

# Tomographie optique par une technique d'holographie numérique en faible cohérence\*

Etienne Cuche<sup>†</sup>, Patrick Poscio<sup>‡</sup> et Christian Depeursinge<sup>†</sup>

<sup>†</sup> Institut d'Optique Appliquée, Département de Microtechnique, EPFL, CH-1015 Lausanne, Suisse

<sup>‡</sup> Institut de Recherches en Ophtalmologie, CH-1950 Sion 4, Suisse

Reçu le 15 juin 1997, accepté le 24 septembre 1997

**Résumé.** Des hologrammes digitaux sont enregistrés au moyen d'une caméra CCD et sont reconstruits numériquement, en intensité et en phase, par un algorithme calculant leur transformée de Fresnel discrète. L'utilisation d'une source de faible cohérence permet d'effectuer la tomographie d'une scène 3D, sans balayage latéral, avec une résolution en profondeur égale à la longueur de cohérence ( $25\ \mu\text{m}$ ) et une résolution latérale égale à la limite de diffraction de l'objectif du microscope utilisé ( $2,2\ \mu\text{m}$ ).

**Mots clés:** Holographie numérique, CCD, transformée de Fresnel, tomographie optique.

## Optical tomography by means of a numerical low-coherence holographic technique

**Abstract.** Digital holograms are recorded by a CCD camera and are numerically reconstructed, in intensity and phase, by means of an algorithm which calculates their discrete Fresnel transform. By using a low-coherence source, the tomography of a 3D scene can be performed without lateral scanning with a depth resolution equal to the coherence length ( $25\ \mu\text{m}$ ) and a lateral resolution equal to the diffraction limit of the microscope objective used ( $2.2\ \mu\text{m}$ ).

**Keywords:** Numerical holography, CCD, Fresnel transform, optical tomography.

### 1. Introduction

Du fait de la forte diffusion des longueurs d'ondes optiques par les tissus biologiques, l'application de techniques d'imagerie optique dans le domaine biomédical nécessite la mise au point de méthodes permettant la vision au travers de milieux troubles. Diverses techniques permettant l'élimination des photons ayant subi des diffusions multiples dans le tissu ont été proposées ces dernières années [1].

L'utilisation, récemment rendue possible, des sources faiblement cohérentes a donné lieu à l'émergence des techniques OCT (optical coherence tomography) [2] dont

l'efficacité a été démontrée aussi bien *in vitro* [3] que *in vivo* [4,5]. Les techniques OCT basées sur le principe de l'interférométrie en faible cohérence, effectuent un tri parmi les photons retrodiffusés ou transmis par l'échantillon en fonction de la longueur de leurs trajets optiques. En modifiant la distance parcourue par une onde de référence, on peut effectuer une tomographie de l'échantillon en sélectionnant la profondeur d'émission des photons dits balistiques ou serpentines. Du fait de l'accroissement de leurs trajets optiques, la plupart des photons ayant subi des diffusions multiples ne sont plus en mesure d'interférer.

Les dispositifs OCT existants actuellement utilisent un faisceau d'illumination focalisé sur l'échantillon et un détecteur ponctuel qui doivent balayer la surface de l'échantillon pour former une image. Ces procédures de balayages, du fait du temps qu'elles nécessitent, constituent une limitation à l'application clinique des techniques OCT.

Le moyen le plus direct permettant de supprimer cette opération de balayage latéral consiste à élargir

\* Ce papier qui concerne les applications biomédicales de l'optique a été revu avec l'aide généreuse des Professeurs Sigrid Avriillier et Stéphane Mottin, organisateurs de OPTDIAG 97.

This paper dealing with biomedical applications of optics has been kindly reviewed with the help of Professor Sigrid Avriillier and Professor Stéphane Mottin, organizers of OPTDIAG 97.

le faisceau d'illumination. Dans ce cas, l'interférence entre l'onde de référence et la lumière retrodiffusée (ou transmise) par l'échantillon crée une distribution plane de franges d'interférence qui forme un hologramme. La mise en œuvre de ces techniques holographiques pose le problème du choix d'un support d'enregistrement. En effet, les plaques photographiques traditionnellement utilisées en holographie doivent être abandonnées pour des raisons pratiques évidentes puisqu'elles nécessitent un développement chimique préalable à la reconstruction. De plus, pour les applications biomédicales, ce support d'enregistrement doit être suffisamment sensible pour permettre la détection de la faible intensité du signal cohérent, tout en étant suffisamment rapide pour permettre l'investigation des tissus vivants. Une solution proposée par Hyde *et al* [6] consiste à utiliser un cristal photoréfractif au moyen duquel l'hologramme peut être enregistré, reconstruit puis effacé de manière cyclique.

Les caméras CCD constituent un autre type de détecteur intéressant, combinant rapidité d'acquisition (fréquence vidéo et sensibilité (caméras refroidies et intensificateurs d'images)). Dans ce cas, la reconstruction doit être effectuée numériquement car les hologrammes enregistrés sont digitaux. Cette approche numérique présente l'avantage d'une grande simplicité expérimentale, de plus, comme nous allons le démontrer ici (voir la section 3), elle permet de reconstruire la distribution de phase à la surface de l'objet.

De tels procédés d'holographie numérique sur supports d'enregistrement électroniques ont déjà été proposés pour des applications biomédicales, en longue cohérence, par Boyer *et al* [7], pour l'imagerie de cellules en transillumination et, par Coquoz *et al* [8], en combinaison avec la microendoscopie. En faible cohérence, mais avec une technique de reconstruction différente, Leith *et al* [9] et Chen *et al* [10] ont développé diverses techniques originales pour la vision à travers les milieux troubles en transillumination. Nous proposons ici une nouvelle méthode en retrodiffusion, inspirée de travaux récents [11] dans le domaine de l'holographie numérique que nous avons adapté en faible cohérence.

## 2. La technique expérimentale

Comme on peut le constater sur le schéma présenté à la figure 1, le montage expérimental consiste en un interféromètre de Michelson travaillant avec des faisceaux élargis. La source de lumière utilisée est un laser Ti:saphir pulsé pour les expériences en faible cohérence et un laser He-Ne pour les expériences en longue cohérence.

La première étape consiste à élargir le diamètre du faisceau émis par la source jusqu'à environ 2 cm au moyen d'un montage télescopique muni d'un filtre spatial. Ensuite, un cube séparateur partage la lumière en deux parties, d'une part pour illuminer l'objet et d'autre part pour former une onde de référence  $R$  par réflexion sur un miroir (M). La lumière retrodiffusée par l'échantillon forme l'onde objet  $O$  qui interfère avec l'onde de référence pour former l'hologramme. La longueur du trajet optique de l'onde de référence peut être ajustée au moyen d'une table de

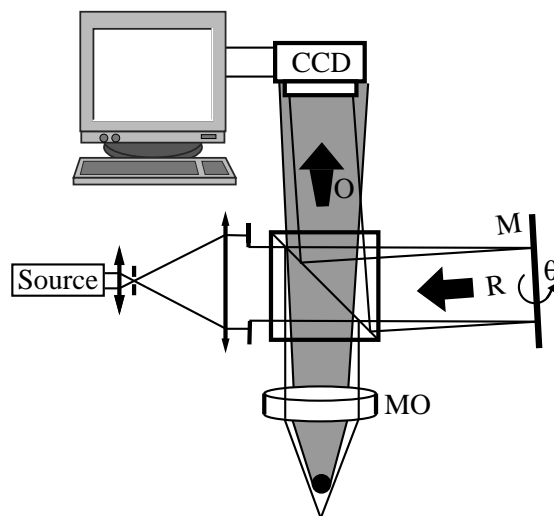


Figure 1. Montage expérimental pour l'holographie numérique.

Figure 1. Experimental set-up for numerical holography.

translation micrométrique couplée au miroir de référence (M). Un objectif de microscope (MO) situé en face de l'objet permet des observations microscopiques.

La distribution d'intensité dans le plan de l'hologramme,  $I_H(x, y) = |R + O|^2$  est enregistrée par la caméra CCD qui transmet à l'ordinateur, via une carte d'acquisition vidéo, un tableau  $I_H(k, l)$  comportant  $N_x \times N_y$  nombres entiers, codés sur 8 bits, qui résulte de la digitalisation bi-dimensionnelle de l'hologramme. Une caméra CCD standard, noir blanc et bon marché est utilisée. Sa surface photosensible compte  $N_x \times N_y = 768 \times 512$  pixels, répartis sur une surface de  $L_x \times L_y = 4,83 \times 6,47$  mm<sup>2</sup>. En pratique, seule la partie centrale de l'image enregistrée ( $512 \times 512$  pixels, surface  $L_x \times L_x$ ) est utilisée pour la reconstruction.

Selon un principe bien connu en holographie, pour que les différents ordres de diffraction générés lors de la reconstruction puissent être observés séparément, l'onde objet et l'onde de référence ne doivent pas être parallèles lors de l'enregistrement. Pour cette raison, le miroir n'est pas orienté perpendiculairement à la direction du faisceau incident et l'onde de référence tombe sur la caméra CCD avec un angle d'incidence  $\theta$ .

La conception d'une installation d'holographie numérique doit tenir compte de la faible résolution du support d'enregistrement utilisé. En effet, le pouvoir de résolution des émulsions photosensibles atteint facilement jusqu'à 2000 lignes mm<sup>-1</sup> alors que pour une caméra CCD, il se situe typiquement aux alentours de 200 lignes mm<sup>-1</sup>. De plus, la taille d'une puce CCD standard n'est que de quelques millimètres, alors que la taille d'une plaque photosensible peut atteindre plusieurs centimètres. Il résulte de ces deux limitations que la taille des objets dont on désire enregistrer l'hologramme est limitée. En d'autres termes, pour que la digitalisation de l'hologramme par la caméra CCD se fasse sans problèmes de sous-échantillonnage, il faut que la densité des franges d'interférence n'excède pas le pouvoir de résolution de la CCD. Comme l'espacement

entre les franges est inversement proportionnel à l'angle entre les directions de propagation des ondes qui interfèrent, la faible résolution du support d'enregistrement impose une valeur maximale pour l'angle  $\theta$ . Si on considère le cas de deux ondes planes, on a

$$\theta \leq \theta_{max} = \arcsin\left(\frac{\lambda}{4\Delta x}\right) \quad (1)$$

où  $\Delta x$  est la taille d'un pixel et  $\lambda$  la longueur d'onde. Dans notre cas, avec  $\Delta x = 9,4 \mu\text{m}$ , l'angle d'incidence entre les deux ondes doit être inférieur à  $\theta_{max} = 0,96^\circ$ , ce qui fixe une taille maximale d'environ 5 mm pour un objet situé à 30 cm de la caméra.

### 3. La reconstruction numérique des hologrammes

En holographie conventionnelle, l'hologramme est développé puis éclairé à nouveau par l'onde de référence dont la diffraction donne lieu à la propagation d'un front d'onde  $\Psi$  qui est une réplique exacte, en intensité et en phase, du front d'onde émis par l'objet pendant l'enregistrement. La méthode de reconstruction numérique que nous avons implémentée simule cette reconstruction optique en calculant l'intégrale de Fresnel du produit de la distribution d'intensité dans le plan de l'hologramme par l'onde de référence ( $R(x, y)I_H(x, y)$ ). L'algorithme utilisé consiste simplement en une formulation discrète

de la transformée de Fresnel. Pour gagner du temps de calcul, la double intégrale de Fresnel est remplacée par une transformée de Fourier bi-dimensionnelle par un simple changement de variable [11, 12]. L'expression analytique de l'algorithme utilisé est donnée par l'expression suivante:

$$\begin{aligned} \Psi(m\Delta\xi, n\Delta\eta) = & \exp\left(\frac{i\pi}{\lambda d}(m^2\Delta\xi^2 + n^2\Delta\eta^2)\right) \\ & \times \text{DFT}\left[ R(k\Delta x, l\Delta y)I_H(k, l) \right. \\ & \left. \times \exp\left(\frac{i\pi}{\lambda d}(k^2\Delta x^2 + l^2\Delta y^2)\right) \right]_{m,n} \end{aligned} \quad (2)$$

où DFT est l'opérateur de transformée de Fourier discrète,  $R(k\Delta x, l\Delta y)$  est un tableau de nombres complexes représentant l'onde de référence et  $d$  est la distance séparant le plan de l'hologramme  $0xy$  du plan d'observation  $0\xi\eta$ . Le temps nécessaire pour la reconstruction d'un hologramme de  $512 \times 512$  pixels avec l'algorithme (2) est d'environ 5 s sur un PC muni d'un microprocesseur Pentium Pro cadencé à 200 MHz.

Les intervalles d'échantillonnage dans le plan d'observation,  $\Delta\xi$  et  $\Delta\eta$  dépendent de la taille des pixels de la caméra CCD ( $\Delta x \times \Delta y$ ), de la longueur d'onde  $\lambda$  et de la distance de reconstruction  $d$  [11, 12]:

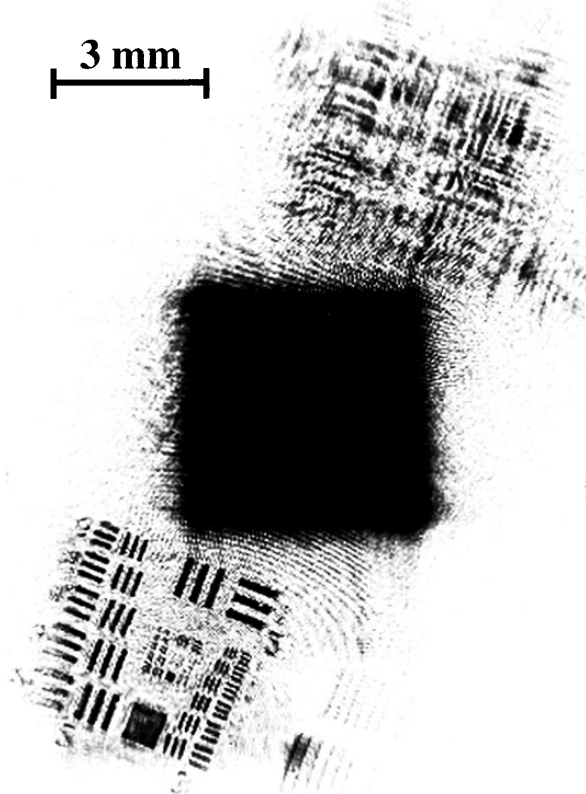
$$\Delta\xi = \frac{\lambda d}{N_x \Delta x} = \frac{\lambda d}{L_x} \quad (3)$$

$$\Delta\eta = \frac{\lambda d}{N_y \Delta y} = \frac{\lambda d}{L_y}. \quad (4)$$

Le front d'onde reconstruit  $\Psi(m\Delta\xi, n\Delta\eta)$  est un tableau de nombres complexes dont on peut extraire l'intensité et la phase en calculant respectivement le module et l'argument de chacun de ses éléments. La figure 2 présente un exemple typique de reconstruction en intensité, obtenue à partir d'un hologramme enregistré avec un laser He-Ne et une mire de test USAF en guise d'objet. Cet exemple a été obtenu sans objectif de microscope. La distance de reconstruction vaut  $d = 31,0$  cm.

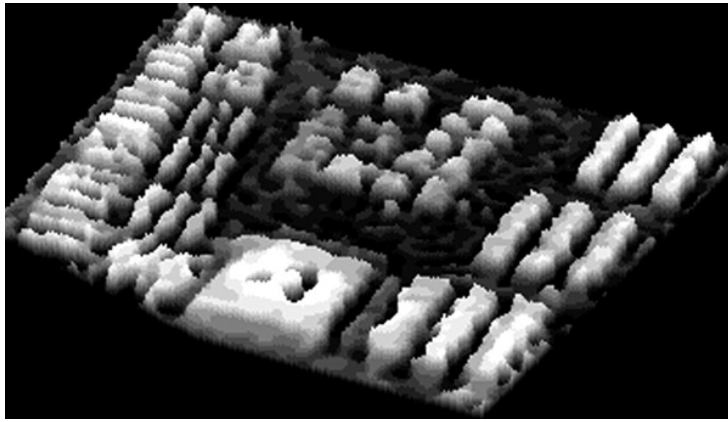
Le résultat obtenu (figure 2) est caractéristique de l'holographie *hors-axe*. Au centre de l'image, on observe la diffraction d'ordre zéro représentée par une distribution d'intensité carrée dont la taille est égale à celle de la caméra CCD. A droite en haut du plan reconstruit, on observe l'image jumelle et symétriquement par rapport au centre, l'image réelle focalisée qui reproduit le motif de la mire de test USAF.

Un exemple typique de reconstruction de phase est présenté en perspective 3D à la figure 3. La partie présentée correspond à l'image réelle de la figure 2. Pour obtenir ce type d'images en phase, il faut que le tableau complexe  $R(k\Delta x, l\Delta y)$  (voir l'équation (2)) représente de façon très précise l'onde de référence utilisée pour l'enregistrement. Plus précisément, l'incidence de l'onde de référence sur la caméra CCD doit être introduite dans le calcul par l'intermédiaire de deux paramètres angulaires, un pour l'azimut et l'autre pour l'incidence, dont les valeurs doivent être définies au centième de milliradian près. Cette information de phase donne une description complète de l'objet en trois dimensions et offre



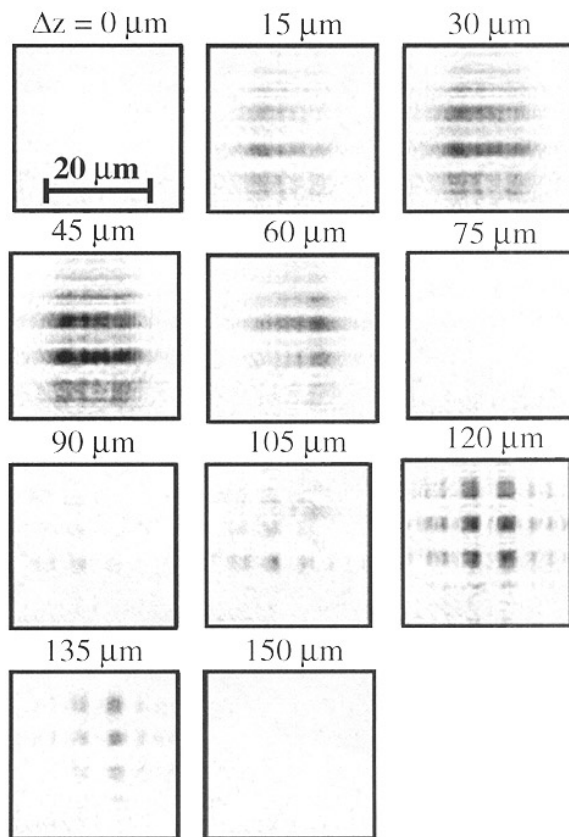
**Figure 2.** Un exemple type d'une image en intensité obtenue par reconstruction numérique.

**Figure 2.** A typical example of an intensity image obtained by numerical reconstruction.



**Figure 3.** Une représentation en perspective 3D de la reconstruction numérique de la distribution de phase dans la région de l'image réelle (l'épaisseur des éléments métallisés est inférieur à 100 nm).

**Figure 3.** A representation in 3D perspective of the numerical reconstruction of the phase distribution in the region corresponding to the real image (the thickness of the metallized pattern is less than 100 nm).



**Figure 4.** Tomographie optique en faible cohérence d'une scène 3D composée de deux cibles réfléchissantes.

**Figure 4.** Optical tomography with a low-coherence source. The 3D scene is composed of two reflective targets.

de nouvelles perspectives dans le domaine de la mesure très précise ( $\cong \lambda/10$ ) de déformations [13]. Cette possibilité intéressante de reconstruction en phase est spécifique à la méthode de reconstruction numérique que nous utilisons et la différence des technique OCT standards qui ne détecte que l'intensité retrodiffusée.

#### 4. La tomographie d'une scène 3D

Les résultats présentés à la figure 4 ont été obtenus en utilisant un laser Ti:saphir pulsé comme source faiblement cohérente. La durée des impulsions est de 80 fs, ce qui correspond à une longueur de cohérence d'environ 25  $\mu\text{m}$ . La scène 3D tomographiée se compose de deux cibles de test distantes de 70  $\mu\text{m}$  en profondeur et orientées perpendiculairement l'une par rapport à l'autre. Les deux cibles sont munies de lignes métallisées réfléchissantes au nombre de 200 lignes  $\text{mm}^{-1}$ . Un objectif de microscope d'ouverture numérique  $\text{NA} = 0,35$  et de distance focale  $f = 8 \text{ mm}$  a été utilisé. La distance entre l'objet et l'objectif est 7,75  $\mu\text{m}$  et la distance entre l'objectif et la caméra CCD est d'environ 15 cm. Dans cette configuration, l'image produite par l'objectif de microscope est virtuelle et focalisée loin de la caméra CCD. La distance de reconstruction correspondante est d'environ 1,5 m. La figure 4 présente une série de clichés obtenus par reconstruction numérique d'hologrammes enregistrés pour différentes positions du miroir réfléchissant l'onde de référence. La première image fait office de position de référence ( $\Delta z = 0 \mu\text{m}$ ); elle correspond au cas pour lequel le miroir est trop proche du cube diviseur pour permettre l'enregistrement d'un hologramme avec le rayonnement émis par la première mire. Les dix images suivantes ont été reconstruites à partir d'hologrammes enregistrés en reculant à chaque fois le miroir de 15  $\mu\text{m}$ . On constate que la première mire qui est orientée horizontalement apparaît le mieux pour  $\Delta z = 45 \mu\text{m}$  et que rien n'est reconstruit pour  $\Delta z = 75 \mu\text{m}$  qui correspond au cas pour lequel on se situe exactement entre les deux cibles. La seconde mire apparaît le plus clairement  $\Delta z = 120 \mu\text{m}$ . On constate qu'elle est masquée par la première mire et qu'on ne reconstruit ses lignes réfléchissantes que par segments.

On constate sur le résultat de la figure 4 que les deux cibles, qui sont séparées de 70  $\mu\text{m}$ , sont parfaitement résolues en profondeur et que chacune d'elles est visible sur un intervalle d'environ 45  $\mu\text{m}$ . Au vu de ces résultats, il apparaît clairement que deux cibles espacées de moins de

25  $\mu\text{m}$  deviendraient indistinguables, donc que la limite de résolution en profondeur de la méthode est égale à la longueur de cohérence. Dans le plan transverse, les 200 lignes  $\text{mm}^{-1}$  des mires utilisées étant parfaitement résolues, on peut dire que la limite de résolution latérale est inférieure à 5  $\mu\text{m}$ . Des études menées avec une mire de test USAF [14] ont montré qu'une résolution latérale égale à la limite de diffraction de l'objectif de microscope utilisé, soit 2,2  $\mu\text{m}^{-1}$ , est possible avec cette technique.

## 5. Conclusion

Nous avons montré que la méthode de reconstruction numérique que nous avons utilisée est réellement une technique d'imagerie holographique en trois dimensions puisqu'elle permet la reconstruction des distributions d'intensité et de phase à la surface de l'objet. L'algorithme de reconstruction est robuste, fiable et rapide. 5 s suffisent pour la reconstruction d'un hologramme de  $512 \times 512$  pixels par un ordinateur personnel équipé d'un microprocesseur cadencé à 200 MHz. La conception du montage expérimental dans la géométrie *hors-axe* doit tenir compte de la faible résolution de la caméra CCD qui impose une valeur maximale pour l'angle d'incidence de l'ordre d'un degré.

L'utilisation d'une source faiblement cohérente permet d'effectuer la tomographie d'une scène tridimensionnelle sans balayage latéral. Le balayage en profondeur s'effectue simplement en modifiant la position du miroir de référence le long d'un seul axe. En utilisant un laser Ti:saphir pulsé émettant des impulsions d'une durée de 80 fs, la tomographie d'une scène 3D a été effectuée avec une résolution en profondeur de l'ordre de la longueur de cohérence (25  $\mu\text{m}$ ). La résolution latérale est égale à la limite de diffraction de l'objectif de microscope utilisé.

## Remerciements

Ces travaux de recherches ont été financés par le Fond National Suisse de la Recherche Scientifique (subside FN 2053-049628.96/1). Nous remercions Laure Montandon, Frédéric Bevilaqua, Olivier Coquoz et Ramiro Conde pour leurs remarques intéressantes à propos du manuscrit et pour

les discussions que nous avons eu le loisir de partager avec eux.

## Références

- [1] de Haller E B 1996 Time-resolved transillumination and optical tomography *J. Biomed. Opt.* **1** 7
- [2] Fercher A F 1996 Optical coherence tomography *J. Biomed. Opt.* **1** 157
- [3] Clivaz X, Marquis-Weible F, Salathé R P, Novák R P and Gilgen H H 1992 High-resolution reflectometry in biological tissues *Opt. Lett.* **17** 4
- [4] Tearney G J, Bouma B E, Boppart S A, Golubovic B, Swanson E A and Fujimoto J G 1996 Rapid acquisition of *in-vivo* biological images by use of optical coherence tomography *Opt. Lett.* **21** 1408
- [5] Tearney G J, Boppart S A, Bouma B E, Brezinski M E, Weissman N J, Southern J F and Fujimoto J G 1996 Scanning single-mode fiber optic catheter-endoscope for optical coherence tomography *Opt. Lett.* **21** 543
- [6] Hyde S C W, Barry N P, Jones R, Dainty R C and French P M W 1995 Sub-100- $\mu\text{m}$  depth-resolved holographic imaging through scattering media in the near infrared *Opt. Lett.* **20** 2330
- [7] Boyer K, Solem J C, Longworth J W, Borisov A B and Rhodes C K 1996 Biomedical three-dimensional holographic microimaging at visible, ultraviolet and x-ray wavelengths *Nature Med.* **2** 939
- [8] Coquoz O, Conde R, Taleblou F and Depeursinge C 1995 Performances of endoscopic holography with a multicore optical fiber *Appl. Opt.* **34** 7186
- [9] Leith E, Chen C, Chen H, Chen Y, Dilworth D, Lopez J, Rudd J, Sun P-C, Valdmanis J and Vossler G 1992 Imaging through scattering media with holography *J. Opt. Soc. Am. A* **9** 1148
- [10] Chen H, Shih M, Arons E, Leith E, Lopez J, Dilworth D and Sun P C 1994 Electronic holographic imaging through living human tissue *Appl. Opt.* **33** 3630
- [11] Schnars U et Jüptner W 1994 Direct recording of holograms by a CCD target and numerical reconstruction *Appl. Opt.* **33** 179
- [12] Yaroslavskii L P et Merzlyakov N S 1989 *Methods of Digital Holography* traduction de la langue russe par D Parsons (New York: Consultants Bureau)
- [13] Schnars U 1994 Direct phase determination in hologram interferometry with use of digitally recorded holograms *J. Opt. Soc. Am. A* **11** 2011
- [14] Cuche E, Poscio P and Depeursinge C 1996 Optical tomography at the microscopic scale by means of a numerical low coherence holographic technique *Proc. SPIE* **2927** 61