; 2012.
- [76] Yun S, Tearney G, de Boer J, Ifimia N, Bouma B. High-speed optical frequency-domain imaging. *Opt Express*. 2003;11(22):2953-63.
- [77] Wang X, Milner T, Nelson J. Characterization of fluid flow velocity by optical Doppler tomography. *Optics letters*. 1995;20(11):1337-9.
- [78] Leitgeb RA, Schmetterer L, Drexler W, Fercher A, Zawadzki R, Bajraszewski T. Real-time assessment of retinal blood flow with ultrafast acquisition by color Doppler Fourier domain optical coherence tomography. *Opt Express*. 2003;11(23):3116-21.
- [79] Chen Z, Milner TE, Dave D, Nelson JS. Optical Doppler tomographic imaging of fluid flow velocity in highly scattering media. *Optics letters*. 1997;22(1):64-6.
- [80] Zhao Y, Chen Z, Saxer C, Xiang S, de Boer JF, Nelson JS. Phase-resolved optical coherence tomography and optical Doppler tomography for imaging blood flow in human skin with fast scanning speed and high velocity sensitivity. *Optics letters*. 2000;25(2):114-6.
- [81] Westphal V, Yazdanfar S, Rollins AM, Izatt JA. Real-time, high velocity-resolution color Doppler optical coherence tomography. *Optics Letters*. 2002;27(1):34-6.
- [82] Yang VX, Gordon ML, Mok A, Zhao Y, Chen Z, Cobbold RS, et al. Improved phase-resolved optical Doppler tomography using the Kasai velocity estimator and histogram segmentation. *Opt Commun*. 2002;208(4):209-14.

- [83] Villey R. Tomographie par cohérence optique Doppler pour l'imagerie en temps réel des écoulements rapides dans les anévrismes et sténoses. Montréal: École Polytechnique de Montréal; 2010.
- [84] Laude B, De Martino A, Drevillon B, Benattar L, Schwartz L. Full-field optical coherence tomography with thermal light. *Applied optics*. 2002;41(31):6637-45.
- [85] Akiba M, Chan K, Tanno N. Full-field optical coherence tomography by two-dimensional heterodyne detection with a pair of CCD cameras. *Optics letters*. 2003;28(10):816-8.
- [86] Dubois A, Vabre L, Boccara A-C, Beaurepaire E. High-resolution full-field optical coherence tomography with a Linnik microscope. *Applied optics*. 2002;41(4):805-12.
- [87] Beaurepaire E, Boccara AC, Lebec M, Blanchot L, Saint-Jalmes H. Full-field optical coherence microscopy. *Optics letters*. 1998;23(4):244-6.
- [88] Dubois A, Moneron G, Grieve K, Boccara A. Three-dimensional cellular-level imaging using full-field optical coherence tomography. *Phys Med Biol*. 2004;49(7):1227.
- [89] Dubois A, Grieve K, Moneron G, Lecaque R, Vabre L, Boccara C. Ultrahigh-resolution full-field optical coherence tomography. *Applied optics*. 2004;43(14):2874-83.
- [90] Kowalevicz AM, Ko T, Hartl I, Fujimoto JG, Pollnau M, Salathé RP. Ultrahigh resolution optical coherence tomography using a superluminescent light source. *Opt Express*. 2002;10(7):349-53.
- [91] Kino GS, Chim SS. Mirau correlation microscope. *Applied Optics*. 1990;29(26):3775-83.
- [92] Chim SS, Kino GS. Three-dimensional image realization in interference microscopy. *Applied optics*. 1992;31(14):2550-3.
- [93] Chim SS, Kino GS. Correlation microscope. *Optics letters*. 1990;15(10):579-81.
- [94] Dubois A. Phase-map measurements by interferometry with sinusoidal phase modulation and four integrating buckets. *JOSA A*. 2001;18(8):1972-9.
- [95] Hecht E. *Optics*. 4e éd. San Francisco (CA): Addison-Wesley; 2002.
- [96] Wang H. *Multi-contrast Optical Coherence Tomography for Brain Imaging and Mapping*: UNIVERSITY OF MINNESOTA; 2014.
- [97] Walker M. Matrix calculus and the Stokes parameters of polarized radiation. *American Journal of Physics*. 1954;22(4):170-4.
- [98] Goldstein DH. *Polarized light*. Boca Raton (FL): CRC Press; 2016.

- [99] de Boer JF. Polarization sensitive optical coherence tomography. Handbook of Coherent-Domain Optical Methods: Springer; 2013. p. 857-88.
- [100] Bickel WS, Bailey WM. Stokes vectors, Mueller matrices, and polarized scattered light. American Journal of Physics. 1985;53(5):468-78.
- [101] Jiao S, Yao G, Wang LV. Depth-resolved two-dimensional Stokes vectors of backscattered light and Mueller matrices of biological tissue measured with optical coherence tomography. Applied Optics. 2000;39(34):6318-24.
- [102] Driscoll WG, Vaughan W. Handbook of optics. New York: McGraw-Hill, 1978. 1978.
- [103] Courjon D, Bainier C. Le champ proche optique: Théorie et applications: Springer Science & Business Media; 2001.
- [104] Goulamhousen N. Laser à balayage spectral double-bande pour l'imagerie biomédicale multimodale. Montréal: École Polytechnique de Montréal; 2013.
- [105] Boas DA, Pitris C, Ramanujam N. Handbook of biomedical optics. Boca Raton (FL): CRC press; 2016.
- [106] Moneron G, Boccara A-C, Dubois A. Polarization-sensitive full-field optical coherence tomography. Optics letters. 2007;32(14):2058-60.
- [107] Mack C. Fundamental principles of optical lithography: the science of microfabrication. Hoboken (NJ): John Wiley & Sons; 2008.
- [108] Hatit SB. Polarimétrie de Mueller résolue en angle. [Thèse en ligne]. Paris: Ecole Polytechnique X; 2009. Disponible: <https://pastel.archives-ouvertes.fr/file/index/docid/501093/filename/BenHatitSami-phdthesis.pdf>
- [109] Grasel J. Exploring Frequency Domain OCT Systems. Claremont (CA): Harvey Mudd College; 2011. Disponible: <https://www.cs.hmc.edu/~jgrasel/writings/oct.pdf>
- [110] Boudoux C. Fundamentals of biomedical optics : from light interactions with cells to complex imaging systems. [s.l.]: Pollux; 2016.
- [111] Agrawal A, Pfefer TJ, Woolliams PD, Tomlins PH, Nehmetallah G. Methods to assess sensitivity of optical coherence tomography systems. Biomedical optics express. 2017;8(2):902-17.
- [112] Gérard L. Ecrans plats et vidéoprojecteurs -Principes, fonctionnement et maintenance2014.
- [113] De Boer JF, Srinivas SM, Malekafzali A, Chen Z, Nelson JS. Imaging thermally damaged tissue by polarization sensitive optical coherence tomography. Optics express. 1998;3(6):212-8.

- [114] Bordenave E, Abraham E, Jonusauskas G, Tsurumachi N, Oberle J, Rulliere C, et al. Wide-field optical coherence tomography: imaging of biological tissues. *Applied optics*. 2002;41(10):2059-64.
- [115] Lee J, Srinivasan V, Radhakrishnan H, Boas DA. Motion correction for phase-resolved dynamic optical coherence tomography imaging of rodent cerebral cortex. *Opt Express*. 2011;19(22):21258-70.
- [116] Swanson EA, Huang D, Lin C, Puliafito C, Hee M, Fujimoto J. High-speed optical coherence domain reflectometry. *Optics letters*. 1992;17(2):151-3.
- [117] Grieve K, Moneron G, Dubois A, Le Gargasson J-F, Boccara C. Ultrahigh resolution ex vivo ocular imaging using ultrashort acquisition time en face optical coherence tomography. *Journal of Optics A: Pure and Applied Optics*. 2005;7(8):368.
- [118] Dubois A, Boccara C. L'OCT plein champ. *Med Sci (Paris)*. 2006;22(10):859-64.
- [119] Grieve K, Dubois A, Simonutti M, Paques M, Sahel J, Le Gargasson JF, et al. In vivo anterior segment imaging in the rat eye with high speed white light full-field optical coherence tomography. *Opt Express*. 2005;13(16):6286-95. Epub 2005/08/08.
- [120] Moneron G, Boccara A, Dubois A. Stroboscopic ultrahigh-resolution full-field optical coherence tomography. *Optics letters*. 2005;30(11):1351-3.
- [121] Watanabe Y, Sato M. Three-dimensional wide-field optical coherence tomography using an ultrahigh-speed CMOS camera. *Opt Commun*. 2008;281(7):1889-95.
- [122] De Boer J, Srinivas S, Malekafzali A, Chen Z, Nelson J. Imaging thermally damaged tissue by polarization sensitive optical coherence tomography. *Opt Express*. 1998;3(6):212-8.
- [123] De Boer JF, Milner TE, van Gemert MJ, Nelson JS. Two-dimensional birefringence imaging in biological tissue by polarization-sensitive optical coherence tomography. *Optics letters*. 1997;22(12):934-6.
- [124] Hitzenberger CK, Götzinger E, Sticker M, Pircher M, Fercher AF. Measurement and imaging of birefringence and optic axis orientation by phase resolved polarization sensitive optical coherence tomography. *Opt Express*. 2001;9(13):780-90.
- [125] Götzinger E, Pircher M, Hitzenberger CK. High speed spectral domain polarization sensitive optical coherence tomography of the human retina. *Opt Express*. 2005;13(25):10217-29.