

SYSTÈME TOMOGRAPHIQUE POUR IMAGER LA MICROSTRUCTURE

DOCUMENT DE DESIGN
(*DESIGN DOCUMENT*)
GBM8970-P5OCT.003 v 1.0
12.10.2021






Nom	Matricule	Signature
Paul Bautin	1896287	
Arnaud Héroux	1955654	
Sophie Martin	1954552	
Sandra Parent	1909394	
Vincent St-Arnault	1958692	

TABLE DES MATIÈRES

1	Introduction	4
2	Design retenu.....	5
2.1	Structure globale	5
2.1.1	Schéma représentant les différentes étapes nécessaires au prototype	5
2.2	Description détaillée de la préparation de l'échantillon	7
2.2.1	Sélection du voxel d'intérêt	7
2.2.2	Préparation de l'échantillon pour la prise d'image	7
2.3	Description détaillée de l'acquisition des images par le dispositif rotationnel.....	9
2.4	Description détaillée de l'algorithme de reconstruction tomographique.....	13
2.5	Étude de faisabilité préliminaire du dispositif.....	16
3	Matrice de traçabilité	17
4	Designs alternatifs non-retenus	18
4.1	Préparation de l'échantillon (Moulage avec agarose)	18
4.1.1	Base de moulage en impression 3D	19
4.1.2	Parois de polyvinyle.....	19
4.1.3	Manipulations	20
4.2	Rotation de l'échantillon dans l'air ambiant	20
4.2.1	Design du dispositif rotationnel	20
5	Sommaire des designs	21

TABLE DES FIGURES

Figure 2-1. Sous-étapes des étapes de préparation, de la prise d'images et de modification des images de l'échantillon.	5
Figure 2-2. Montage utilisé pour la prise d'images de l'échantillon sur 360 degrés.	6
Figure 2-3. Image test de la localisation de l'échantillon prélevé	7
Figure 2-4. Punch à biopsie Miltex à diamètre intérieur de 1mm [1]	7
Figure 2-5. Capillaires avec diamètre intérieur de 1.1mm-1.2mm utilisés pour la fixation de la préparation de l'échantillon [2]	8
Figure 2-6. Préparation de l'échantillon de cerveau murin dans un micro capillaire	8
Figure 2-7. Table de mouvement contrôlé manuellement MLJ150 - ThorLabs MLJMLJ [4].....	10
Figure 2-8. Moteur rotationnel CR1/M-Z7 - ThorLabs	10
Figure 2-9. Adaptateur 90° A90 - ThorLabs.....	10
Figure 2-10. Pièce annexée au moteur.....	11
Figure 2-11. Roulement à billes.....	11
Figure 2-12. Emmanchement à tête hexagonale ¼”	12
Figure 2-13. Bac d'immersion.....	12
Figure 2-14. Mandrin.....	12
Figure 2-15. Arbre du design préliminaire de l'algorithme avec les différentes fonctions à utiliser.	13
Figure 2-16. Recalage des différents pixels selon la carte de propagation des rayons	14
Figure 2-17. Processus d'optimisation utilisant une boucle itérative afin d'obtenir une image avec une super-résolution [5]	15
Figure 4-1. Résultats de la solution non-retenue de moulage d'agarose. a) Cylindre d'agarose moulé, b) Base de moulage par impression 3D, c) Parois de moulage - Tube de polyvinyle pré-coupé.....	18
Figure 4-2. Images de la base de moulage d'agarose. a) Vue 3D, b) Vue de haut	19
Figure 4-3. Tuyau de polyvinyle utilisé. a) Ensemble du tuyau, b) Vue de coupe [3].....	19

TABLE DES TABLEAUX

Tableau 2-1. Estimé des achats effectués pour les tests et la solution retenue	16
Tableau 3-1. Matrice de traçabilité des spécifications fonctionnelles selon les sous-systèmes retenus.....	17

1 INTRODUCTION

Afin d'imager les enchevêtrements des neurones à une échelle inférieure à un voxel d'IRM (d'environ 1 mm), un module complémentaire à un système existant d'imagerie par tomographie en cohérence optique (OCT) pouvant procurer une résolution de l'ordre du micron est créé sous la forme d'un dispositif miniature permettant la rotation d'un échantillon, soit un cerveau de murin. La rotation de l'échantillon permet l'acquisition de multiples images sous différents angles afin de reconstruire une image isotropique résolue de la matière blanche. De plus, cette nouvelle modalité d'imagerie nommée OCT rotationnel (OCRT) permet de retirer et d'identifier la position d'un échantillon de cerveau murin de la taille d'un voxel d'IRM de diffusion afin d'effectuer le recalage de cet échantillon avec les images d'IRM.

Ce projet inclut donc un design mécanique du module de rotation pouvant s'insérer sous l'OCT existant de l'équipe du Dr. Joël Lefebvre, ainsi qu'un protocole de préparation de l'échantillon avant d'imager celui-ci. Finalement, un design préliminaire de l'algorithme de reconstruction tomographique est établi dans ce présent document. L'algorithme peut être résumé en deux principales étapes, soit la correction des distorsions par l'estimation de la carte de l'indice de réfraction et la reconstruction tomographique afin d'obtenir une seule image résolue à partir des multiples images corrigées. Les différentes étapes du projet sont soumises à différents coûts donc une étude de faisabilité préliminaire du dispositif est également présentée. Ces derniers éléments sont tous présentés dans la section 2 – Design retenu, du présent document et la section 3 - Design alternatifs non retenus, présente les éléments non retenus concernant la préparation de l'échantillon et le dispositif rotationnel.

2 DESIGN RETENU

2.1 Structure globale

Le design du processus d'imagerie d'une portion d'un voxel d'un cerveau de souris est divisé en 5 parties majeures: Découpe du cerveau de murin en tranches minces, Identification de la région à extraire d'une tranche de cerveau de murin, Extraction d'un voxel à partir de la tranche de cerveau de murin, Système permettant la rotation de l'échantillon sur 360° lors de l'acquisition d'image, Système permettant l'acquisition d'images du cerveau et Système permettant la reconstruction de l'image du cerveau en trois dimensions.

2.1.1 Schéma représentant les différentes étapes nécessaires au prototype

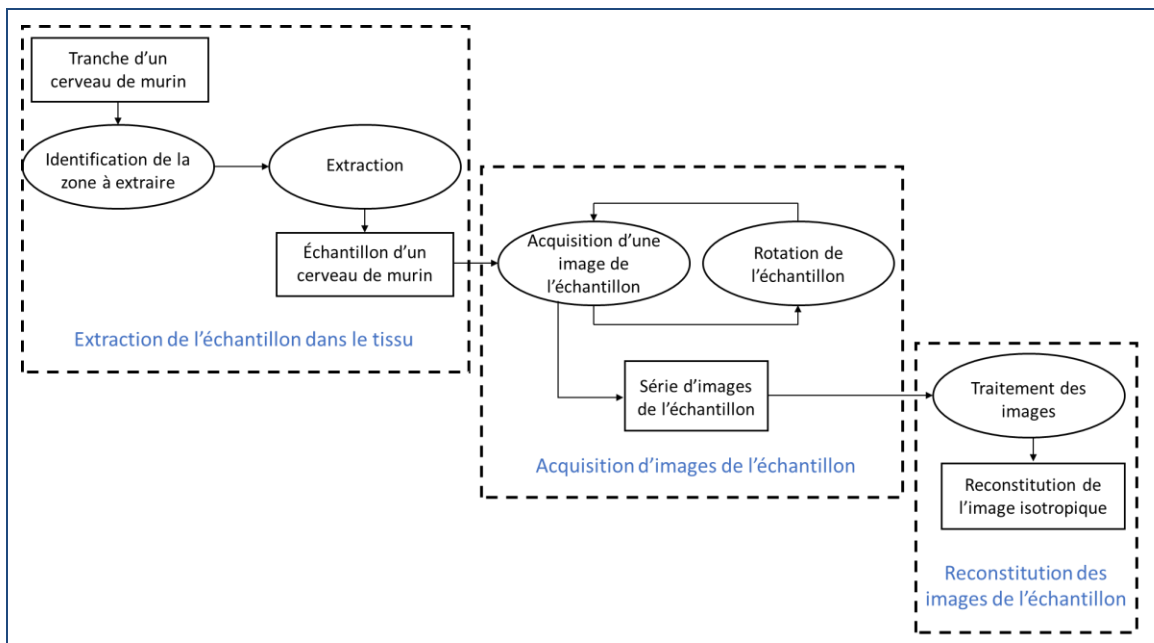


Figure 2-1. Sous-étapes des étapes de préparation, de la prise d'images et de modification des images de l'échantillon.

La **Figure 2-1** représente les étapes générales qui doivent être accomplies progressivement afin d'obtenir une image résolue isotropique de la matière blanche d'un échantillon de la taille d'un voxel d'IRM. L'échantillon provient d'un cerveau de murin, où l'extraction débute par une coupe en tranches minces. Sur l'une des tranches, une région d'intérêt est identifiée puis une portion du tissu est extraite sans endommager l'intégrité des fibres de l'échantillon.

L'échantillon est ensuite déposé dans un microcapillaire transparent qui s'insère dans un dispositif rotationnel permettant la prise de plusieurs images à différents angles sur 360 degrés. Une attention particulière doit être portée à l'indice de réfraction du tube et de l'environnement du dispositif afin que ces deux derniers n'interfèrent pas sur la qualité et la résolution de l'image obtenue.

Par la suite, un post-traitement des différentes images est effectué afin de retirer les distorsions créées par les différents indices de réfraction des interfaces. Avec les images corrigées, la reconstruction tomographique de l'image finale est effectuée, ce qui permet d'obtenir une image résolue isotropique de la matière blanche d'un échantillon d'un cerveau de murin.

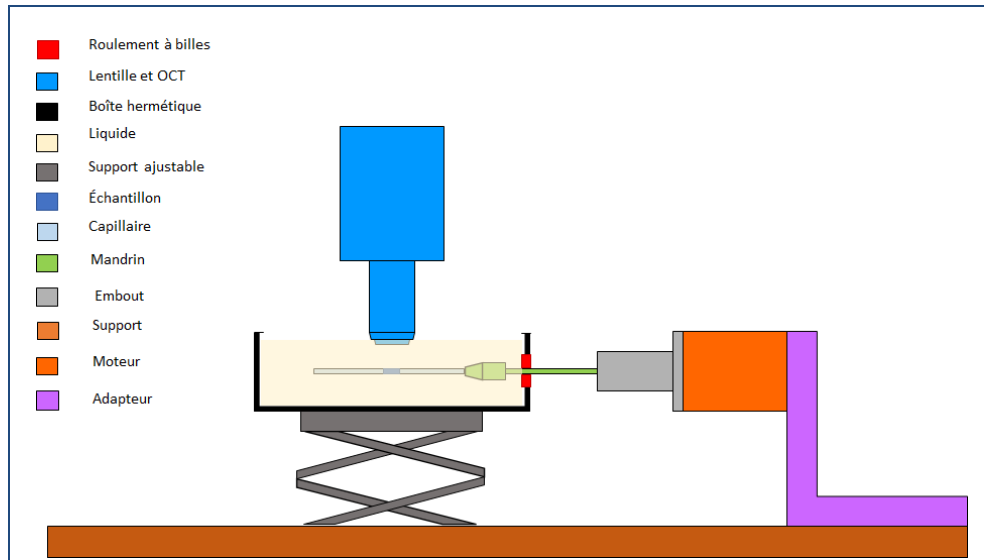


Figure 2-2. Montage utilisé pour la prise d'images de l'échantillon sur 360 degrés.

Le montage dessiné à la **Figure 2-2** montre le montage qui sera utilisé pour la prise d'images de l'échantillon. Le moteur rotationnel de *ThorLabs* est fixé à un adaptateur qui est, lui-même, fixé à la table de travail afin d'avoir un montage qui est stable et constant durant la prise de mesures. Le capillaire contenant l'échantillon est fixé à un mandrin dont une partie se trouve dans l'huile et l'autre dans l'air. La partie du mandrin se situant dans l'air est fixé à un embout fabriqué sur mesure. Cet embout permet la rotation du mandrin par le moteur. Le liquide est contenu dans une boîte hermétique ouverte permettant à l'objectif du microscope d'être submergé dans ce même liquide. Un système de roulement à billes est fixé sur le côté afin de permettre la rotation du mandrin et éviter que le liquide ne s'échappe. La boîte hermétique est déposée sur un support ajustable.

2.2 Description détaillée de la préparation de l'échantillon

2.2.1 Sélection du voxel d'intérêt

Le poinçonnage est réalisé dans une zone d'intérêt prédéterminée et facile à localiser. Cependant, la position exacte de l'échantillon n'est déterminée qu'après le poinçonnage. Pour récupérer la position exacte de l'échantillon une photo de la tranche poinçonner est prise (i) sans l'échantillon, (ii) perpendiculairement au plan de la tranche et (iii) sur un fond sombre pour augmenter le contraste et faciliter la segmentation (voir exemple **Figure 2-3**). L'image est ensuite segmentée pour retrouver la position de l'échantillon. Après avoir extrait l'échantillon de sa tranche il est nécessaire de le placer rapidement dans une solution liquide pour que celui-ci ne sèche pas (voir étapes de préparation de l'échantillon).

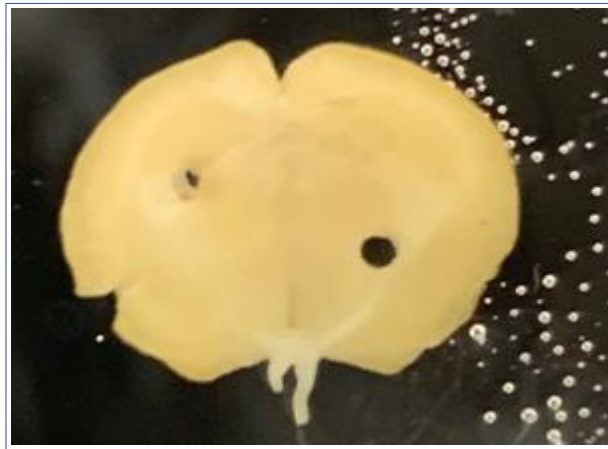


Figure 2-3. Image test de la localisation de l'échantillon prélevé

2.2.2 Préparation de l'échantillon pour la prise d'image

La solution retenue pour la préparation de l'échantillon utilise un punch à biopsie et un capillaire pour le support de l'échantillon. Le punch à biopsie Miltex de diamètre intérieur de 1mm (**Figure 2-4**) est utilisé pour prélever l'échantillon de cerveau murin. Puis, cet échantillon est transféré directement du punch à biopsie au capillaire qui est déjà rempli de liquide (eau), en l'enfonçant à l'intérieur. Les capillaires utilisés (**Figure 2-5**) ont un diamètre intérieur de 1.1mm à 1.2mm, qui est supérieur au diamètre intérieur du punch à biopsie. Cette différence de diamètre permet à l'échantillon d'entrer facilement dans le capillaire. Cette méthode a été testée d'abord avec des échantillons d'agarose, puis avec des échantillons de cerveaux, confirmant sa faisabilité (**Figure 2-6**). Afin d'assurer le maintien de l'échantillon, le tube micro capillaire est scellé aux deux extrémités avec de l'agarose, empêchant l'échantillon de sortir.



Figure 2-4. Punch à biopsie Miltex à diamètre intérieur de 1mm [1]



Figure 2-5. Capillaires avec diamètre intérieur de 1.1mm-1.2mm utilisés pour la fixation de la préparation de l'échantillon [2]



Figure 2-6. Préparation de l'échantillon de cerveau murin dans un micro capillaire

Afin d'effectuer les premiers tests de prises d'images, une technique similaire a été utilisée pour tester la méthode et préparer des fantômes d'agarose 2% avec billes d' AlO_2 . Tout d'abord, la méthode a été testée en insérant une carotte d'agarose uniquement dans le capillaire. Ceci a permis de vérifier s'il était facile et faisable à la main d'insérer l'échantillon du punch à biopsie dans le capillaire. À la suite de ces manipulations, une première prise d'image a été faite, qui a permis de visualiser les parois de verre du capillaire et l'agarose à l'OCT. Puis, une fois le tout validé, l'équipe a produit des fantômes d'agarose 2% avec billes d' AlO_2 qui ont été conservés dans de l'eau, puis a pris une deuxième série d'images.

Il est aussi possible de préparer l'échantillon en remplaçant l'eau par du paraformaldéhyde (PFA). Ceci permet de réutiliser les échantillons sur une plus longue période. Il faudra alors prendre les précautions nécessaires pour les manipulations du formaldéhyde, qui est cancérigène.

Voici, donc, la description détaillée des manipulations requises pour la préparation de l'échantillon. Puisque les échantillons de cerveaux murins sont conservés dans du PFA, certaines précautions sont à prendre lors de la manipulation des tranches.

- 1) Sous la hotte, prendre avec une pince la tranche de cerveau d'intérêt et l'étendre sur une surface plane.
- 2) D'une main, tenir la tranche avec la pince et de l'autre, utiliser le punch à biopsie pour prélever l'échantillon dans la zone d'intérêt.
- 3) S'assurer que l'échantillon est sécurisé dans le punch à biopsie en soulevant la tranche avec la pince.
- 4) Remplir un capillaire d'eau et insérer l'échantillon à l'intérieur à l'aide du punch à biopsie.
- 5) Prendre une photo du cerveau afin d'enregistrer la position du prélèvement.
- 6) Sceller les bouts du micro capillaire avec de l'agarose pour conserver l'échantillon.
- 7) Mettre dans un tube d'eau et conserver au réfrigérateur pour utilisation future.

2.3 Description détaillée de l'acquisition des images par le dispositif rotationnel

L'insertion du dispositif de rotation sous le microscope OCT inclut de multiples pièces mises en commun. Le microscope OCT contient préalablement une table de mouvement contrôlée manuellement (**Figure 2-7**) servant à positionner l'échantillon. La rotation de l'échantillon est assurée par le moteur CR1/M-Z7 de ThorLabs (**Figure 2-8**). Ce moteur permet une rotation continue sur 360° avec une précision de 12 288 intervalles par révolution. Afin que la rotation s'effectue dans le sens désiré, le moteur doit être placé à l'horizontal et le système doit être fixé afin d'assurer sa stabilité. Ainsi, le moteur est fixé à la table de mouvement située sous le microscope OCT grâce à l'équerre AP90 de ThorLabs (**Figure 2-9**). Une pièce imprimée en 3D (**Figure 2-10**) est annexée au moteur, cette pièce s'y fixe à l'aide des quatre trous comportant un fil M4 présent sur le moteur. L'autre embout de cette pièce est fabriqué afin de pouvoir y insérer un emmanchement à tête hexagonale de 1/4" (**Figure 2-12**).

L'OCT est une modalité d'imagerie qui se base sur les variations d'indices de réfraction d'un milieu. Par conséquent, elle est très sensible aux changements d'indices de réfraction, même si ceux-ci sont très faibles. Un fort changement d'indice de réfraction à une interface crée une diminution de l'intensité du signal dans l'échantillon, mais l'interface est également visible sur l'image. Pour y remédier, l'environnement ambiant du dispositif contenant le tube en verre doit avoir un indice de réfraction similaire à celui du tube de verre de type *glass soda-lime*, soit 1.460 (ScienceDirect, 2012). Par conséquent, l'huile végétale est utilisée afin de réduire les artéfacts visibles sur l'image et d'augmenter la qualité de l'image obtenue. L'huile de canola utilisée a un indice de réfraction de 1.466 (ScienceDirect, 2003), ce qui rapproche beaucoup de celle du verre utilisé. La différence entre les deux indices de réfraction (0.006) sera visible très légèrement sur l'image, mais l'intensité du signal pourra être conservée davantage.

Afin de pouvoir faire l'acquisition des images en immersion dans l'huile, un bac d'immersion (**Figure 2-13**) est fabriqué par impression 3D. Ce bac d'immersion comporte un trou afin de pouvoir y insérer un roulement à bille étanche (**Figure 2-11**), qui permet la rotation de l'échantillon tout en protégeant le moteur du liquide. D'un côté du roulement à billes, un emmanchement à tête hexagonale de 1/4" est collé, et de l'autre côté, à l'intérieur du bac d'immersion, un embout permettant d'insérer le même type d'emmanchement est également collé. Dans l'embout placé à l'intérieur, un mandrin (**Figure 2-14**) permettant la fixation de la micropipette contenant l'échantillon est inséré.

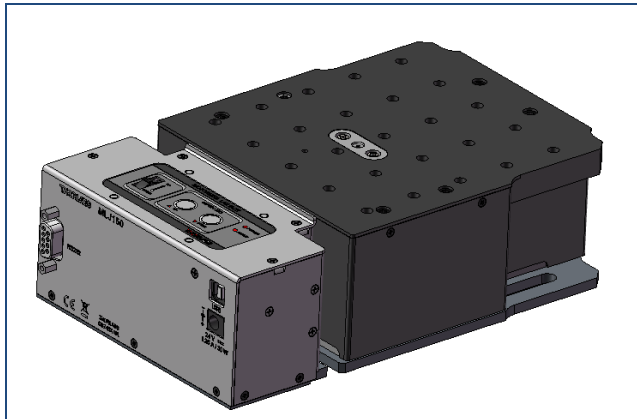


Figure 2-7. Table de mouvement contrôlé manuellement MLJ150 - ThorLabs MLJMLJ [4]

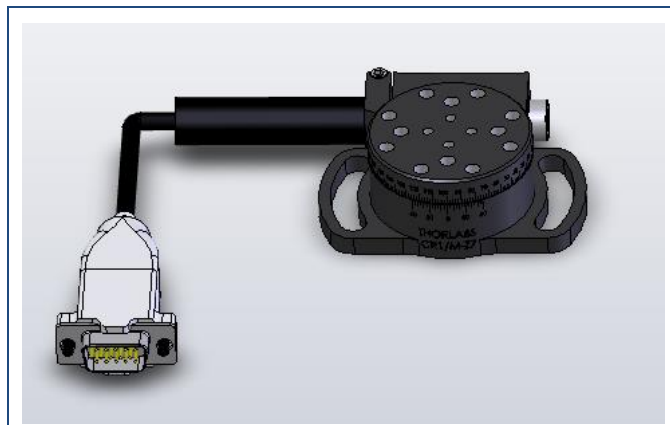


Figure 2-8. Moteur rotationnel CR1/M-Z7 - ThorLabs

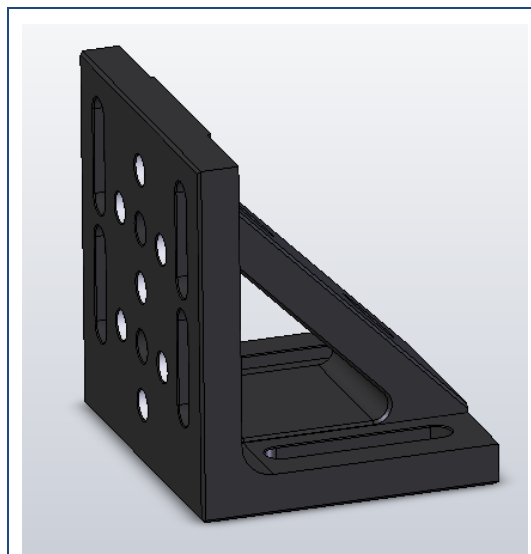


Figure 2-9. Adaptateur 90° A90 - ThorLabs

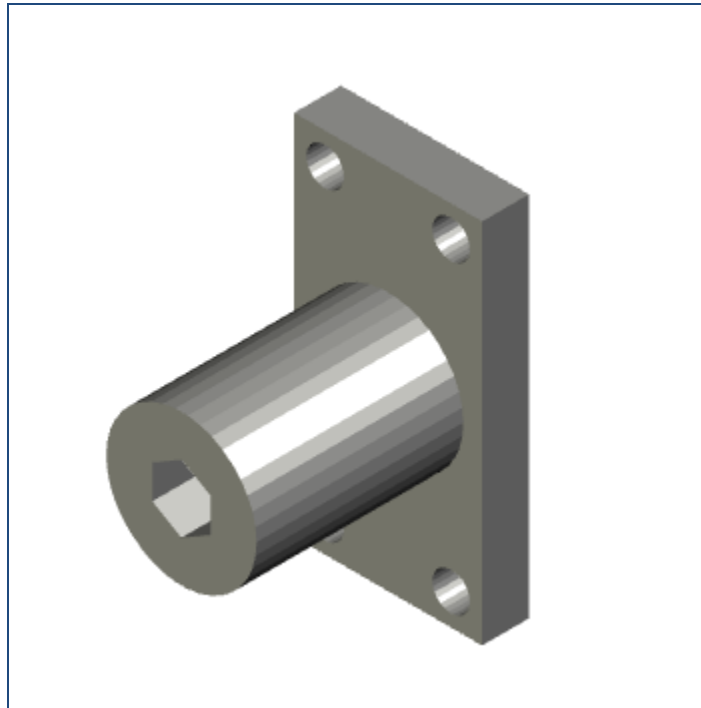


Figure 2-10. Pièce annexée au moteur



Figure 2-11. Roulement à billes



Figure 2-12. Emmanchement à tête hexagonale 1/4"

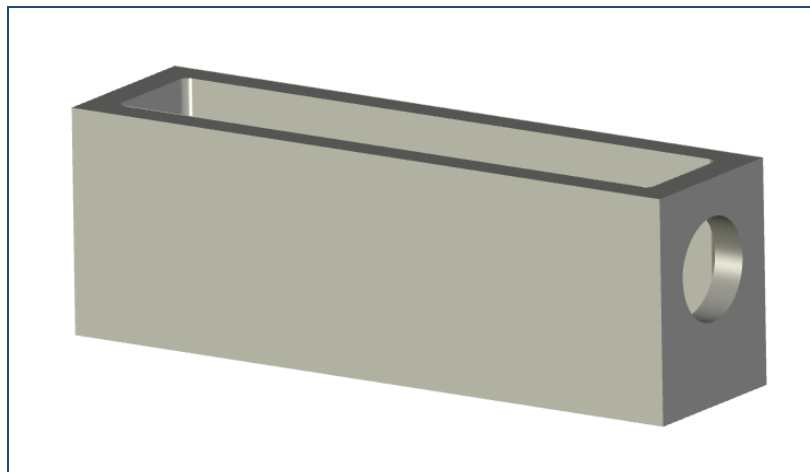


Figure 2-13. Bac d'immersion



Figure 2-14. Mandrin

2.4 Description détaillée de l'algorithme de reconstruction tomographique

L'algorithme de reconstruction tomographique permet de mettre en commun les multiples images acquises à différents angles afin d'obtenir une image résolue isotropique de la matière blanche. Étant donné qu'un tube de verre, plus précisément un microcapillaire, est utilisé pour contenir l'échantillon lors de l'acquisition, les rayons lumineux de l'OCT subissent un changement de propagation dû au changement de l'indice de réfraction des différentes interfaces. Le design préliminaire de l'algorithme est représenté à la **Figure 2-15**.

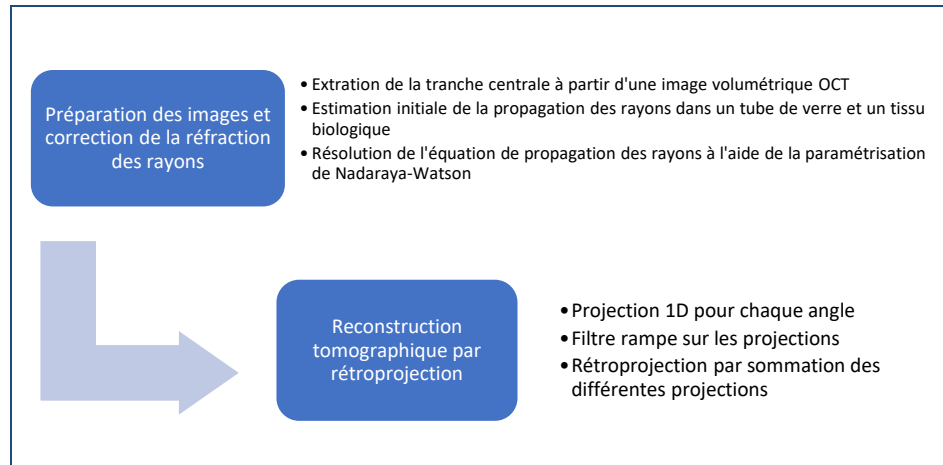


Figure 2-15. Arbre du design préliminaire de l'algorithme avec les différentes fonctions à utiliser.

Les différentes étapes de l'algorithme peuvent être détaillées comme suit :

1. Extraction de la tranche centrale à partir d'une image volumétrique OCT

L'acquisition pour un angle précis est effectuée par une image volumétrique nommée *C-Scan*, soit une image 3D où le balayage est effectué de façon latérale et axiale. Les différentes images sont acquises sur la profondeur. Ensuite, afin d'obtenir une tranche transverse provenant de cette image volumétrique, un algorithme d'extraction est créé. La tranche extraite est un *B-Scan* et les différents *B-Scans* pour les multiples angles sont utilisées pour la reconstruction tomographique afin d'obtenir une seule image résolue de la matière blanche.

2. Estimation initiale de la propagation des rayons dans un tube de verre et un tissu biologique

Une estimation de la propagation des rayons à travers le tube de verre et l'échantillon est nécessaire afin de retirer les distorsions liées au changement de l'indice de réfraction aux interfaces. En premier lieu, le processus d'optimisation débute par une estimation initiale de l'indice de réfraction en assumant une géométrie contenant un tube circulaire en verre avec des diamètres intérieur et extérieur définis et un échantillon à l'intérieur ayant un indice de réfraction similaire aux tissus mous biologiques.

Aussi, afin d'estimer la géométrie du système, les contours du tube en verre et le centre doivent être détectés. Par conséquent, la transformée de Canny est utilisée pour détecter les contours, alors que la transformée de Hough est utilisée pour le centre du tube, en fonction du rayon du cercle détecté. Cette calibration permet ensuite de résoudre l'équation de la propagation des rayons, afin de réduire les distorsions.

3. Résolution de l'équation de propagation des rayons basée sur l'estimateur de Nadaraya-Watson

Ensuite, l'équation eikonale régit la propagation des rayons dans un milieu avec des indices de réfraction non homogènes. À partir de cette équation, il est possible d'extraire le chemin parcouru par la lumière.

$$\frac{dx^2}{dz^2} = \frac{1}{n} \left(\frac{\partial n}{\partial x} - \frac{\partial n}{\partial z} \frac{\partial x}{\partial z} \right) \left(1 + \left(\frac{\partial x}{\partial z} \right)^2 \right)$$

Pour résoudre cette équation différentielle, il est possible d'appliquer la méthode Runge-Kutta d'ordre 4. Cependant, la carte d'indice de réfraction n'est pas continue et est discrétisée en un nombre de points limité, donc les rayons ont un parcours se déplaçant en forme d'escalier. Pour résoudre ce problème dans cette étude, la paramétrisation par l'estimateur de Nadaraya-Watson est utilisée. C'est une méthode d'estimation par noyau qui permet d'estimer l'indice de réfraction en tout point de l'image. Une fois que les rayons se sont propagés, il est possible de corriger l'image par une translation entre la position supposée du rayon (sur l'image) vers la position réelle du rayon, ce qui permet de recaler chaque pixel de l'image vers une différente position et qui réduit fortement les distorsions. Cette méthode est schématiquement présentée dans la **Figure 2-16** ci-dessous et est inspiré d'un article présentant une méthode de correction de distorsion d'image OCT dans l'œil (Podoleanu et al., 2004).

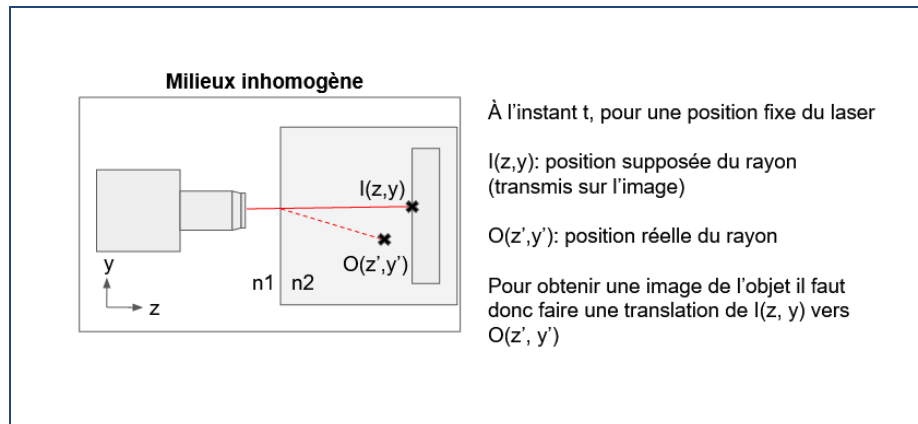


Figure 2-16. Recalage des différents pixels selon la carte de propagation des rayons

4. Rétroprojection des images corrigées des différents angles

Cette fonction permet d'obtenir une image à haute résolution provenant de multiples images acquises à différents angles répartis sur 360 degrés. Après l'acquisition des images, la projection de chaque image corrigée est étalée selon la direction des rayons et une somme de toutes les projections est effectuée. Afin d'éviter que le centre de l'image soit représenté en surplus dans l'image, un filtre rampe est appliqué pour chaque projection 1D, ce qui permet de filtrer le centre de l'image afin d'obtenir une image de haute résolution. Bref, la rétroprojection s'effectue par le calcul de la projection 1D de chaque image, l'application d'un filtre sur chacune de celles-ci et, pour finir, une rétroprojection par la somme de toutes les projections étalées sur une image selon la direction de propagation des rayons.

5. Processus d'optimisation par une boucle itérative minimisant l'erreur moyenne

Lorsque les fonctions de reconstruction tomographique par une rétroprojection filtrée et d'estimation de la carte de réfraction selon la propagation des rayons sont créées, une boucle itérative est créée afin d'améliorer la résolution et la qualité de l'image désirée de la matière blanche.

D'abord, les différentes images pour chacun des angles acquis sont soumises à la rétroprojection filtrée afin d'obtenir une seule image. À partir de cette dernière, une carte de l'indice de réfraction peut être estimée, ainsi qu'une carte de la propagation des rayons pour chacun des angles. Ces cartes permettent ensuite de corriger les distorsions dans les images initiales pour chacun des angles, et par la suite, la rétroprojection filtrée est effectuée à nouveau. Cette rétroprojection filtrée est soumise à une transformée directe qui reconstitue les images des différents angles et ces données sont comparées aux données initiales afin de minimiser l'erreur moyenne entre ces deux ensembles de données. Ce processus est répété de façon continue jusqu'à l'obtention d'une erreur minimale, ce qui procure finalement une image isotropique résolue de la matière blanche, provenant d'un échantillon d'un cerveau de murin. Le processus est représenté à la **Figure 2-17**.

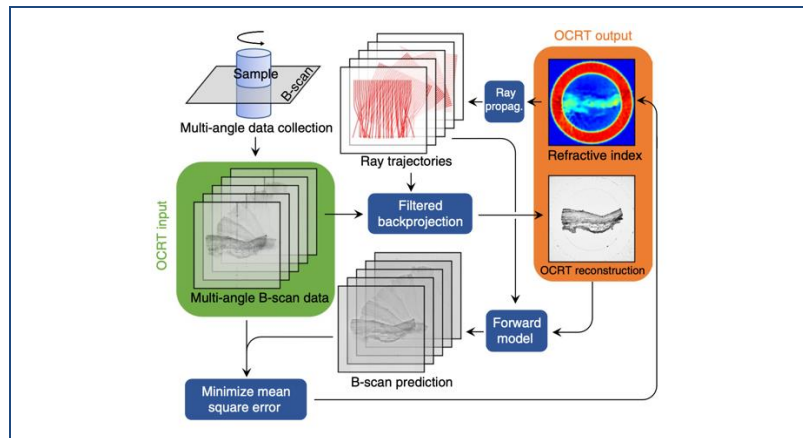


Figure 2-17. Processus d'optimisation utilisant une boucle itérative afin d'obtenir une image avec une super-résolution [5]

2.5 Étude de faisabilité préliminaire du dispositif

Afin d'évaluer la viabilité de la solution retenue, il est nécessaire d'effectuer une étude de faisabilité préliminaire de la conception planifiée.

D'abord, pour l'aspect organisationnel et échéancier, l'équipe de cinq étudiants dans le cadre du cours de projet 4 en génie biomédical est en mesure d'assurer la conception d'un prototype fonctionnel dans les temps prescrits. Il est prévu que l'échéancier de l'obtention d'un prototype fonctionnel d'ici la fin de la session d'hiver 2022 sera atteignable, et que la création du dispositif s'insère ainsi dans un échéancier raisonnable.

Ensuite, la majorité du matériel nécessaire au prototype a déjà été achetée lors de la période de tests et de conception préliminaires. Comme montré au **Tableau 2-1**, le total des dépenses pour le prototype est d'environ 209\$. Ainsi, à moins d'imprévus importants, ce qui est peu probable parce que les prochaines étapes concernent la reconstruction des images (programmation), le budget de 1000\$ sera largement respecté. Le projet est faisable financièrement, car tous les éléments coûteux ont été prêtés à l'équipe. Le microscope OCT, les cerveaux de murin, le moteur rotationnel, les fixations pour la table optique, ainsi que certaines pièces personnalisées provenant d'impression 3D n'ont rien coûté. Le restant du matériel nécessaire a été acheté à bas prix. La faisabilité économique du prototype est donc vérifiée.

Tableau 2-1. Estimé des achats effectués pour les tests et la solution retenue

Achat	Prix approximatif (\$)
Punchs à biopsie (x3)	58
Huile	5
Support ajustable pour le bac d'immersion	30
Mandrin	20
Roulement à billes	25
Bac d'immersion imprimé en 3D	25
Pièce adaptatrice pour le moteur	20
Adaptateur 90° + moteur + table de mouvement	Fourni par le client
Tuyaux de polyvinyle	7
Microcapillaires	19
Total	209\$

Autrement, plusieurs tests ont été effectués afin de tester la faisabilité des méthodes d'échantillonnage et d'imagerie. Différentes méthodes de préparation de l'échantillon ont été testées avec la solution qui a été retenue et ont permis de confirmer la faisabilité préliminaire. Les autres sous-systèmes ont, aussi pour la majorité, déjà été testés. Le design mécanique a été monté dans l'ensemble et des prises d'images préliminaires ont été effectuées. Ainsi, les prochaines étapes sont de développer et d'adapter l'algorithme de reconstruction d'images.

Puisque le dispositif est utilisé à des fins de recherche en laboratoire, les soucis de commercialisation et de réglementation ne font pas partie des considérations pour l'étude de faisabilité. Il a été vérifié que le dispositif conçu est adaptable au dispositif de microscope OCT disponible en laboratoire.

3 MATRICE DE TRAÇABILITÉ

Le **Tableau 3-1** représente la matrice de traçabilité, qui montre les spécifications fonctionnelles nécessaires à l'accomplissement du prototype, ainsi que la solution retenue correspondant à chaque spécification. Certaines spécifications, possédant la même solution, ont été regroupées ensemble. Les trois grandes étapes du projet, soient la préparation de l'échantillon, l'acquisition d'image, ainsi que la correction de l'image, se retrouvent dans les spécifications fonctionnelles. Divers tests ont été effectués pour chaque spécification menant aux solutions les plus efficaces pour les contraintes temporelles et budgétaires de l'équipe.

Le poinçon à biopsie servira à extraire l'échantillon à partir d'une tranche de cerveau de murin d'une taille approximative de 1 mm³. Afin d'identifier où le voxel a été poinçonné, une image est prise avec l'appareil photo d'un cellulaire en ajoutant une règle a été ajoutée afin d'avoir une échelle. L'échantillon est placé dans un capillaire avec de l'eau distillée. Les extrémités du capillaire sont scellées avec de l'agarose. Le capillaire est inséré dans un liquide dont l'indice de réfraction est très proche de celui du verre pour éviter que l'indice de réfraction de l'image ne varie trop dans l'espace. Le capillaire est fixé de façon indirecte à un moteur rotationnel Thorlabs qui permet le contrôle à distance de la rotation du système sur 360° ainsi que de la prise de 60 images avec un programme écrit dans Jupyter Notebook. La correction de l'image acquise est ensuite faite avec un algorithme composé de trois étapes. Les trois étapes sont la cartographie de l'indice de réfraction, l'estimation de la trajectoire des rayons et la rétroprojection de l'image selon les rayons optiques.

Tableau 3-1. Matrice de traçabilité des spécifications fonctionnelles selon les sous-systèmes retenus

Spécifications fonctionnelles	Solution retenue
Extraction d'un échantillon d'un cerveau de murin d'un 1 mm ³ sans l'endommager.	Poinçon à biopsie.
Localisation de l'échantillon extrait dans le cerveau.	Appareil photo d'un cellulaire avec une règle en plastique.
Échantillon doit être placé dans un milieu où l'indice de réfraction ne varie pas et doit être capable de tourner sur 360°.	Le capillaire est placé dans l'huile. L'échantillon situé dans le capillaire est coincé entre deux portions d'eau. Les bouts du capillaire sont scellés par de l'agarose.
Système d'acquisition d'images permettant la prise de 60 images sur 360° de façon automatique.	Moteur rotationnel Thorlabs contrôlé par un programme écrit dans Jupyter Notebook.
Correction de l'image acquise afin d'obtenir une reconstitution de l'échantillon claire.	Algorithme de correction composé 3 étapes : Cartographie de l'indice de réfraction, Estimation de la trajectoire des rayons et Rétroprojection de l'image selon les rayons optiques.

4 DESIGNS ALTERNATIFS NON-RETENUS

La section suivante énonce et détaille les solutions qui n'ont pas été retenues pour le montage final. Deux principales pistes de solutions ont été explorées, soit la préparation de l'échantillon de cerveau murin par moulage d'agarose, ainsi que la prise d'image dans l'air ambiant.

4.1 Préparation de l'échantillon (Moulage avec agarose)

Une solution qui a été considérée et testée pour la préparation de l'échantillon était l'impression 3D d'une base de moulage avec les parois du moule en tube de polyvinyle. En effet, l'équipe a considéré deux différentes solutions pour la préparation de l'échantillon, soit celle avec les capillaires (qui a été retenue), ainsi que le moulage de l'agarose. Cette dernière, montrée à la **Figure 4-1**, est détaillée ci-dessous.

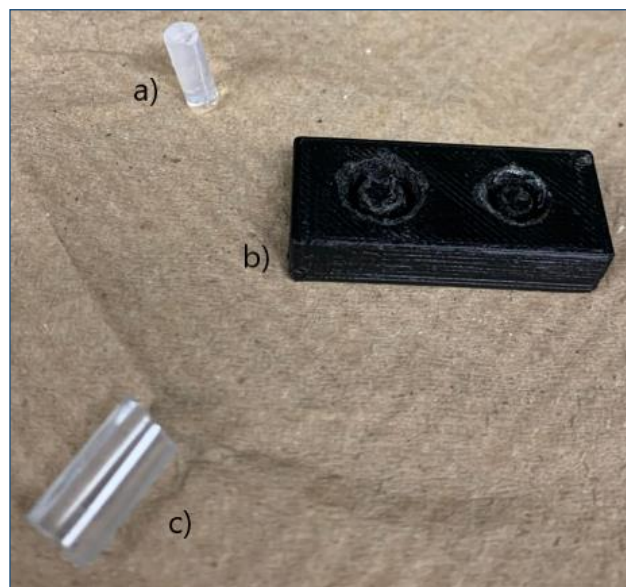


Figure 4-1. Résultats de la solution non retenue de moulage d'agarose. a) Cylindre d'agarose moulé, b) Base de moulage par impression 3D, c) Parois de moulage - Tube de polyvinyle pré-coupé

Sommairement, une base de moulage rectangulaire (**Figure 4-1a**) est obtenue par impression 3D. Cette base contient un site d'insertion pour les parois verticales du moule, qui sont constituées de tube de polyvinyle pré-coupé (**Figure 4-1c**). L'échantillon est placé sur la base, à l'intérieur des parois, puis l'agarose est coulée par-dessus. Lorsque l'agarose est figée, le cylindre peut être démoulé en retirant le tube de polyvinyle de la base et en séparant les parois. Ce processus permet d'obtenir un cylindre d'agarose 2% contenant l'échantillon (**Figure 4-1b**), qui peut être conservé dans l'eau à long terme. Pour évaluer la viabilité de cette solution, le moulage a été testé dans échantillon.

Cette solution n'a pas été retenue pour plusieurs raisons. La raison principale pour laquelle cette solution n'a pas été conservée est qu'il était plus complexe de lier cette préparation de l'échantillon au reste du système. En effet, contrairement au capillaire, le cylindre d'agarose n'a pas de bon point d'ancrage au reste du système, puisqu'il est mou et glissant. La rotation de l'échantillon serait donc moins précise et pourrait entraîner des erreurs de lecture. De plus, cette solution ne permettait pas précisément d'aligner les axes centraux de l'échantillon et du cylindre d'agarose, ce qui poserait un problème lors de la prise d'images. Cette solution nécessitait une quantité plus importante d'agarose, qui est dispendieux. Puis, le résultat obtenu avec cette solution était moins précis et souhaitable que la solution avec capillaire.

Les sections 3.1.1 à 3.1.3 ci-dessous détaillent le matériel utilisé et les étapes de cette solution.

4.1.1 Base de moulage en impression 3D

Pour cette piste de solution, une base de moulage a été conçue à l'aide du logiciel *Catia V5*. Cette base contenait deux sites d'insertion pour les parois verticales, selon les dimensions deux tuyaux à tester. Les deux tuyaux qui ont été considérés sont un en polyvinyle et un en polyéthylène, ce pourquoi il y a deux sites d'insertion sur la base utilisée pour les tests. Le tuyau en polyéthylène n'a finalement pas été utilisé, puisqu'il a été considéré que sa rigidité élevée rendrait le démoulage de l'agarose difficile.

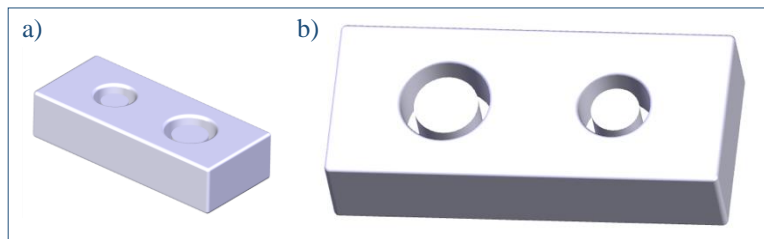


Figure 4-2. Images de la base de moulage d'agarose. a) Vue 3D, b) Vue de haut

4.1.2 Parois de polyvinyle

Les parois de moulage qui ont été utilisées pour cette solution sont un morceau de tube de polyvinyle (**Figure 4-3**) pré-coupé. Les dimensions intérieures et extérieures du tube sont respectivement de 0.17po et de 0.25po. Le segment de tube utilisé a été coupé à une hauteur d'environ 1.5cm. L'agarose a été coulée, puis démoulée du tube pour obtenir un cylindre.

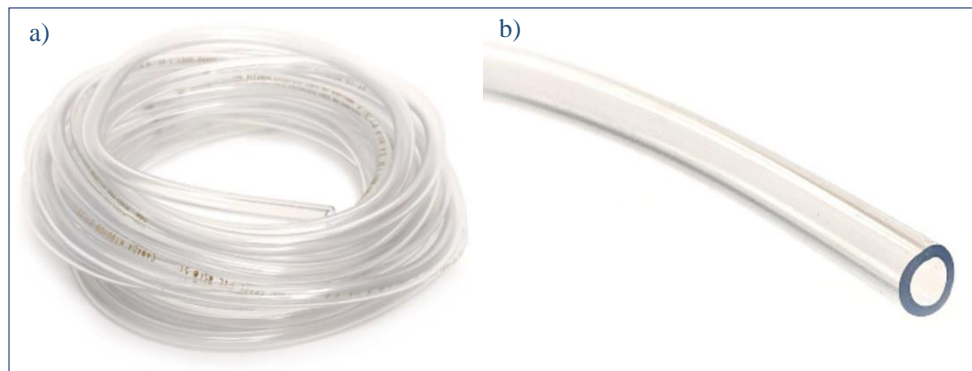


Figure 4-3. Tuyau de polyvinyle utilisé. a) Ensemble du tuyau, b) Vue de coupe [3]

4.1.3 Manipulations

Voici, énumérées ci-dessous, la liste des étapes des manipulations nécessaires pour cette solution.

- 1) Couper un segment du tube de polyvinyle d'une hauteur d'environ 1.5 cm et pré-couper une incision parallèle à la hauteur du cylindre.
- 2) Placer l'échantillon de cerveau sur la base de moulage.
- 3) Insérer le tube de polyvinyle dans le site d'insertion.
- 4) Préparer l'agarose selon les instructions appropriées et couler dans le moule.
- 5) Une fois l'agarose figée, retirer le tube de polyvinyle avec l'agarose à l'intérieur de la base de moulage.
- 6) Séparer délicatement les parois du tube le long de l'incision et démouler l'agarose.

4.2 Rotation de l'échantillon dans l'air ambiant

4.2.1 Design du dispositif rotationnel

L'OCT existant de l'équipe du Dr. Joël Lefebvre procure une propagation des rayons verticales donc la rotation de l'échantillon doit s'effectuer sur un axe horizontal afin d'obtenir une image *B-Scan* sous la forme d'une tranche transverse de l'échantillon. Par conséquent, l'échantillon est déposé dans le tube en verre, puis le tube est inséré dans le moteur selon l'axe horizontal. De plus, le tube contenant l'échantillon est rempli avec de l'eau et du PFA, soit pour minimiser les changements d'indice de réfraction et pour conserver l'échantillon sur une longue durée, respectivement. Cependant, l'OCT est une modalité d'imagerie se basant sur les variations des indices de réfraction du milieu, donc une interface ayant un fort changement d'indice de réfraction, dans ce cas-ci, le tube en verre, crée une interface très visible sur les images, et aussi, empêche la propagation complète des rayons, ce qui diminue l'intensité du signal. Afin de réduire ces distorsions, le tube en verre doit être déposé dans un environnement ayant un indice de réfraction similaire à celui du verre, soit environ 1.5. Ce design n'a pas été retenu et le design retenu à la section 2, inclut un environnement ambiant composé d'huile, ce qui améliore grandement la qualité de l'image, mais rend également le design du dispositif plus complexe.

5 SOMMAIRE DES DESIGNS

ID	Description	Réf. vers une section de ce document	Notes
D1	Design retenu pour la solution finale	Section 0	Description de la solution retenue et de ses sous-aspects
D1.1	Structure globale	Section 2.1	Ensemble de la solution retenue
D1.2	Préparation de l'échantillon avec capillaires	Section 0	
D1.3	Acquisition d'images et mécanique du dispositif rotationnel	Section 2.3	
D1.4	Algorithme de reconstruction tomographique	Section 2.4	
D2	Solution de préparation de l'échantillon par moulage d'agarose	Section 4.1	Non-retenu, car moins compatible avec le reste du design que le capillaire
D3	Acquisition d'images OCT dans l'air	Section 4.2	Non-retenu, car interfaces air-verre ou air-agarose causent une réflexion très importante, ce qui bloque l'imagerie des structures subséquentes.

HISTORIQUE DES VERSIONS

Version	Date	Détails	Auteur(s)
1.0	1-12-2021	Émission d'une première version pour la présentation du prototype de mi-parcours.	PB, AH, SM, SP, VSA

RÉFÉRENCES

ScienceDirect. (2013). *Soda-Lime Glass*, En ligne, <https://www.sciencedirect.com/topics/chemistry/soda-lime-glass>.

ScienceDirect. (2003). *Canola Oil*, En ligne, <https://www.sciencedirect.com/topics/neuroscience/canola-oil>.

Podoleanu, A., Charalambous, I., Plesea, L., Dogariu, A., & Rosen, R. (2004). Correction of distortions in optical coherence tomography imaging of the eye. *Physics in medicine and biology*, 49(7), 1277–1294. <https://doi.org/10.1088/0031-9155/49/7/015>

Images :

1. Integra™ 3331AAP25. *Integra™ Miltex™ Biopsy Punches with Plunger System*, Image en ligne, <https://www.fishersci.ca/shop/products/integra-miltex-biopsy-punches-plunger-system-5/12460402>.
2. Kimble Chase. *Capillary Tubes Plain - Glass 200 Tubes per Vial*, Image en ligne, https://www.amazon.com/Capillary-Tubes-Plain-Glass-Vial/dp/B001DB93E4/ref=pd_sbs_2/145-8635979-6184532?pd_rd_w=gnk1D&pf_rd_p=3676f086-9496-4fd7-8490-77cf7f43f846&pf_rd_r=R7KPNNWMCE2PH3EB19G1&pd_rd_r=ca9b7c8e-8026-4ada-a2df-52010e6e9f50&pd_rd_wg=uLGaQ&pd_rd_i=B001DB93E4&th=1.
3. Canada Tubing. *Tube de Vinyle Clair-diamètre intérieur 0,17 poXdiamètre extérieur 1/4 po x bobine 20 pi*, Image en ligne, Modèle n° sveb20, N° UGS 1001001952, <https://www.homedepot.ca/produit/canada-tubing-tube-de-vinyle-clair-diametre-interieur-0-17-poxdiametre-exterieur-1-4-po-x-bobine-20-pi/1001001952?rrec=true>.
4. ThorLabs. *Motorized High-Load Vertical Translation Stage*, Image en ligne, https://www.thorlabs.com/newgrouppage9.cfm?objectgroup_id=4018.
5. Zhou, K.C., Qian, R., Degan, S. *et al.* Optical coherence refraction tomography. *Nat. Photonics* **13**, 794–802 (2019). <https://doi.org/10.1038/s41566-019-0508-1>.