

PARTIE 2

Construction d'un système OCT plein champ



ATTENTION : Les sources laser que vous allez employer sont dangereuses et peuvent causer des dommages irrémédiables aux yeux. Ne jamais placer l'oeil dans l'axe du faisceau direct ou réfléchi.

2.1 Introduction

- ★ Utiliser l'article de l'annexe E pour vous faire une idée de l'intérêt et de l'étendue des applications d'un microscope basé sur la tomographie par cohérence optique plein champ. **Ces éléments alimenteront votre compte-rendu.**

2.2 Principe de la tomographie par cohérence optique plein champ

Le montage expérimental d'un OCT plein champ est représenté sur la figure 2.1. Il est basé sur un interféromètre de Michelson dans lequel un objectif de microscope identique a été inséré dans chacun des bras (configuration appelée interféromètre de Linnik). Cette configuration permet d'augmenter la résolution latérale au niveau de l'imagerie et d'être dans une configuration de type microscopie optique. La résolution latérale est alors fixée par l'ouverture numérique des objectifs.

La source lumineuse est une lampe halogène. Dans le cas où un miroir est placé à l'extrémité de chaque bras, du fait de la faible cohérence temporelle de cette source (large bande spectrale) les interférences sont très localisées. Dès que la différence de marche δ entre les deux bras augmente, les franges d'interférence se brouillent. L'interférogramme qui en résulte présente donc seulement quelques franges, il est très peu étalé suivant l'axe z .

L'un des miroirs est désormais remplacé par un échantillon épais non homogène du point de vue optique. La lumière pénétrant dans l'objet est réfléchie ou rétro-diffusée lorsqu'elle rencontre une variation d'indice de réfraction. Il peut s'agir d'une interface entre deux milieux ou bien de structures diffusantes. Toutefois, seule la lumière provenant d'une tranche d'épaisseur Δz de l'échantillon est en phase avec le faisceau de référence et peut donner lieu à des interférences. La longueur du bras de référence de l'interféromètre détermine la profondeur à laquelle est sondée l'échantillon. En faisant varier, la position de cette tranche (c'est à dire en déplaçant l'objet le long de l'axe z) on sonde l'objet en fonction de la profondeur.

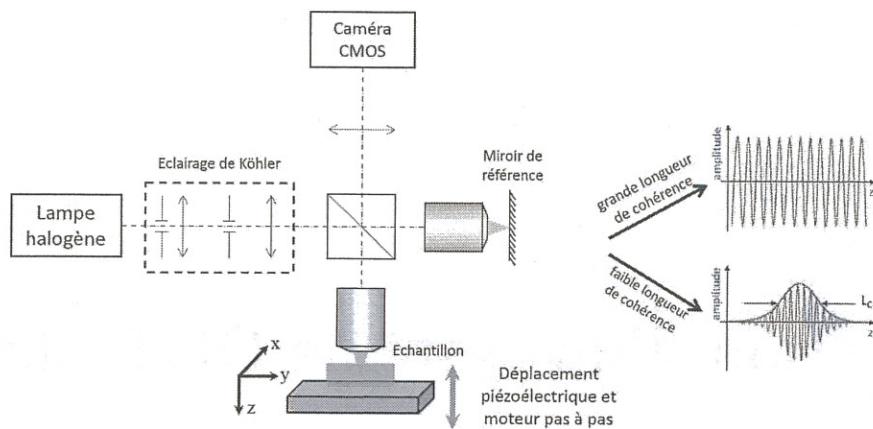


FIGURE 2.1 : Schéma de principe d'un dispositif de tomographie par cohérence optique dans la configuration plein champ.

Ainsi, la position de l'enveloppe de l'interférogramme donne la position des structures alors que l'intensité du signal est relative à la réflectivité de celles-ci, comme illustré sur la figure 2.2.

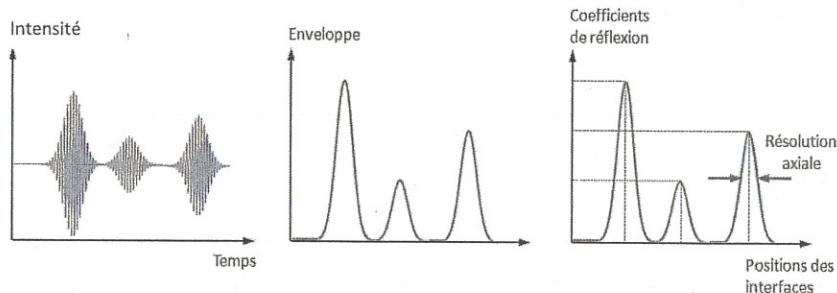


FIGURE 2.2 : Principe de la localisation des structures réfléchissantes en fonction de la profondeur par OCT.

Seule la lumière provenant d'une profondeur donnée produit un interférogramme (voir figure 2.3). C'est ce que l'on appelle le **sectionnement optique**. Il est important de noter que l'ensemble de la lumière diffusée par l'échantillon se superpose à ce signal interférométrique. L'enregistrement et la soustraction de deux images déphasées entre elles permet de s'affranchir du fond continu et d'amplifier le signal d'interférence lié aux structures d'intérêt.

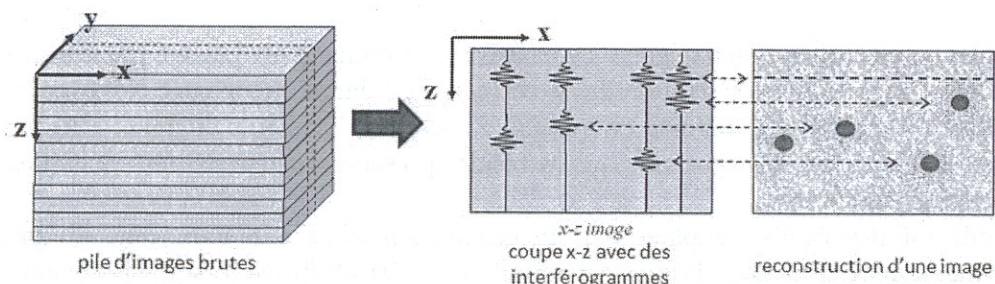


FIGURE 2.3 : Principe de la reconstruction d'une image. A l'issue de l'acquisition, les données forment un volume d'images brutes (images 2D en fonction de la profondeur dans l'échantillon). En prenant une coupe selon l'axe z , les interférogrammes en fonction de la profondeur peuvent être observés. L'enveloppe de chacun de ces interférogrammes permet de localiser des interfaces entre deux milieux ou des structures rétro-diffusantes.

2.3 Montage optique

L'ensemble du matériel composant le microscope par OCT est disposé sur une table optique isolée des vibrations des paillasses par un dispositif passif à coussin d'air. La figure 2.4 présente un schéma optique du montage de l'OCT plein champ. Deux sources sont utilisées : une diode laser rouge ($\lambda = 650 \text{ nm}$) pour l'alignement optique de l'interféromètre (ce faisceau laser correspond à l'axe optique du montage et il permet donc d'aligner l'ensemble des éléments optiques) et une source halogène de faible longueur de cohérence temporelle pour la prise d'images tomographiques. On envoie l'une ou l'autre des sources en présence ou non du miroir sur le support magnétique M_{laser} .

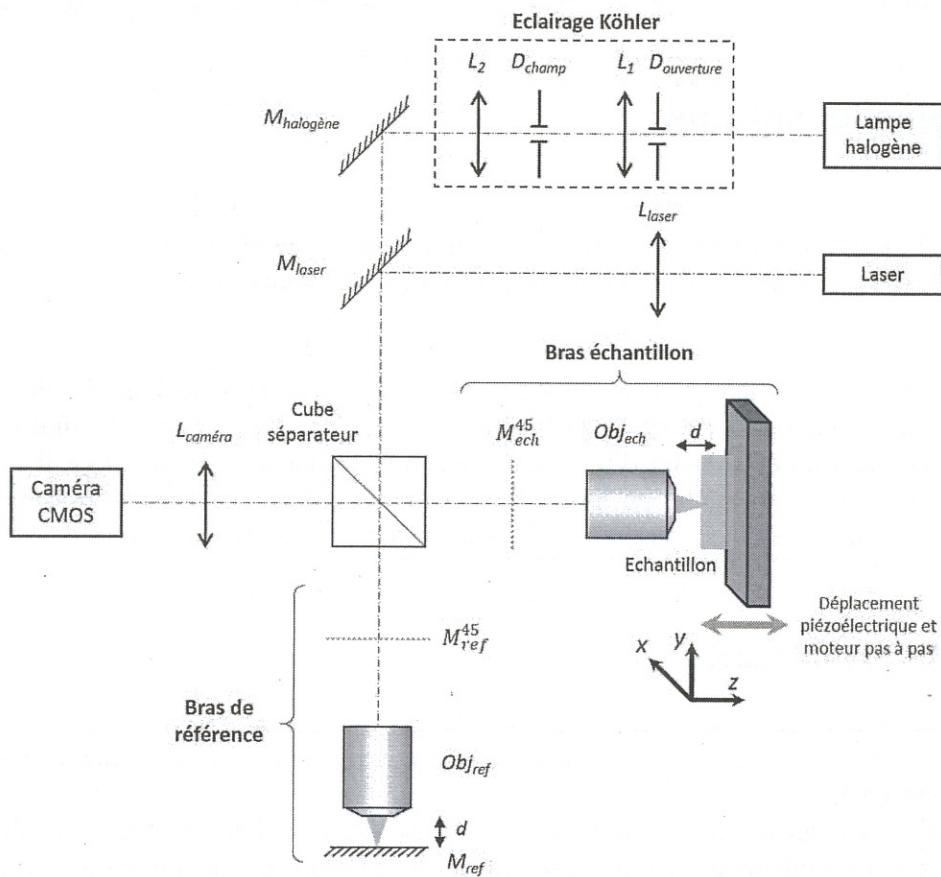


FIGURE 2.4 : Schéma optique de l'OCT plein champ.

La source halogène délivre une intensité réglable et arrive jusqu'à la table optique via un assemblage de fibres optiques. Elle émet dans le domaine visible avec un spectre large représenté sur la figure 1.7. L'éclairage de l'échantillon est réalisée à l'aide d'un montage utilisée en microscopie optique conventionnelle : l'éclairage de Köhler. Il permet d'avoir un éclairement homogène sur l'échantillon et de pouvoir contrôler à l'aide de deux diaphragmes l'intensité incidente (diaphragme d'ouverture) et le champ de vue (diaphragme de champ) (voir figure 2.5).

L'interféromètre se compose d'un cube séparateur qui joue simultanément le rôle des lames séparatrice et compensatrice. Les rayons sont renvoyés verticalement à l'aide de miroirs à 45° (M_{ref}^{45} et M_{ech}^{45}) afin de pouvoir positionner l'échantillon et le miroir horizontalement. En dessous de chaque miroir est placé un objectif de microscope (Obj_{ref} et Obj_{ech}). Suivant les tables optiques, deux types d'objectifs différents sont utilisés (4x ou 10x).

Sur le bras de référence, l'objectif et le support sont solidaires d'une platine de translation permettant un mouvement vertical de l'ensemble de plusieurs millimètres (grosse vis argentée verticale). Cette

platine permet d'ajuster la longueur du bras de référence par rapport au bras échantillon. Une seconde platine de translation verticale (petits vis argentée à l'arrière) permet le mouvement de l'objectif par rapport au support et permet de focaliser la lumière à la surface du miroir de référence.

Dans le bras échantillon, la position de l'objectif est fixe, seul l'échantillon peut être bougé verticalement à l'aide d'une platine motorisée. Pour cela un moteur pas à pas permet l'élévation du support sur une distance de 4 mm de course avec un pas réglable de l'ordre du micromètre. Des cales piézoélectriques directement incorporées à la platine de translation permettent un déplacement fin de l'ordre de la dizaine de nanomètres avec une course maximale de $20\ \mu\text{m}$.

Les rayons se réfléchissent sur un miroir de référence pour le bras de référence et sur l'échantillon étudié pour le bras échantillon. Les rayons issus du bras de référence et du bras échantillon se recombinent à la sortie de l'interféromètre. Une lentille achromatique L_{camera} permet de faire l'image sur la caméra.

2.4 Alignements optiques



ATTENTION : Dans la suite des manipulations vous allez utiliser un diode laser. Ces lasers peuvent causer des dommages irrémédiables aux yeux.

Ne jamais placer l'oeil dans l'axe du faisceau direct ou réfléchi. Les observations des figures d'interférences issues d'une source laser doivent se faire par projection sur l'écran de visualisation blanc mais jamais directement à l'oeil. Avant d'insérer un élément optique dans le montage, il est impératif de bloquer le faisceau laser en amont en intercalant le carton prévu à cet effet. Après avoir modifié l'orientation d'un miroir de renvoi, vérifier que le faisceau réfléchi est bien à l'endroit prévu.

2.4.1 Conseils préliminaires

Quelques éléments sont montés sur la table optique. Ils permettent de donner l'architecture de votre montage optique. Ces éléments ne doivent être ni déplacés, ni dérégler. En cas de doute, ne pas hésiter à demander à l'enseignant.

Le matériel dont vous disposez est similaire à celui utilisé dans les laboratoires de recherche. Il est fragile et coûteux mais également extrêmement précis. Il est alors important de manipuler tous les éléments optiques avec beaucoup de précaution **en évitant d'y mettre les doigts dessus**. De même les montures mécaniques ne doivent pas être forcées. Si un réglage devient difficile, il y a sans doute un problème, prenez le temps de comprendre d'où cela peut venir. Le travail qui va vous être demandé est ici quasiment un travail de niveau recherche, il vous demandera soin, patience et sens critique. De la qualité de vos manipulations dépendent la qualité des images que vous obtiendrez.

Ne pas hésiter à appeler l'enseignant en cas de doute ou de problème avec le matériel.

Penser toujours à centrer vos rayons lumineux au centre des optiques !

Progresser étape par étape sans désaligner l'étape précédente.

Cette partie est au coeur de ce projet expérimental. En effet, il va falloir réaliser un alignement tri-dimensionnel avec deux sources de lumières (laser rouge et lampe halogène fibré). Il peut paraître parfois long et fastidieux. De plus, comme tout alignement optique, il sera peut-être parfois nécessaire de revenir en arrière si une étape précédente n'a pas été réalisé convenablement.

La description qui suit est volontairement succincte. Vous avez par ailleurs à votre disposition sur la table le protocole détaillé d'alignement.

2.4.2 Alignement grossier de l'interféromètre

- **Réglage de l'horizontalité du laser : axe optique du montage**

Le laser d'alignement va permettre de fixer la hauteur de l'ensemble du montage optique. Il correspond à l'axe optique du montage. Il est donc important de fixer cette hauteur et de ne plus y toucher afin de s'en servir de référence pour l'ensemble des éléments optiques.

- **Miroir M_{laser} de renvoi du laser à l'entrée de l'interféromètre**

Le positionnement de ce miroir permet de fixer l'orientation de l'axe optique à l'entrée de l'interféromètre de Michelson.

- **Positionnement du cube séparateur**

L'orientation du cube séparateur fixe l'orientation des deux bras de l'interféromètre de Michelson. En l'occurrence, ici, nous sommes dans une configuration où les deux bras ne sont pas parfaitement orthogonaux.

- **Bras de référence**

Il s'agit de régler les différents éléments pour que les éléments optiques soient orthogonaux et centrés par rapport au faisceau.

- **Bras échantillon**

Il s'agit de régler les différents éléments pour que les éléments optiques soient orthogonaux et centrés par rapport au faisceau.

- **Contact optique approximatif avec le laser**

L'interféromètre est ainsi réglé au contact optique approximatif. Pour trouver précisément le contact optique, il est nécessaire d'utiliser la source de lumière blanche.

2.4.3 Dispositif d'éclairage Köhler

Une bonne observation de l'échantillon nécessite un bon éclairage. L'éclairage doit être uniforme et la zone éclairée doit être restreinte au champ de vue pour éviter la présence de lumière parasite dans le montage optique (risques de réflexions multiples ou parasites). L'éclairage de Köhler est un dispositif largement utilisé en microscopie conventionnelle afin d'éclairer les échantillons avec un faisceau homogène. Le principe est de rejeter l'image de la lampe source en dehors du plan de l'échantillon. Grâce à ce dispositif, on peut régler indépendamment la taille du champ et l'intensité de l'éclairement, améliorant ainsi le contraste des images obtenues (voir figure 2.5).

Préter attention à ce réglage car il est crucial pour la qualité des images obtenues. Si cet éclairage n'est pas réalisé correctement, il sera nécessaire d'y revenir par la suite.

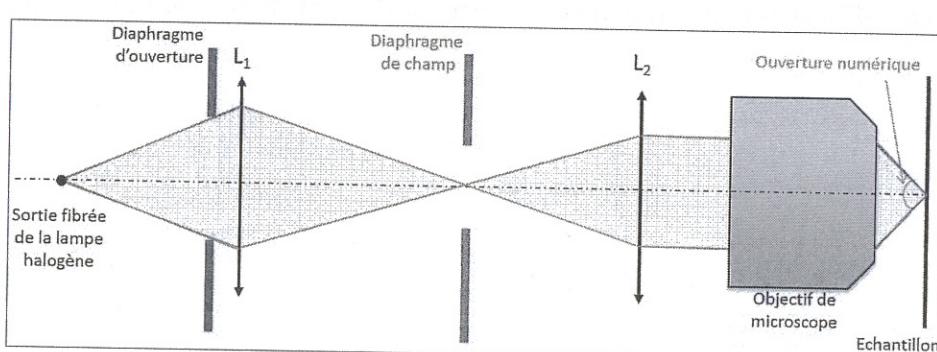


FIGURE 2.5 : Schéma de principe de l'éclairage Köhler utilisé en microscopie optique.

2.4.4 Contact optique et teintes de Newton

- **Miroir *Mhalogene* de renvoi de la lumière blanche à l'entrée de l'interféromètre**
L'objectif de cette étape est de garantir que l'axe optique de la lumière blanche dans l'interféromètre est le même que celui du laser d'alignement. Si c'est le cas, les réglages réalisés précédemment avec le laser sont également valables pour le faisceau de lumière blanche. **Attention, il est crucial d'effectuer cette étape avec soin.**
- **Contact optique en lumière blanche : teintes de Newton**
L'objectif est de trouver le contact optique en lumière blanche : les deux bras de l'interféromètre de Michelson auront alors même longueur.

2.4.5 Réalisation d'un microscope optique : alignement de la caméra

Désormais, il reste à insérer les objectifs de microscope dans l'interféromètre de Michelson afin d'imager l'échantillon sur la caméra.

En ne considérant qu'un des bras de l'interféromètre (en bloquant le faisceau du bras échantillon par exemple), on réalise un microscope optique conventionnel en lumière blanche. L'objectif de microscope permet d'assurer le grossissement de l'image observée sur la caméra. Il s'agit donc désormais de conjuguer le plan focal de l'objectif de microscope avec la surface de la caméra.

- **Mise en place de la détection (caméra)**
- **Visualisation des images**
- **Réglages du bras de référence**
- **Réglages du bras échantillon**

2.4.6 Interférogramme avec l'OCT (avec les objectifs de microscope)

Désormais les deux bras de l'interféromètre sont réglés. Si vous laissez passer la lumière blanche dans les deux bras, l'objectif est désormais d'observer les franges d'interférences à l'aide de la caméra. La caméra étant monochrome, la figure d'interférence apparaît en niveaux de gris à l'image sous forme de franges.

2.4.7 Optimisation des franges d'interférence

Vous êtes désormais au contact optique et votre OCT est réglé. Il s'agit donc d'optimiser le contraste et la largeur des franges d'interférence.

Félicitations, vos efforts ont été payants et désormais l'OCT est réglé et prêt à l'emploi !