



HAL
open science

Microscope tomographique diffractif: simplification des acquisitions et reconstructions numériques associées

Ludovic Foucault

► **To cite this version:**

Ludovic Foucault. Microscope tomographique diffractif: simplification des acquisitions et reconstructions numériques associées. Optique / photonique. Université de Haute Alsace - Mulhouse, 2019. Français. NNT: 2019MULH2881 . tel-03649282

HAL Id: tel-03649282

<https://theses.hal.science/tel-03649282>

Submitted on 22 Apr 2022

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

École doctorale MSII ED269
IRIMAS

THÈSE DE DOCTORAT présentée par

Ludovic FOUCAULT
soutenue le 27 août 2019

En vue de l'obtention du titre de **Docteur de l'Université de Haute-Alsace**
Spécialité : traitement du signal

**MICROSCOPE TOMOGRAPHIQUE DIFFRACTIF :
SIMPLIFICATION DES ACQUISITIONS ET
RECONSTRUCTIONS NUMÉRIQUES ASSOCIÉES**

Thèse dirigée par

HAEBERLÉ Olivier Pr., IRIMAS (Mulhouse)

Examineurs

PICART Pascal Pr., ENSIM/LAUM (Le Mans)

LEBRUN Denis Pr., Coria (Rouen)

Rapporteurs

FOURNIER Corinne MdC. (HdR), Laboratoire Hubert Curien (Saint Étienne)

GIOVANNINI Hugues Pr., Institut Fresnel (Marseille)

Autres membres du jury

VERRIER Nicolas MdC., IRIMAS (Mulhouse)

SIMON Bertrand MdC., LP2N (Bordeaux)

DEBAILLEUL Matthieu IR., IRIMAS (Mulhouse)

École doctorale MSII ED269
IRIMAS

THÈSE DE DOCTORAT présentée par

Ludovic FOUCAULT
soutenue le 27 août 2019

En vue de l'obtention du titre de **Docteur de l'Université de Haute-Alsace**
Spécialité : traitement du signal

**MICROSCOPE TOMOGRAPHIQUE DIFFRACTIF :
SIMPLIFICATION DES ACQUISITIONS ET
RECONSTRUCTIONS NUMÉRIQUES ASSOCIÉES**

Thèse dirigée par

HAEBERLÉ Olivier

Pr., IRIMAS (Mulhouse)

Examineurs

PICART Pascal

Pr., ENSIM/LAUM (Le Mans)

LEBRUN Denis

Pr., Coria (Rouen)

Rapporteurs

FOURNIER Corinne

MdC. (HdR), Laboratoire Hubert Curien (Saint Étienne)

GIOVANNINI Hugues

Pr., Institut Fresnel (Marseille)

Autres membres du jury

VERRIER Nicolas

MdC., IRIMAS (Mulhouse)

SIMON Bertrand

MdC., LP2N (Bordeaux)

DEBAILLEUL Matthieu

IR., IRIMAS (Mulhouse)

*« Il y a quelque chose de plus fort que la mort,
c'est la présence des absents,
dans la mémoire des vivants. »*

Jean d'Ormesson

À mamie,
à maman.

REMERCIEMENTS

EN arrivant en première année de licence de physique-chimie, j'ai su que je voulais être dans la recherche publique, mais je ne m'attendais pas à ce qu'il me fallut un doctorat pour pouvoir en faire. On m'a même dit une fois « Attention, une thèse, c'est un véritable sacerdoce ! » « M'en fous, j'suis athée. » Ce choix de carrière, je n'y renoncerai jamais, même en ayant passé les pires années de ma vie en thèse. Tout bonnement puisque j'y ai aussi passé les meilleures, principalement grâce aux gens qui m'ont entouré pendant ces quatre ans.

Tout d'abord, je tiens à remercier chaleureusement Olivier Haeberlé, mon directeur de thèse et directeur de l'IRIMAS, pour m'avoir permis de réaliser mes travaux de thèse au sein de son équipe de recherche d'Imagerie Microscopique 3D et Traitement d'Image (IMTI). Avec un supérieur qui apporte des bières et paie souvent son coup, l'Alsace a de beaux jours devant elle. Merci aussi beaucoup à Bertrand Simon, mon premier encadrant, qui a préféré retourner au pays du cannelé doré plutôt que de rester à manger de luisants spaetzle. Bizarre...

Je remercie également monsieur Hugues Giovannini, professeur à l'IUT de Marseille et madame Corinne Fournier, maître de conférences (HdR) à l'Université de Saint Étienne, d'avoir accepté d'être rapporteurs de mon manuscrit. De même que messieurs Pascal Picart, professeur à l'Université du Mans, et Denis Lebrun, professeur à l'Université de Rouen, soient remerciés pour avoir accepté le rôle d'examineurs lors de ma soutenance de thèse.

Je remercie évidemment Nicolas Verrier, tonton Nico, « tu sais pas, tu demandes », ce Normand qui a bien travaillé ma répartie et mon sens de l'humour, tous deux *bretons* bien évidemment. Je repars avec nombre de souvenirs, impérissables car sur Youtube pour la plupart. Merci aussi à Matthieu Debailleul, alias Stéphane Debauleul, notre BITOS du Nord, ingénieur de recherche de qualité trois étoiles/top moumoute, qui m'a appris tout ce qu'il y a à savoir sur la tomo et les coups de billard à trois bandes. Finalement, j'aurai soutenu avant que tu n'achètes !

Un grand merci à tous les collègues du couloir : Bruno et JB pour votre aide à la compréhension de la déconvolution et des problèmes inverses (Bruno, je continuerai à suivre Bill et John, ne t'inquiète pas) ; Stéphane pour ta connaissance profonde du terroir musical français, le Julien Lepers de la mélodie, le Philippe Risoli de la chanson, le Julien Courbet de la symphonie ; Ali pour tes conseils en muscu et en communisme (surtout en muscu en fait) ; Sophie, Christophe, Hakim, Patrice, Alain, Anis, Djaffar et celles et ceux que j'ai pu oublier.

Merci aussi à Samia pour nous avoir aidé avec la profilométrie. T'inquiète, une fois parti, tu seras seule avec Matthieu pour bosser sur un code non commenté et que je n'ai pas touché depuis presque deux ans, wouhou !

Je remercie Patrick Alliot de l'ENSISA pour m'avoir donné du Java, je pense qu'un étudiant s'en souviendra plus que moi ; Alexis Boehrer, qui m'a permis de m'accepter et de retrouver la personne que j'étais, beaucoup de chemin a été parcouru depuis. Je remercie également les collègues de l'administration avec qui j'ai passé de bons moments. Je me suis réveillé un peu tard, excusez-moi.

Tri Du, Georges Clooney et monsieur Bernard, je ne vous oublie pas, je me suis retrouvé grâce à vous dans l'arbre magique de la connaissance à devoir aspirer tout ce savoir scientifique, l'extase.

Je pense aussi évidemment à mes amis qui, durant ces quatre années (et plus en fait), m'ont soutenu voire supporté, preuve que ce ne sont pas des copains, mais des amis : Pauline, Adrien, Emma, Kévin, Soizig, Manon, je vous remercie infiniment.

Merci finalement à ma famille : papa, Yannou, tata, papi, grand-père, et celles qui nous ont quitté, mamie et maman. Je sais que je n'ai pas toujours été facile durant ces quatre années... mais je ne suis pas le seul, Foucault oblige !

Je remercie encore une fois l'ensemble des membres du laboratoire IRIMAS de Mulhouse, où, malgré les difficultés actuelles de la recherche publique en France, l'ambiance est excellente. Mon historique Youtube un peu moins...

TABLE DES MATIÈRES

LISTE DES FIGURES	PAGE V
-------------------	--------

LISTE DES ABRÉVIATIONS	PAGE XI
------------------------	---------

INTRODUCTION	PAGE 1
--------------	--------

ÉTAT DE L'ART	PAGE 7
---------------	--------

1 Principe de l'holographie	7
1.1 Holographie à chemin commun	8
1.2 Holographie hors-axe	9
1.3 Holographie en ligne	10
1.4 Limitations	13
2 Microscopie tomographique diffractive	13
2.1 Principes	13
2.2 Implémentation	17
2.3 Amélioration de la résolution	19
2.3.1 Rotation d'illumination	19
2.3.2 Variation de la longueur d'onde	21
2.3.3 Rotation de l'objet	22
2.3.4 Fonction de transfert optique	24
2.4 Influence de l'ouverture numérique	25
2.5 Approches combinées	26
2.5.1 Rotation d'illumination multi-spectrale	26
2.5.2 Rotations d'illumination et du spécimen	27
2.5.3 Combinaison transmission – réflexion	29
2.6 Processus de reconstruction	30
3 Conclusion	31

SIMPLIFICATIONS DES RECONSTRUCTIONS	PAGE 37
-------------------------------------	---------

1 Introduction	37
1.1 Problématique	38
1.2 Transformée d'Abel inverse	38
1.2.1 État de l'art	38
1.2.2 Transformée de Fourier-Hankel modifiée	39
1.2.3 Résultats	41

2	Reconstruction par rotation numérique	41
2.1	Dispositif expérimental	42
2.2	Cas d'une fibre de longueur infinie	44
2.2.1	Méthode	44
2.2.2	Simulations	45
2.2.3	Influence de la position de la calotte	46
2.2.4	Influence du bruit	48
2.2.5	Prise en compte de la réalité expérimentale	49
2.3	Cas d'une fibre de longueur finie	50
2.3.1	Méthode	50
2.3.2	Simulations	50
2.3.3	Remplissage fréquentiel	53
2.3.4	Application à des données expérimentales	55
2.3.5	Reconstruction avec défauts	57
3	Échantillonnage et interpolation	58
3.1	Type d'interpolation	58
3.2	Taille des images	59
4	Conclusion	60

CHAPITRE 3

SIMPLIFICATION DES ACQUISITIONS : TOMOGRAPHIE ASSISTÉE PAR MIROIR PAGE 65

1	Techniques d'extension de l'OTF	65
1.1	Choix du balayage	66
1.2	Rotation d'illumination à ouverture numérique limitée	66
1.3	Rotation d'illumination azimutale	68
1.4	Utilisation des propriétés de l'échantillon	71
2	Symétrie hermitienne	72
2.1	Problématique	72
2.2	Simulations	72
2.3	Reconstructions expérimentales	73
2.4	Conclusion	74
3	Tomographie assistée par miroir	74
3.1	Travaux antérieurs	74
3.1.1	Principe	74
3.1.2	Transformée en cosinus	76
3.2	MTD assistée par miroir simplifiée	77
3.2.1	Simplifications	77
3.2.2	Simulations	78
3.3	Validation expérimentale	80
3.3.1	Montage expérimental	80
3.3.2	Calibrage du déphasage	81
3.3.3	Premiers résultats avec un miroir d'or	82
3.3.4	Effet de la focalisation	83
3.3.5	Rotation d'illumination complète	84
4	Conclusion	85

CHAPITRE 4

SIMPLIFICATION DE LA MESURE DE PHASE PAGE 89

1	Motivations	89
2	Généralités sur les analyseurs de front d'onde	90
2.1	Masque de Hartmann	90
2.2	Analyseur de courbure	90
2.3	Analyseur à pyramide	91
2.4	Analyseur de Shack-Hartmann	92
2.5	Analyseur interférométrique	92

3	Interférométrie à décalage multilatéral à quatre ondes	94
3.1	Obtention des interférences	94
3.2	Démodulation	95
4	Application expérimentale	97
4.1	Montage	97
4.2	Premiers résultats	97
4.3	Conclusion	98

CHAPITRE 5

CONCLUSION ET PERSPECTIVES	PAGE 101
-----------------------------------	-----------------

ANNEXES	PAGE I
----------------	---------------

A	Approximation de Rytov	I
B	Rétroprojection	III
C	Liste des publications	V

BIBLIOGRAPHIE	PAGE XLIII
----------------------	-------------------

LISTE DES FIGURES

1.1	Principe de l'holographie	8
1.2	Principe de l'holographie à chemin commun	8
1.3	Schéma de montage d'holographie hors-axe	9
1.4	(a) Interférogramme d'une bille obtenu grâce au montage d'holographie hors axe. (b) Transformée de Fourier de l'hologramme avec séparation des ordres de diffraction grâce à l'angle introduit par le miroir	10
1.5	(a) Schéma de principe du microscope holographique en ligne à décalage de phase. (b) Interférogramme de bactéries (en haut) obtenu en holographie en ligne ; spectre de Fourier correspondant en bas	11
1.6	Interférogrammes d'un micromètre objectif obtenus en holographie à décalage de phase pour (a) $\phi = 0$, (b) $\pi/2$, (c) π et (d) $3\pi/2$	12
1.7	Diatomée en reconstruite en holographie	13
1.8	Représentation de la fonction de Green	14
1.9	Principe de détection du champ diffracté en réflexion et en transmission	17
1.10	Supports fréquentiels obtenus par holographie en réflexion et en transmission	17
1.11	Photo du montage de MTD en transmission	18
1.12	Photo du montage du MTD en réflexion	18
1.13	Schéma 2D représentant (a) la méthode de rotation d'illumination. Support de fréquences obtenu (b) en transmission et (c) en réflexion	19
1.14	Diatomée obtenue (a) par holographie et (b) par tomographie en rotation d'illu- mination. (c) Images en champ large, microscopie électronique, tomographie et confocal de fibres de carbone	20
1.15	(a) Schéma du montage de tomographie verticale à six vues réalisé à l'ONERA. (b) Reconstruction de la densité d'un jet stationnaire d'hélium	20
1.16	Images obtenues en MTD en réflexion. (a),(b) Grille micrométrique réfléchissante pour respectivement 2 et 4 angles azimutaux orthogonaux. (c)–(d) Reconstruction en réflexion d'une mire USAF en holographie et en MTD respectivement	21
1.17	(a) Représentation du changement de longueur d'onde d'illumination, pour deux valeurs de k_i . (b),(c) coupes en transmission et en réflexion	21
1.18	(a),(b) Reconstruction de deux objets en MTD en transmission avec variation de la longueur d'onde. (c),(d) Coupes des plans transverse ($x-y$) et axial ($x-z$) d'un globe rouge en réflexion	22

1.19	(a) Schéma en transmission de la rotation de l'objet d'un angle θ . (b),(c) support fréquentiel obtenu après de multiples rotations	23
1.20	(a) Montage du MTD avec microcapillaire en haut et reconstructions d'une microsphère de PMMA en bas. À gauche l'image sans correction, à droite l'image corrigée. (b) Montage avec pinces optiques en haut, reconstruction de 8 microsphères suivant différents temps d'acquisition en bas.	23
1.21	(a) Schéma de montage de tomographie en rotation d'objet, ici d'air. (a) Reconstruction 3D du jet d'air	24
1.22	MTF pour les systèmes d'imagerie incohérente, holographique et tomographiques	25
1.23	Influence de l'ouverture numérique sur l'injection et la collection	26
1.24	Représentation de la calotte de sphère limitée par l'ouverture numérique en réflexion et en transmission	26
1.25	Coupes des OTF obtenues par rotation (a) d'illumination et (b) de spécimen dans le cas d'un angle maximal de $67,5^\circ$. (c) Spectre obtenu avec un rapport de 0,5 entre les deux ouvertures numériques	27
1.26	Reconstruction en MTD avec rotation d'illumination d'une cible avec (a) d'une seule longueur d'onde et (b) 5 longueurs d'onde. (c) OTF associée au balayage d'illumination avec 3 longueurs d'onde	27
1.27	(a) Fonction de transfert optique obtenue par rotation d'illumination. (b) Effet de la rotation de l'objet sur son spectre. (c) Combinaison de (a) et (b). (d) Rotation de l'objet après une rotation d'illumination complète. (e) Fonction de transfert optique finale par fusion de 5 positions angulaires de l'objet	28
1.28	Reconstruction de la pointe de fibre avec rotations d'illumination et de spécimen.	29
1.29	OTF enregistrable dans un système tomographique couplant transmission et réflexion avec deux objectifs	29
1.30	Schéma du processus de reconstruction tomographique dans le cas d'une rotation d'illumination en transmission (en haut) et en réflexion (en bas)	30
1.31	Fusion des fréquences dans l'espace de Fourier	31
2.1	(a) Spectre d'émission d'un plasma d'argon. (b) Carte de phase obtenue en interférométrie. (c) Reconstruction de la variation d'indice optique d'un gaz.	39
2.2	Reconstruction 3D de l'objet en utilisant la méthode d'inversion d'Abel	39
2.3	Comparaison des reconstructions en MFH pour différentes valeurs de η	41
2.4	Schéma du MTD au laboratoire	42
2.5	(a) OTF d'un microscope holographique. (b) OTF d'un MTD en rotation d'illumination. (c) OTF d'un MTD en rotation d'échantillon. (d) OTF pour une combinaison des deux rotations	43
2.6	Correspondance de la rotation d'un angle θ entre les espaces direct et fréquentiel	44
2.7	Principe de la méthode FINER de reconstruction pour des échantillons infiniment longs selon l'axe de rotation	44
2.8	(a) Spectre fréquentiel 2D dans le cas d'une acquisition holographique. (b) Rotation numérique de l'arc de cercle. (c) Support fréquentiel final après fusion	45
2.9	Illustration des méthodes de reconstruction par rotation numérique des données	46
2.10	Reconstruction via DINER et FINER de différents types de fibres optiques de cœur et cladding variables pour 360 angles	47

2.11	Comparaison des reconstructions en utilisant un spectre centré ou décalé	48
2.12	Représentation logarithmique du SNR en décibels en fonction du nombre d'angles de rotation	49
2.13	Comparaison des reconstructions entre (a) DINER 2D, (b) DINER 3D avec moyenne sur tous les plans p , (c) FINER 2D et (d) FINER 3D avec moyenne sur tous les plans p pour 360 angles	50
2.14	(a) Cylindre d'origine et (b) sa reconstruction via la méthode FINER. (c) OTF correspondante	51
2.15	Principe de la méthode de reconstruction (F)-TINER pour des échantillons finis selon l'axe de rotation.	51
2.16	Reconstruction d'une fibre de longueur finie en holographie, TINER et F-TINER	52
2.17	Reconstructions en fonction du remplissage de l'espace de Fourier à nombre d'angles de rotation numérique constant	53
2.18	Reconstructions en fonction du remplissage de l'espace de Fourier à nombre d'angles d'illumination constant	54
2.19	Reconstruction dans l'approximation de Rytov d'une fibre optique étirée en MTD avec rotation d'illumination, rotation de spécimen et rotation numérique des données	56
2.20	Reconstruction d'un échantillon présentant un défaut d'indice optique 1,51	57
2.21	Trois types d'interpolation utilisées lors d'une rotation	58
2.22	Cartes d'erreur relative pour les méthodes DINER et FINER pour trois types d'interpolation : (a) plus proches voisins, (b) bilinéaire et (c) bicubique. (d) Profils correspondant	59
2.23	Cartes d'erreur relative pour les méthodes DINER et FINER pour quatre tailles d'images : (a) 512, (b) 1024, (c) 4096 et (d) 8192 pixels de côté. (e) Profils correspondant	60
2.24	(a) Fibres de soie d'araignée. (b) Microrésonateurs autour de fibres de silice. (c) Micro-capillaire en champ proche et en microscopie HiLo. (d) Pont de Taylor à différents temps d'enregistrement	61
3.1	Différents types de balayages	66
3.2	Spectres, capacités et RMSE respectives pour différents types de balayage	67
3.3	OTF d'un MTD dans les cas où (a) $NA_{\text{cond}} = NA_{\text{obj}}$ et (b) $NA_{\text{cond}} < NA_{\text{obj}}$	67
3.4	Spectres fréquentiels pour 5 et 600 angles de rotation d'illumination	67
3.5	Spectres fréquentiels pour des rapports d'ouvertures numériques de (b) 0,5 et (c) 0,8	68
3.6	Reconstructions d'un hépatocyte suivant différents algorithmes	69
3.7	(a) OTF en MTD par rotation d'illumination classique. (b) Support fréquentiel enregistré dans le cas d'une rotation azimutale de l'illumination à un angle quelconque et (c) à l'angle maximal α_m permis par l'objectif.	69
3.8	Comparaison des reconstructions de cellules de joue via leurs spectres fréquentiels respectifs	70
3.9	(a)–(b) Spectres fréquentiels enregistrés pour 360 acquisitions à 48°. (c)–(f) Reconstructions en utilisant la contrainte de positivité de l'indice et (g)–(j) un algorithme de variation totale.	71
3.10	Doublement de l'OTF grâce à la symétrie hermitienne	71
3.11	Comparaison des reconstructions d'un objet non absorbant en utilisant la symétrie hermitienne	73

3.12	Profils des différentes reconstructions	73
3.13	(a) Bille de silice obtenue en MTD avec rotation d'illumination complète. (b) Reconstruction en rotation azimutale seule. (c) Reconstruction en rotation azimutale avec symétrie hermitienne. (d) Profils respectifs	74
3.14	(a) Schéma du montage d'un microscope 4π en fluorescence [1] et (b) OTF enregistrable dans un tel système	75
3.15	(a) Schéma de principe de la combinaison de transmission et de réflexion. (b) OTF correspondante dans le cas d'une acquisition tomographique avec rotation d'illumination. Reconstructions (c) en transmission seule, (d) réflexion seule et (e) avec l'effet miroir	76
3.16	Représentation schématique de coupes d'enregistrement d'OTF (a) dans le cas d'illuminations séparées et (b) via l'utilisation de l'effet miroir	78
3.17	Résultats de la simulation en MTD assistée par miroir suivant les différents types de balayage d'illumination	79
3.18	Schéma de la méthode de démodulation proposée	80
3.19	Profils de réfraction et d'absorption comparant la simulation avec la reconstruction démodulée	80
3.20	Représentation schématique du montage de MTD	81
3.21	Bille reconstruite (a) avant démodulation et (b) après démodulation. (c) Profils respectifs	82
3.22	Principe de l'illumination de Köhler dans un dispositif en réflexion	83
3.23	Reconstructions suivant différents plans de focalisation (a) sur la bille, (b) entre la bille et sa réplique ou (c) sur la réplique	84
3.24	Microcristaux obtenus avec une rotation complète de l'illumination à différents angles d'observation	85
3.25	Comparaison des reconstruction entre un dispositif de MTD (a) assisté par miroir et (b) en transmission classique. (c) Profils respectifs	85
4.1	(a) Principe de l'analyseur de Hartmann. (b) Images obtenues avec une onde plane et une onde sphérique	90
4.2	Schéma de principe de l'analyseur de courbure	91
4.3	Images de l'atmosphère obtenues à l'aide d'un télescope à quatre distances du plan focal	91
4.4	À gauche : schéma de principe de l'analyseur à pyramide. À droite : imagerie de l'atmosphère obtenue à l'aide d'un télescope	92
4.5	Schéma de principe de l'analyseur de Shack-Hartmann	93
4.6	(a) L'analyseur interférométrique diffracte l'onde incidente suivant principalement trois ordres. (b) Graphe représentant la dispersion des ordres	93
4.7	Ajout du masque de phase (de pas $2p$) au réseau carré à deux dimensions (de pas p)	94
4.8	(a) Spectre à une dimension obtenu grâce à l'ajout du masque de phase. (b) Principe d'obtention des franges d'interférences (zone commune grisée) générées par les quatre ondes diffractées	95
4.9	Principe de reconstruction des images du Phasics® SID4Bio.	96
4.10	Montage de MTD avec analyseur de front d'onde Phasics® SID4Bio	97

4.11	(a) Reconstruction holographique d'une bille de $8\ \mu\text{m}$ de diamètre. (b) Reconstruction en MTD avec rotation d'illumination. (c) Profils d'indice normalisé correspondant	. 98
5.1	(a) Graphique de réflectance des éléments or et argent en fonction de la longueur d'onde. (b) Images de microcristaux en MTD assistée par miroir 102
5.2	Effet de lentille dû à la symétrie de la bille. Les rayons traversant la bille sont focalisés autour du point F 102
5.3	Géométrie représentative du lien entre l'angle d'arrivée α et de sortie α' du condenseur (a.o. : axe optique) 103
5.4	Schéma simplifié de la réflexion d'un faisceau incident par une surface rugueuse	. . 104
5.5	Reconstruction d'une mire USAF réfléchissante en profilométrie multiangle 106
5.6	Comparaison des reconstructions d'une bille de $10\ \mu\text{m}$ avec les approximations (a) de Born et (b) de Rytov II
5.7	(a) Schéma de principe de la projection : p_θ correspond à la somme des intégrales en ligne suivant une orientation θ . (b) Pour chaque orientation, la transformée de Fourier est calculée et tournée de l'angle opposé III
5.8	(a) Fantôme de Shepp-Logan. Rétroprojections avec (b) 50, (c) 100 et (d) 180 angles	. IV

LISTE DES ABRÉVIATIONS

AFO	Analyseur de front d'onde
CCD	<i>charge-coupled device</i>
CMOS	<i>Complementary metal-oxide-semiconductor</i>
CR	Cube recombineur
CS	Cube séparateur
DC	Diaphragme de champ
DHM	Microscope holographique numérique (<i>digital holographic microscope</i>)
DO	Diaphragme d'ouverture
FFT	<i>Fast Fourier Transform</i>
IRIMAS	Institut de Recherches en Informatique, Mathématiques, Automatique et Signal
MTD	Microscope tomographique diffractif
MTF	Fonction de transfert de modulation (<i>modulation transfer function</i>)
NA	Ouverture numérique (<i>numerical aperture</i>)
OPD	Différence de chemin optique (<i>optical path difference</i>)
OTF	Fonction de transfert optique (<i>optical transfer function</i>)
PSF	Fonction d'étalement du point (<i>point spread function</i>)
PhTF	Fonction de transfert de phase (<i>phase transfer function</i>)
QWLSI	Interféromètre à décalage multilatéral à quatre ondes (<i>quadri-wave lateral shearing interferometer</i>)
RMSE	Racine de l'erreur quadratique moyenne (<i>Root-mean-square error</i>)
SF	Séparateur de faisceau
SNR	Rapport signal sur bruit (<i>signal-to-noise ratio</i>)

AFIN d'analyser les mondes de l'infiniment petit et infiniment grand, des outils optiques de plus en plus complexes ont été développés durant des siècles. Utilisé aujourd'hui notamment dans le textile [2], la microélectronique [3], la biologie [4] ou la chimie [5], le microscope est l'un des systèmes optiques les plus utilisés dans le domaine scientifique.

Dans le cas d'un microscope en transmission d'intensité, l'expérimentateur illumine l'objet à étudier, la lumière le traversant passant ensuite dans l'objectif. L'image de l'échantillon se forme alors sur la rétine de l'œil grâce à l'oculaire et au cristallin. Si le microscope est monté en réflexion, l'injection de lumière se fait par l'objectif : l'onde lumineuse est réfléchiée par le spécimen puis renvoyée vers le même objectif, pour là encore se former sur l'œil. Ce type de dispositif, bien que permettant d'observer des objets souvent trop épais pour un microscope en transmission, a l'inconvénient de ne donner que des informations sur la surface des échantillons.

Une alternative à la microscopie en transmission classique a été développée par Frederik Zernike dans les années 1930 et pour laquelle il a obtenu le prix Nobel de physique en 1953^a : le microscope à contraste de phase. En plaçant un anneau troué avant le condenseur, l'illumination prend la forme d'un cône de lumière, faisant apparaître une rampe de phase. La lumière diffractée (donc déphasée) par le spécimen passe par un objectif puis par une lame de phase, placée dans le plan focal arrière de ce dernier, et dont le motif est complémentaire à celui de l'anneau. On obtient alors des interférences entre l'onde d'illumination et l'onde diffractée [6,7].

Ce microscope étant le précurseur de la microscopie de phase grâce à l'exploitation de la polarisation et des interférences, il a donné naissance à une multitude d'autres systèmes, dont un proposé par Georges Nomarski en 1952 [8] : le microscope à contraste interférentiel, ou DIC (*differential interference contrast*). La lumière incidente passe d'abord par un polariseur puis est séparée en deux faisceaux d'onde de polarisations orthogonales à l'aide d'un prisme de Wollaston (cf. figure page suivante). Après avoir traversé l'échantillon, induisant un déphasage, les deux ondes sont recombinaées à l'aide d'un second prisme de Wollaston.

a. Prix Nobel, « Frits Zernike », <https://www.nobelprize.org/prizes/physics/1953/zernike/facts/>

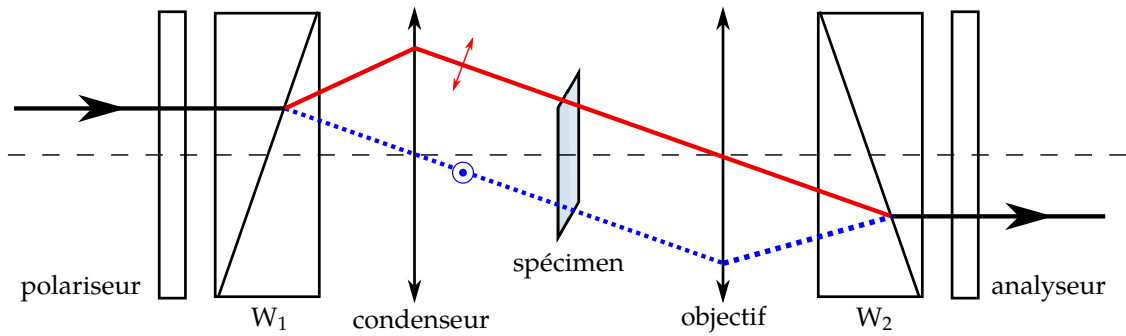
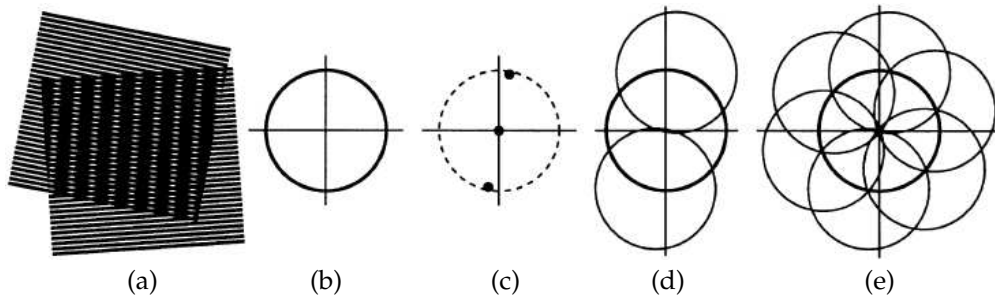


Schéma de principe d'un microscope DIC. W : prisme de Wollaston. Les ondes rouge et bleu sont polarisées orthogonalement.

D'autres systèmes de microscopie optique ont par la suite été développés, notamment ceux basés sur la fluorescence, phénomène de luminescence caractérisé par la ré-émission de photons par le spécimen suite à son illumination, le plus souvent à l'aide d'un marquage par un produit de fluorescence. La différence avec les autres types de microscope (intensité, contraste de phase ou DIC) est que l'on étudie cette fois la lumière ré-émise par l'échantillon et non pas celle qui le traverse. Divers dispositifs de fluorescence ont par la suite vu le jour comme le microscope confocal développé par Marvin Minsky en 1961 [9], le FLIP (déplétion de fluorescence), les générations de seconde et troisième harmoniques, le PALM-STORM [10] ou le STED [11].

Nous pouvons aussi citer une autre technique de microscopie, mise en place par Gustafsson [12] : l'illumination structurée (schéma ci-dessous). Le principe consiste à superposer un motif d'illumination connu (grille) à un motif de structure inconnu (objet). La superposition de ces deux motifs en génère un troisième, appelé moiré, permettant d'élargir le spectre de Fourier accessible sans changer l'ouverture numérique de collection.



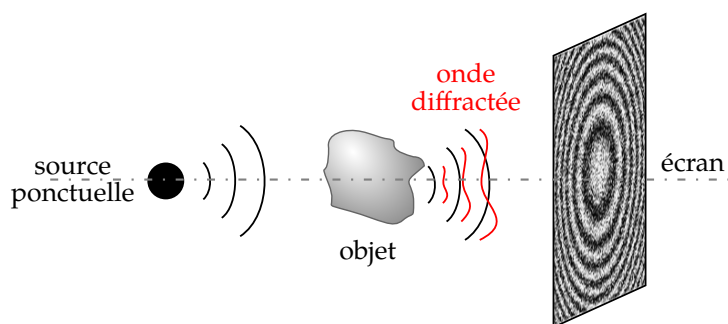
Principe de la microscopie en illumination structurée proposée par Gustafsson [12] : (a) la superposition de deux motifs (une grille et le spécimen), génère un moiré de fréquence assez faible pour être enregistrée par le microscope au-delà de la bande passante d'un microscope standard (b). (c) La porteuse ainsi générée décale les hautes fréquences vers la bande passante du microscope. (d) La démodulation de cette porteuse permet de retrouver des fréquences initialement inaccessibles. (e) Un ensemble d'angles d'illumination permet d'agrandir la bande passante du microscope.

À l'instar du PALM et du STED, cette technique d'acquisition permet donc d'augmenter la résolution de l'image, jusqu'alors limitée en microscopie classique au critère d'Abbe : $\lambda/2NA$ (où λ est la longueur d'onde d'observation et NA l'ouverture numérique de l'objectif (*numerical aperture*)) [13]. Cependant, non seulement ces modes d'imagerie peuvent présenter certains inconvénients (complexité de mise en place du dispositif, phototoxicité, photoblanchiment), mais

ils sont aussi principalement qualitatifs. En effet, les images obtenues sont uniquement basées sur une différence de contraste et non pas sur une mesure quantitative d'une grandeur physique intrinsèque à l'échantillon étudié.

Afin de reconstruire l'objet de manière quantitative, il est nécessaire d'accéder à l'intégralité des informations composant le front d'onde, à savoir l'amplitude et la phase de l'onde. Dans le cas où les spécimens à analyser présentent des tailles grandes vis-à-vis de la longueur d'onde d'observation, un système optique traditionnel, par exemple en absorption, présente une bonne précision dans la reconstruction des images. Mais dans le cas d'échantillons d'une taille proche de la longueur d'onde d'observation, l'optique géométrique ne suffit pas pour reconstruire correctement l'objet. Depuis les travaux sur la diffraction de la lumière par Fresnel [14], différentes approches ont été mises en place afin de récupérer l'intégralité du front d'onde, permettant ainsi le développement de dispositifs ne nécessitant pas de marquage. Il est alors indispensable de considérer l'aspect ondulatoire de la lumière.

Gabor et été le premier à recomposer le front d'onde entier d'une onde grâce à son procédé d'holographie à chemin commun (schéma ci-dessous), faisant intervenir le phénomène d'interférence des ondes [15].



Principe de l'holographie à chemin commun proposé par Gabor [15].

Le principe de l'holographie consiste à faire interférer une onde de référence, non perturbée, avec une onde d'illumination traversant le spécimen à analyser que l'on appelle onde objet. Les motifs d'interférence présentés sous forme de franges contiennent les perturbations d'amplitude et de déphasage des deux ondes combinées. La démodulation des franges d'interférence permet de remonter à ces deux informations et de reconstruire l'intégralité de l'onde lumineuse en trois dimensions. L'un des premiers dispositifs reposant sur ce principe a été le microscope de phase quantitative mis en place en réflexion par Cuche puis en transmission par Charrière [16, 17].

L'Institut de Recherche en Informatique, Mathématiques, Automatique et Signal (IRIMAS) est un laboratoire pluridisciplinaire rattaché à l'Université de Haute Alsace, situé à Mulhouse. Les activités du laboratoire sont principalement axées sur le traitement du signal, l'instrumentation, l'automatique, l'informatique et le réseau. Dirigée par le Professeur Olivier Haerberlé, l'équipe d'Imagerie Microscopique et Traitement d'Image (IMTI) d'IRIMAS développe depuis 2006 un microscope tomographique diffractif (MTD), une extension du microscope holographique. La première version de ce microscope en transmission a été réalisée par Bertrand Simon et a depuis fait l'objet de plusieurs premières en terme de résolution optique sans marquage [18–20]. Une

version en réflexion a aussi été réalisée au cours du stage de Master 2 de Merdan Sarmis [21] et améliorée ensuite lors de la thèse de Hui Liu [22].

Le but de la tomographie est d'étendre la fonction de transfert optique de l'holographie. Plusieurs méthodes sont alors possibles. La plus commune consiste à faire varier l'angle d'illumination sur l'objet, grâce notamment à un miroir de balayage [20]. Une méthode moins fréquente mais augmentant elle aussi le support de fréquences est la variation de longueur d'onde [23]; il est aussi possible de réaliser une rotation d'échantillon sur lui-même [24]. Enfin, le laboratoire a dernièrement montré qu'une combinaison de rotation d'illumination et de spécimen permettait d'obtenir une résolution quasi-isotrope [25,26]. Cependant cette méthode impose une contrainte majeure : il est très difficile de maintenir la rotation de l'objet avec précision, ce dernier effectuant une précession.

Malgré toutes ces possibilités d'acquisition, il reste des inconvénients importants : d'une part, une haute résolution dans les reconstructions se fait au détriment du temps d'acquisition; d'autre part, la mise en œuvre d'un tel dispositif, qu'il soit en transmission ou en réflexion, peut être complexe, notamment à cause des deux bras interférométriques. C'est pourquoi ma thèse a été principalement axée sur des voies de simplification du MTD, suivant trois axes de réflexion :

1. simplification numérique des reconstructions en exploitant les propriétés intrinsèques des échantillons étudiés ;
2. simplification de l'acquisition via l'utilisation d'un miroir sur lequel est placé l'échantillon ;
3. simplification du dispositif expérimental en supprimant le bras de référence grâce à l'utilisation d'un analyseur de front d'onde.

Ce manuscrit présente les travaux réalisés pendant la thèse. Le premier chapitre expose l'état de l'art actuel de la microscopie holographique et tomographique diffractive, et expose les améliorations à apporter. Dans le chapitre 2, je détaille la mise en place d'un MTD utilisant des simplifications numériques de reconstruction grâce aux symétries de l'échantillon. Puis, dans le troisième chapitre, je développe le MTD assisté par miroir utilisant une préparation particulière de l'échantillon, notamment à l'aide d'un matériau réfléchissant. Le chapitre 4 est quant à lui dédié à la simplification du dispositif expérimental via l'utilisation d'un analyseur de front d'onde à la place d'une caméra standard. Finalement j'évoque en fin de manuscrit différentes perspectives à court et moyen termes, et termine par une conclusion générale.

Références

- [1] N. Mujumdar, E. C. Heider et A. D. Campiglia, « Enhancing Textile Fiber Identification with Detergent Fluorescence », *Applied Spectroscopy* **69**(12), p. 1390–1396, 2015.
- [2] P. Kramper, M. Kafesaki, C. M. Soukoulis, A. Birner, F. Müller, U. Gösele, R. B. Wehrspohn, J. Mlynek et V. Sandoghdar, « Near-field visualization of light confinement in a photonic crystal microresonator », *Optics Letters* **29**(2), p. 174–176, 2004.
- [3] D. Sevrain, M. Dubreuil, G. E. Dolman, A. Zaitoun, W. Irving, I. N. Guha, C. Odin et Y. Le Grand, « Evaluation of area-based collagen scoring by nonlinear microscopy in chronic hepatitis C-induced liver fibrosis », *Biomedical Optics Express* **6**(4), p. 1209–1218, 2015.
- [4] K. Hinrichs et T. Shaykhutdinov, « Polarization-Dependent Atomic Force Microscopy-Infrared

- Spectroscopy (AFM-IR): Infrared Nanopolarimetric Analysis of Structure and Anisotropy of Thin Films and Surfaces », *Applied Spectroscopy* **72**(6), p. 817–832, 2018.
- [5] F. Zernike, « Phase contrast, a new method for the microscopic observation of transparent objects », *Physica* **9**(7), p. 686–698, 1942.
- [6] F. Zernike, « Phase contrast, a new method for the microscopic observation of transparent objects part II », *Physica* **9**(10), p. 974–986, 1942.
- [7] G. Nomarski, « Microinterferomètre différentiel à ondes polarisées », *Journal de Physique et Le Radium* **16**, p. 9S–13S, 1955.
- [8] M. Minsky, « Microscopy Apparatus », 1961.
- [9] E. Betzig, G. H. Patterson, R. Sougrat, O. W. Lindwasser, S. Olenych, J. S. Bonifacino, M. W. Davidson, J. Lippincott-Schwartz et H. F. Hess, « Imaging Intracellular Fluorescent Proteins at Nanometer Resolution », *Science* **313**(5793), p. 1642–1645, 2006.
- [10] S. W. Hell et J. Wichmann, « Breaking the diffraction resolution limit by stimulated emission: stimulated-emission-depletion fluorescence microscopy », *Optics Letters* **19**(11), p. 780–782, 1994.
- [11] M. G. L. Gustafsson, « Surpassing the lateral resolution limit by a factor of two using structured illumination microscopy », *Journal of Microscopy* **198**(2), p. 82–87, 2000.
- [12] E. Abbe, « Contributions to the Theory of the Microscope and of Microscopic Perception », *Archiv für Mikroskopische Anatomie* **9**(1), p. 413–418, 1873.
- [13] A. Fresnel, « Premier mémoire sur la diffraction de la lumière », 1815.
- [14] D. Gabor, « A New Microscopic Principle », *Nature* **161**(4098), p. 777–778, 1948.
- [15] E. Cuche, F. Bevilacqua et C. Depeursinge, « Digital holography for quantitative phase-contrast imaging », *Optics Letters* **24**(5), p. 291–293, 1999.
- [16] F. Charrière, A. Marian, F. Montfort, J. Kuehn, T. Colomb, E. Cuche, P. Marquet et C. Depeursinge, « Cell refractive index tomography by digital holographic microscopy », *Optics Letters* **31**(2), p. 178–180, 2006.
- [17] M. Debailleul, B. Simon, V. Georges, O. Haeberlé et V. Lauer, « Holographic microscopy and diffractive microtomography of transparent samples », *Measurement Science and Technology* **19**(7), p. 074 009, 2008.
- [18] B. Simon, M. Debailleul, V. Georges, V. Lauer et O. Haeberlé, « Tomographic diffractive microscopy of transparent samples », *The European Physical Journal Applied Physics* **44**(1), p. 29–35, 2008.
- [19] M. Debailleul, V. Georges, B. Simon, R. Morin et O. Haeberlé, « High-resolution three-dimensional tomographic diffractive microscopy of transparent inorganic and biological samples », *Optics Letters* **34**(1), p. 79–81, 2009.
- [20] M. Sarmis, B. Simon, M. Debailleul, B. Colicchio, V. Georges, J.-J. Delaunay et O. Haeberlé, « High resolution reflection tomographic diffractive microscopy », *Journal of Modern Optics* **57**(9), p. 740–745, 2010.
- [21] H. Liu, J. Bailleul, B. Simon, M. Debailleul, B. Colicchio et O. Haeberlé, « Tomographic diffractive microscopy and multiview profilometry with flexible aberration correction », *Applied Optics* **53**(4), p. 748–755, 2014.
- [22] J. Kühn, F. Montfort, T. Colomb, B. Rappaz, C. Moratal, N. Pavillon, P. Marquet et C. Depeursinge, « Submicrometer tomography of cells by multiple-wavelength digital holographic microscopy in reflection », *Optics Letters* **34**(5), p. 653–655, 2009.
- [23] J. Kostencka, T. Kozacki et M. Józwick, « Holographic tomography with object rotation and

two-directional off-axis illumination », *Optics Express* **25**(20), p. 23 920–23 934, 2017.

- [24] J. Bailleul, *Microscopie tomographique diffractive à résolution isotrope*, Thèse de doctorat, Université de Haute Alsace, 2016.
- [25] B. Simon, M. Debailleul, M. Houkal, C. Ecoffet, J. Bailleul, J. Lambert, A. Spangenberg, H. Liu, O. Soppera et O. Haerberlé, « Tomographic diffractive microscopy with isotropic resolution », *Optica* **4**(4), p. 460–463, 2017.

Sommaire

1 Principe de l'holographie	7
1.1 Holographie à chemin commun	8
1.2 Holographie hors-axe	9
1.3 Holographie en ligne	10
1.4 Limitations	13
2 Microscopie tomographique diffractive	13
2.1 Principes	13
2.2 Implémentation	17
2.3 Amélioration de la résolution	19
2.3.1 Rotation d'illumination	19
2.3.2 Variation de la longueur d'onde	21
2.3.3 Rotation de l'objet	22
2.3.4 Fonction de transfert optique	24
2.4 Influence de l'ouverture numérique	25
2.5 Approches combinées	26
2.5.1 Rotation d'illumination multi-spectrale	26
2.5.2 Rotations d'illumination et du spécimen	27
2.5.3 Combinaison transmission – réflexion	29
2.6 Processus de reconstruction	30
3 Conclusion	31

1 Principe de l'holographie

Dans un microscope optique classique en champ clair, seule l'intensité non absorbée par l'échantillon observé est enregistrée. Mais le spécimen introduit aussi un déphasage de l'onde qui le traverse ; on lui associe alors une épaisseur optique. C'est pourquoi la seule mesure de l'intensité, grandeur mélangeant amplitude et phase d'une onde, ne suffit pas pour pouvoir caractériser quantitativement un objet ; il faut aussi prendre en compte le phénomène de diffraction, moyennant des techniques de reconstruction de phase adéquates, permettant alors d'enregistrer le front d'onde dans son intégralité, où amplitude et phase sont mélangées. C'est pour dissocier ces deux informations que l'holographie a été mise au point.

L'holographie consiste à enregistrer des interférences entre une onde de référence E_r et une onde diffractée par un objet appelée E_d , l'objet étant illuminé par une onde incidente E_i . Ces interférences forment alors un hologramme (figure 1.1).

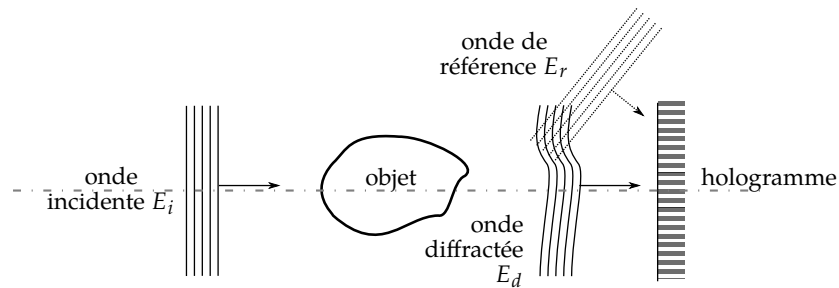


FIGURE 1.1 Principe de l'holographie.

La figure d'interférence est alors capturée sur une caméra. L'intensité de l'interférogramme s'écrit :

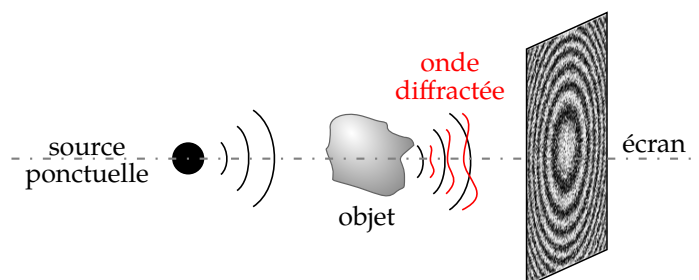
$$I = |E_d + E_r|^2 = |E_d|^2 + |E_r|^2 + E_d E_r^* + E_d^* E_r . \quad (1.1)$$

Dans l'équation (1.1), les deux premiers termes de l'intensité correspondent à l'ordre zéro de l'hologramme : ce sont les termes d'autocorrélation des deux sources, c'est-à-dire l'intensité telle qu'elle peut être enregistrée avec un microscope en absorption. Ces termes sont indépendants de la phase relative entre E_d et E_r . Les deux derniers termes, correspondant respectivement aux termes objet (+1) et objet conjugué (-1) sont, quant à eux, dépendants de cette phase. Si la phase de l'onde de référence est connue, la phase de l'onde objet peut être retrouvée. Les sections suivantes mettent en avant les différentes techniques d'holographie qui sont chronologiquement apparues.

1.1 Holographie à chemin commun

L'holographie a été inventée par Dennis Gabor [15] en 1948. Dans ce montage dit à chemin commun, l'onde d'illumination fait aussi office d'onde de référence, les axes optiques de ces deux ondes étant identiques. Ce dispositif est utilisé pour des objets peu diffractants ou introduisant de faibles variations de phase. L'hologramme enregistré sur plaque photographique est alors un mélange à deux ondes : l'onde d'illumination, de phase connue, et l'onde diffractée, de phase inconnue. Ce principe présente l'inconvénient de mélanger les trois ordres de diffraction (0, +1 et -1), rendant impossible une démodulation directe de l'hologramme pour en déterminer l'amplitude et la phase. Les solutions envisageables font systématiquement appel à des modifications du dispositif expérimental (comme l'ajout d'un modulateur spatial de lumière, SLM) ou en imposant des conditions a priori sur le front d'onde qui permettent d'appliquer différents algorithmes de reconstruction de type reconstruction de phase [27,28].

FIGURE 1.2 Principe de l'holographie à chemin commun.



1.2 Holographie hors-axe

Le problème lié au mélange des ordres de diffraction a été résolu par Leith et Upatnieks en 1962 [29]. Pour cela, après séparation de l'onde en une référence et une illumination, on incline légèrement un miroir sur le chemin de la référence (ici M_1), de sorte que les ordres de diffraction 0, +1 (objet) et -1 (jumeau) sont séparés dans l'espace de Fourier ; on effectue alors une modulation spatiale (cf. figure 1.4). La figure 1.3 montre le schéma d'un montage type en holographie hors-axe, basé sur un interféromètre de Mach-Zehnder.

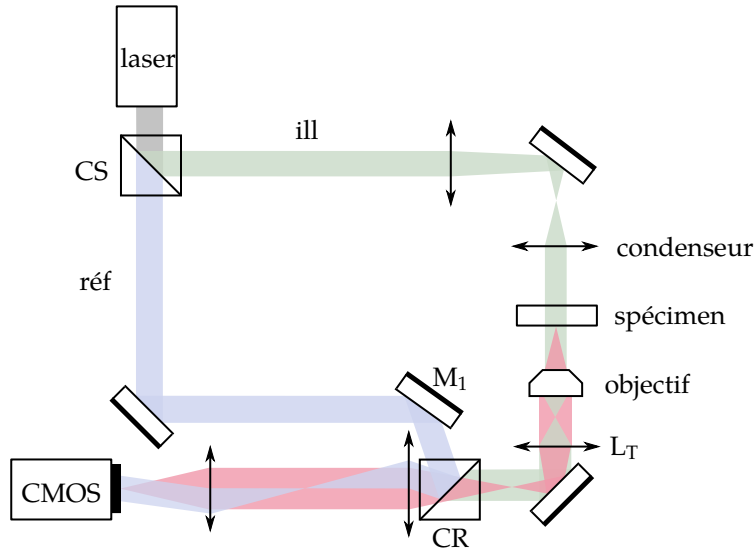


FIGURE 1.3 Schéma de montage d'holographie hors-axe. CS : cube séparateur. ill : illumination. réf : référence. M_1 : miroir tip/tilt. L_T : lentille de tube. CR : cube recombineur.

En repartant de l'équation (1.1) et en tenant compte du décalage généré par le miroir, on obtient :

$$I(x,y) = |E_d|^2 + |E_r|^2 + E_r^* E_d \exp[i(k_x x + k_y y)] + cc , \quad (1.2)$$

où (k_x, k_y) sont les coordonnées de l'onde d'illumination dans l'espace de Fourier correspondant au décalage angulaire et cc est le complexe conjugué. Cette équation peut être transposée dans l'espace de Fourier :

$$\mathcal{F}\{I(x,y)\} = \underbrace{\mathcal{F}\{|E_d|^2 + |E_r|^2\}}_{\text{ordre 0}} + \underbrace{\mathcal{F}\{E_r^* E_d \exp[i(k_x x + k_y y)]\}}_{\text{ordre +1}} + \underbrace{\mathcal{F}\{cc\}}_{\text{ordre -1}} . \quad (1.3)$$

La figure 1.4 représente l'interférogramme d'une bille et le spectre de Fourier correspondant pour une acquisition dans une configuration hors-axe : nous voyons clairement les franges d'interférence dans l'objet d'une part et la nette séparation entre les différents ordres de diffraction, induite par l'inclinaison du miroir, dans le spectre d'autre part. On filtre ensuite cet espace afin de ne sélectionner que l'ordre objet (on coupe donc les ordres 0 et -1), suivi d'un recentrage à la fréquence nulle pour compenser le décalage [16], ce qui se traduit mathématiquement par :

$$\mathcal{F}\{I_{\text{filtre}}\} = \mathcal{F}\{E_r^* E_d\} \Rightarrow I_{\text{filtre}} = E_r^* E_d , \quad (1.4)$$

une fois revenu dans l'espace direct. Cette expression de l'intensité de l'hologramme est, considérant l'ordre de référence constante, proportionnelle au champ objet complexe, permettant ainsi d'obtenir l'amplitude et la phase de l'onde diffractée.

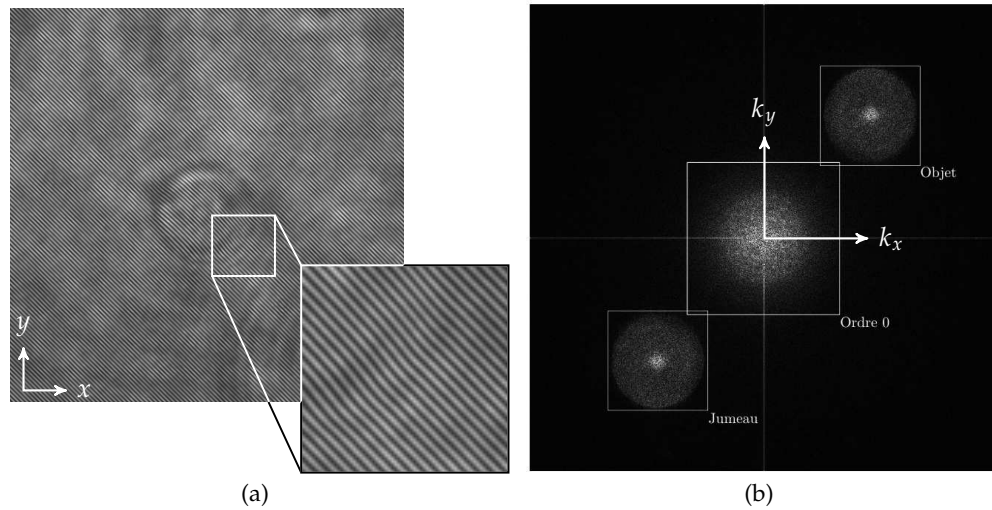


FIGURE 1.4 (a) Interférogramme d’une bille obtenu grâce au montage d’holographie hors-axe. On distingue clairement les franges d’interférences dans l’encart. (b) Transformée de Fourier de l’hologramme (échelle logarithmique) avec séparation des ordres de diffraction grâce à l’angle introduit par le miroir.

L’inconvénient majeur de cette méthode est le support fréquentiel réduit sur lequel l’expérimentateur travaille. En effet, nous pouvons voir dans la figure 1.4 que le champ enregistré de l’ordre +1 (objet) en hors-axe est plus petit que l’ordre central, d’un facteur proche de 2. Il est donc indispensable de tenir compte de ce phénomène dans le calcul de la résolution lors de la reconstruction de l’objet final.

1.3 Holographie en ligne

L’holographie en ligne peut être généralement implémentée comme un interféromètre de Michelson [30], de Mach-Zehnder (figure 1.5(a)) [31], ou plus rarement de Sagnac [32]. Un cube séparateur divise le faisceau laser en deux : l’onde d’illumination atteint l’échantillon, est diffractée puis collectée par l’objectif. Elle est ensuite combinée à l’onde de référence à l’aide d’un cube recombinateur, générant ainsi des interférences (figure 1.5(b)) [33]. L’intensité est finalement enregistrée par la caméra, où un post-traitement informatique est effectué afin de retrouver le front d’onde complexe de l’onde diffractée.

Cependant, à l’instar d’un montage à chemin commun, cette approche a l’inconvénient de mélanger les ordres de diffraction. Afin de les séparer, une technique consiste à effectuer une mesure préalable de l’onde objet seule, puis de l’onde de référence (interférences sans objet). Cependant, dans ce cas seul l’ordre 0 est séparé des ordres +1 et -1, mais ces deux derniers seront toujours mélangés. Une autre méthode est celle du décalage de phase [34]. Ce procédé d’acquisition consiste à utiliser une onde de référence dont on fait varier la phase relative par rapport à l’onde objet, à l’aide d’un miroir déplaçable avec un élément piezo-électrique [35], un modulateur électro-optique [22] ou des modulateurs acousto-optiques [36].

Soient l’onde objet et l’onde de référence respectivement définies par :

$$E_o(x,y) = E_i(x,y) + E_d(x,y) = a_o(x,y) \exp[i(\phi_o(x,y))] , \quad (1.5a)$$

$$E_r(x,y) = a_r(x,y) \exp[i(\phi_r(x,y) - \varphi)] , \quad (1.5b)$$

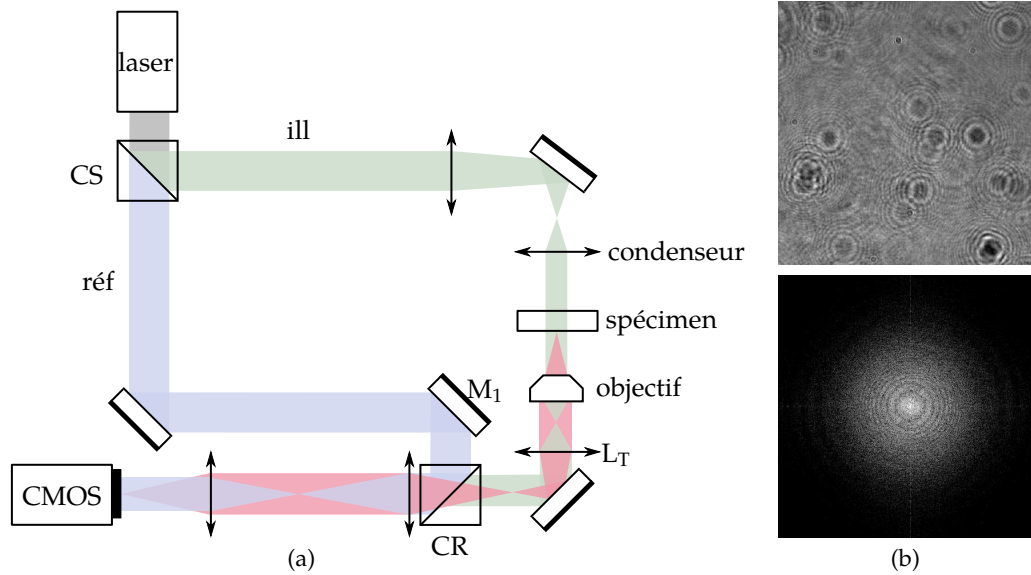


FIGURE 1.5 (a) Schéma de principe du microscope holographique en ligne à décalage de phase. CS : cube séparateur. ill : illumination. réf : référence. L_T : lentille de tube. M_1 : miroir. CR : cube recombineur. (b) Interférogramme de bactéries (en haut) obtenu en holographie en ligne [33]; spectre de Fourier correspondant en bas (échelle logarithmique).

où $a_o(x,y)$ et $a_r(x,y)$ sont les amplitudes des ondes, $\phi_o(x,y)$ et $\phi_r(x,y)$ sont les phases, et φ est le décalage de phase introduit entre les deux ondes par le modulateur. L'intensité des interférences s'écrit alors :

$$I(x,y) = |E_o(x,y) + E_r(x,y)|^2, \quad (1.6)$$

$$= I'(x,y) + I''(x,y) \cos[\phi(x,y) + \varphi], \quad (1.7)$$

où :

$$\phi(x,y) = \phi_o(x,y) - \phi_r(x,y), \quad (1.8)$$

et :

$$I'(x,y) = a_o(x,y)^2 + a_r(x,y)^2 \quad (1.9a)$$

$$I''(x,y) = 2a_o(x,y)a_r(x,y) \quad (1.9b)$$

Ayant trois inconnues à retrouver (a_o , a_r et ϕ), il est théoriquement nécessaire d'avoir au minimum trois équations à résoudre, c'est-à-dire d'enregistrer trois interférogrammes [37]. Il a cependant été démontré qu'il est possible, suivant un formalisme mathématique différent, de limiter l'acquisition à seulement deux décalages (associée à une mesure unique de la référence) [38,39]. Expérimentalement, il est plus commun d'enregistrer quatre hologrammes pour calculer la phase [34,40]. En effet, en plus de la simplification des relations entre intensités, travailler avec davantage d'hologrammes permet de minimiser les erreurs de calcul sur la phase. Les quatre états de phase sont caractérisés par des déphasages de $\pi/2$; φ prend donc les valeurs 0 , $\pi/2$, π et $3\pi/2$. La figure 1.6 montre les interférogrammes d'un micromètre objectif obtenus à ces quatre phases. Un léger angle entre les deux ondes a été introduit afin de mieux voir le déphasage d'une image à l'autre, comme en configuration hors-axe.

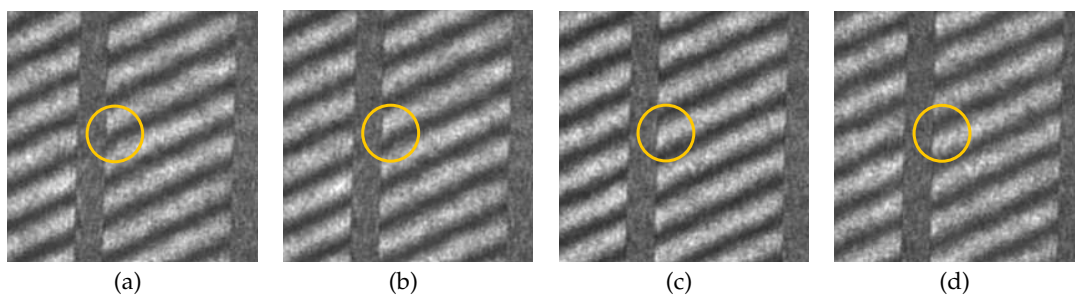


FIGURE 1.6 Interférogrammes d'un micromètre objectif obtenus en holographie à décalage de phase pour (a) $\phi = 0$, (b) $\pi/2$, (c) π et (d) $3\pi/2$ dans une configuration hors-axe à des fins d'illustration.

En utilisant la relation (1.7), on en déduit l'intensité pour les quatre hologrammes :

$$I_1(x,y) = I'(x,y) + I''(x,y) \cos[\phi(x,y)] , \quad (1.10a)$$

$$I_2(x,y) = I'(x,y) + I''(x,y) \cos[\phi(x,y) + \pi/2] , \quad (1.10b)$$

$$I_3(x,y) = I'(x,y) + I''(x,y) \cos[\phi(x,y) + \pi] , \quad (1.10c)$$

$$I_4(x,y) = I'(x,y) + I''(x,y) \cos[\phi(x,y) + 3\pi/2] . \quad (1.10d)$$

Par combinaisons linéaires on obtient les deux expressions suivantes :

$$I_1 - I_3 = 2I'' \cos[\phi(x,y)] , \quad (1.11a)$$

$$I_4 - I_2 = 2I'' \sin[\phi(x,y)] . \quad (1.11b)$$

On en déduit l'amplitude du champ objet :

$$a_0(x,y) = |E_o(x,y)| = \frac{\sqrt{(I_1 - I_3)^2 + (I_4 - I_2)^2}}{4a_r(x,y)} , \quad (1.12)$$

La qualité d'obtention de l'amplitude de l'onde objet dépend donc de la qualité de mesure de l'onde de référence. Constante, elle induit un offset à la mesure du champ. On en déduit aussi la différence de phase entre l'onde objet et l'onde de référence :

$$\phi(x,y) = \arctan\left(\frac{I_4 - I_2}{I_1 - I_3}\right) . \quad (1.13)$$

décrite dans l'intervalle $]-\frac{\pi}{2}; \frac{\pi}{2}[$. Si l'on souhaite obtenir une phase dans l'intervalle $]-\pi; \pi[$, il faut appliquer une fonction d'arc tangente tenant compte de chaque cadran du cercle trigonométrique grâce au signe de l'argument. On a ainsi défini entièrement le champ complexe objet qui peut être écrit sous sa forme algébrique :

$$E_o(x,y) = \frac{1}{4|E_r(x,y)|} [(I_1 - I_3) + i(I_4 - I_2)] . \quad (1.14)$$

L'un des principaux inconvénients de la technique, par rapport à la configuration en hors-axe, est la quantité d'interférogrammes enregistrés. En effet, étant donné que dans cette disposition un minimum de trois hologrammes (quatre dans l'équation (1.14)) sont nécessaires à reconstruire l'amplitude et la phase de l'onde, le temps d'acquisition de toutes les images est considérablement augmenté.

1.4 Limitations

Nous avons vu que l'un des principaux avantages du microscope holographique est l'obtention d'images distinctes en amplitude et en phase via la démodulation des interférences. Dans le cas de la microscopie holographique, l'ouverture numérique du condenseur est nulle (un seul angle d'illumination), ce qui réduit fortement la résolution de la reconstruction, notamment le long de l'axe optique (figure 1.7). En effet, celle-ci est très faible du fait que l'on ne mesure pas directement une profondeur mais une épaisseur optique, correspondant à la profondeur de champ de l'objectif de collection. Cette limite peut être surmontée en effectuant une synthèse d'ouverture numérique, technique que je développe dans la partie suivante.

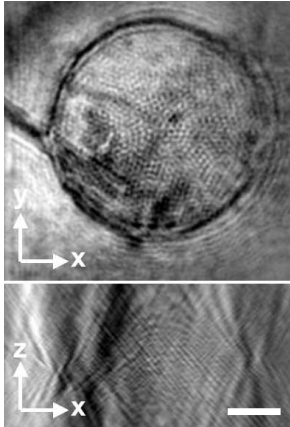


FIGURE 1.7 Diatomée reconstruite en holographie. Bien que la résolution transverse dans le plan $(x-y)$ (en haut) permette de distinguer différents éléments composant le spécimen, l'image dans le plan axial $(x-z)$ (en bas) montre une résolution quasi-nulle [41]. Barre d'échelle : 5 μm .

2 Microscopie tomographique diffractive

Le microscope tomographique diffractif (MTD) est un dispositif d'imagerie utilisé depuis 2006 au sein d'IRIMAS qui a débuté par la thèse de Bertrand Simon. Basée sur la microscopie holographique, cette approche permet un agrandissement du support des fréquences spatiales enregistrées.

2.1 Principes

Partons de l'équation de Helmholtz dans le cas général indépendante du temps [42] :

$$(\nabla^2 + k(\mathbf{r})^2)u_t(\mathbf{r}) = 0, \quad (1.15)$$

où ∇^2 est l'opérateur Laplacien, $u_t(\mathbf{r})$ le champ scalaire total mesuré à la position $\mathbf{r} = (x, y)$ défini en fonction des champs incident $u_i(\mathbf{r})$ et diffracté $u_d(\mathbf{r})$:

$$u_t(\mathbf{r}) = u_i(\mathbf{r}) + u_d(\mathbf{r}). \quad (1.16)$$

On définit $k(\mathbf{r})$ le nombre d'onde comme en fonction de l'indice du milieu $n(\mathbf{r})$:

$$k(\mathbf{r}) = k_0 \frac{n(\mathbf{r})}{n_0} \quad \text{avec} \quad k_0 = \frac{2\pi n_0}{\lambda}, \quad (1.17)$$

$$= k_0 \left(1 + \frac{\delta n(\mathbf{r})}{n_0} \right), \quad (1.18)$$

$$n(\mathbf{r}) = n_0 + \delta n(\mathbf{r}), \quad (1.19)$$

où λ est la longueur d'onde d'illumination dans le vide, n_0 est l'indice du milieu de propagation et $\delta n(\mathbf{r})$ la variation locale d'indice introduite par le spécimen. Dans le cas homogène, c'est-à-dire en l'absence d'objet diffusant l'équation (1.15) se réduit à :

$$(\nabla^2 + k_0^2)u_i(\mathbf{r}) = 0 . \quad (1.20)$$

Cette équation différentielle a une solution générale du type onde plane progressive :

$$u_i(\mathbf{r}) = a_i \exp(ik_0 \mathbf{s}_i \cdot \mathbf{r}) , \quad (1.21)$$

où \mathbf{s}_i est le vecteur unitaire de l'onde incidente défini par :

$$\mathbf{s}_i = \begin{pmatrix} p_i \\ q_i \\ m_i \end{pmatrix} . \quad (1.22)$$

Plaçons-nous maintenant dans le cas inhomogène, c'est-à-dire en tenant d'un objet diffusant sur le parcours de la lumière incidente. L'équation de Helmholtz (1.15) peut donc s'écrire :

$$(\nabla^2 + k_0^2)u_t(\mathbf{r}) = O(\mathbf{r})u_t(\mathbf{r}) , \quad (1.23)$$

où $O(\mathbf{r})$ est la fonction de potentiel objet définie par :

$$O(\mathbf{r}) = k_0^2 \left[1 - \left(\frac{n(\mathbf{r})}{n_0} \right)^2 \right] . \quad (1.24)$$

L'équation différentielle (1.23) n'a pas de solution analytique. Dans le cas où le potentiel objet est ponctuel ($O(\mathbf{r}) = \delta(\mathbf{r})$), cette équation a une solution sous la forme d'une fonction de Green définie par [43] :

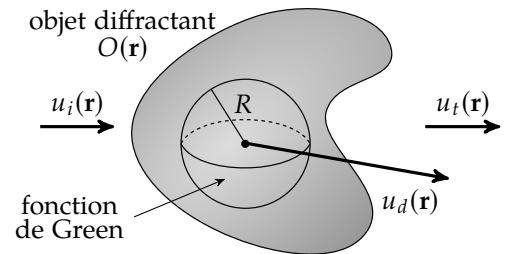
$$G(\mathbf{r} - \mathbf{r}') = -\frac{1}{4\pi\|\mathbf{r} - \mathbf{r}'\|} \exp(ik_0\|\mathbf{r} - \mathbf{r}'\|) . \quad (1.25)$$

L'équation (1.23) s'écrit alors :

$$(\nabla^2 + k_0^2)G(\mathbf{r}) = \delta(\mathbf{r} - \mathbf{r}') . \quad (1.26)$$

Une représentation de la fonction de Green est montrée figure 1.8.

FIGURE 1.8 Représentation de la fonction de Green issue de la diffraction de la lumière par un objet. On définit $R = \|\mathbf{r} - \mathbf{r}'\|$.



Par définition, toute fonction $h(\mathbf{r})$ définie sur un support S peut être écrite comme une opération de convolution par un Dirac :

$$h(\mathbf{r}) = \iiint_S h(\mathbf{r}')\delta(\mathbf{r} - \mathbf{r}') d^3r' . \quad (1.27)$$

On en déduit l'expression suivante à partir du membre de droite de l'équation (1.23) :

$$O(\mathbf{r})u_t(\mathbf{r}) = \iiint O(\mathbf{r}')u_t(\mathbf{r}')\delta(\mathbf{r}-\mathbf{r}')d^3r' , \quad (1.28)$$

$$= (\nabla^2 + k_0^2) \iiint O(\mathbf{r}')u_t(\mathbf{r}')G(\mathbf{r}-\mathbf{r}')d^3r' . \quad (1.29)$$

Donc en comparant les équations (1.23) et (1.29) on obtient l'expression du champ total :

$$u_t(\mathbf{r}) = \iiint O(\mathbf{r}')u_t(\mathbf{r}')G(\mathbf{r}-\mathbf{r}')d^3r' . \quad (1.30)$$

Par ailleurs, d'après les équations (1.15), (1.16) et (1.20) on a :

$$(\nabla^2 + k_0^2)u_d(\mathbf{r}) = O(\mathbf{r})u_t(\mathbf{r}) . \quad (1.31)$$

Par conséquent, en comparant cette relation avec (1.29), on obtient :

$$u_d(\mathbf{r}) = \iiint O(\mathbf{r}')u_t(\mathbf{r}')G(\mathbf{r}-\mathbf{r}')d^3r' . \quad (1.32)$$

d'où :

$$u_t(\mathbf{r}) = u_i(\mathbf{r}) + \iiint O(\mathbf{r}')u_t(\mathbf{r}')G(\mathbf{r}-\mathbf{r}')d^3r' . \quad (1.33)$$

Le problème de cette équation est la présence du champ à déterminer $u_d(\mathbf{r})$ à la fois dans le membre de gauche et en tant qu'intégrande dans le membre de droite ; ce type de relation mathématique est d'ailleurs appelée équation intégrale de Fredholm du second type [44]. Il est donc nécessaire de simplifier le problème. En supposant que l'onde diffractée est négligeable au premier ordre devant l'onde incidente, c'est-à-dire $u_d(\mathbf{r}) \ll u_i(\mathbf{r})$ (1^{ère} approximation de Born [45]), l'équation (1.33) devient donc :

$$u_t(\mathbf{r}) \simeq u_i(\mathbf{r}) + \iiint O(\mathbf{r}')u_i(\mathbf{r}')G(\mathbf{r}-\mathbf{r}')d^3r' = u_i(\mathbf{r}) + u_B(\mathbf{r}) . \quad (1.34)$$

Une autre approche, dans l'approximation dite de Rytov, est de considérer le champ diffracté u_R issu défini par une phase complexe φ_R par [46] :

$$u_R(\mathbf{r}) = \ln \left[\frac{a_t(\mathbf{r})}{a_i(\mathbf{r})} \right] + i(\phi_t(\mathbf{r}) - \phi_i(\mathbf{r})) , \quad (1.35)$$

où (a_t, ϕ_t) et (a_i, ϕ_i) sont les amplitudes et phases des ondes mesurées totale et incidente respectivement. L'avantage de l'approximation de Rytov par rapport à celle de Born est son domaine de validité. En effet, alors que dans l'approximation de Born le déphasage maximal introduit par l'objet doit être inférieur à 2π , celle de Rytov ne le limite pas, les variations d'indice devant simplement respecter la condition suivante [47] :

$$|\nabla n(\mathbf{r})| \ll \frac{\sqrt{2n_0}|\delta n(\mathbf{r})|}{D} , \quad (1.36)$$

où $D > \lambda$ est l'épaisseur du spécimen observé. Davantage d'informations quant à l'approximation de Rytov sont accessibles à l'annexe A. La fonction de Green peut être décomposée sur une base d'ondes planes [48] :

$$G(\mathbf{r}-\mathbf{r}') = \frac{ik_0}{8\pi^2} \iint \frac{1}{m} \exp[ik_0(p(x-x') + q(y-y') + m(z-z'))] dp dq , \quad (1.37)$$

où (p, q, m) sont les composantes unitaires du vecteur d'onde diffracté \mathbf{k}_d , c'est-à-dire :

$$\mathbf{k}_d = \begin{pmatrix} k_{dx} \\ k_{dy} \\ k_{dz} \end{pmatrix} = k_d \mathbf{s} = k_d \begin{pmatrix} p \\ q \\ m \end{pmatrix}, \quad (1.38)$$

avec :

$$m = \sqrt{1 - (p^2 + q^2)}. \quad (1.39)$$

En nous remplaçant dans la 1^{ère} approximation de Born via l'équation (1.34) et en y injectant la relation (1.37), le vecteur d'onde diffracté peut s'écrire comme :

$$u_B(\mathbf{r}) = \iint A(p, q) \exp[ik_0(px + qy + mz)] dp dq, \quad (1.40)$$

où $A(p, q)$ est l'amplitude du champ généré au point de coordonnées (p, q, m) et définie par :

$$A(p, q) = \frac{ik_0 a_i}{8\pi^2 m} \iiint O(\mathbf{r}') \exp[-ik_0((p - p_i)x' + (q - q_i)y' + (m - m_i)z')] d^3 r'. \quad (1.41)$$

Cette équation correspond à la transformée de Fourier 3D du potentiel objet $O(\mathbf{r})$ selon les variables $k_0(p - p_i)$, $k_0(q - q_i)$ et $k_0(m - m_i)$. Pour cela, j'ai utilisé les versions unitaires de la transformée de Fourier à n dimensions pour toute fonction ψ :

$$\mathcal{F}\{\psi(\mathbf{r})\}(\mathbf{k}) = \frac{1}{(2\pi)^{n/2}} \iiint \psi(\mathbf{r}) \exp(-i\mathbf{k} \cdot \mathbf{r}) d^3 r, \quad (1.42)$$

$$\psi(\mathbf{r}) = \frac{1}{(2\pi)^{n/2}} \iiint \mathcal{F}\{\psi(\mathbf{r})\}(\mathbf{k}) \exp(i\mathbf{k} \cdot \mathbf{r}) d^3 k. \quad (1.43)$$

De plus, d'après l'équation (1.40), si l'on se place dans le plan de détection tel que $z = z_c$ alors :

$$u_B(x, y; z_c) = e^{ik_0 m z_c} \iint A(p, q) \exp[ik_0(px + qy)] dp dq, \quad (1.44)$$

qui correspond à la transformée de Fourier 2D inverse de $A(p, q)$ selon les variables p et q . Donc au plan d'observation z_c on obtient la relation [49] :

$$\mathcal{F}^{3D}\{O\}(\mathbf{k}_d - k_0 \mathbf{s}_i) = -\sqrt{\frac{2}{\pi}} \frac{imk_0}{a_i} e^{-ik_0 m z_c} \mathcal{F}^{2D}\{u_B\}(\mathbf{k}_d), \quad (1.45)$$

où l'on définit le vecteur d'onde objet \mathbf{k}_o comme étant :

$$\mathbf{k}_o = \mathbf{k}_d - k_0 \mathbf{s}_i = \mathbf{k}_d - \mathbf{k}_i. \quad (1.46)$$

En utilisant la condition d'élasticité $k_d = k_i = k_0$ et l'expression (1.38), il vient :

$$k_d^2 = k_0^2 = k_{dx}^2 + k_{dy}^2 + k_{dz}^2. \quad (1.47)$$

Par conséquent, dans le domaine de Fourier, les vecteurs d'ondes diffractés par l'objet décrivent une sphère de rayon k_0 centrée à l'origine des fréquences, appelée sphère d'Ewald. Le principe est représenté figure 1.9. Selon que l'on place le capteur en amont ($z_c < 0$) ou en aval ($z_c > 0$) de l'objet, il devient possible de détecter soit la partie transmise, soit la partie réfléchie du champ diffracté.

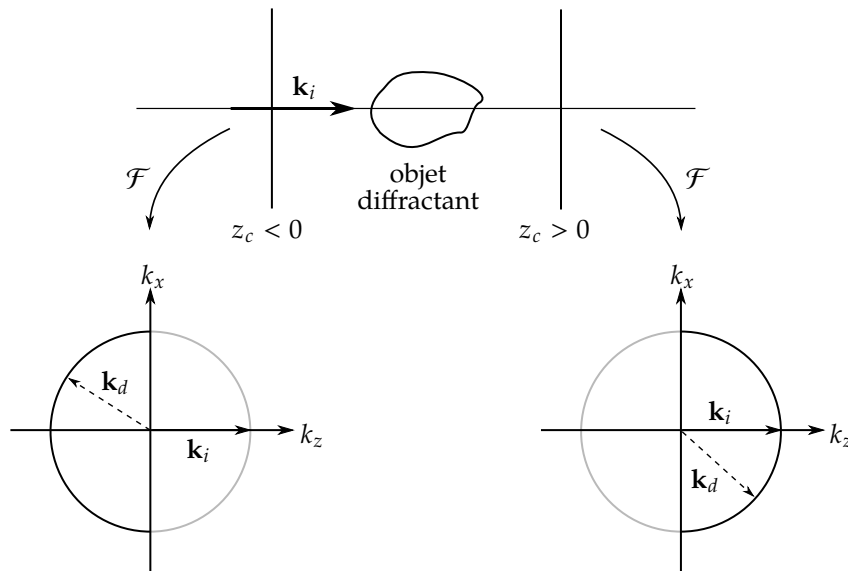


FIGURE 1.9 Principe de détection du champ diffracté. À gauche, l'enregistrement en réflexion permet d'obtenir la demi-sphère $z_c < 0$ de la sphère d'Ewald ; à droite, la demi-sphère détectable en transmission $z_c > 0$.

Les demi-sphères ainsi détectées sont alors translatées du vecteur d'onde incident, comme le montre la figure 1.10. Les fréquences spatiales étant définies par $f = k/2\pi$ et le microscope holographique se comportant comme un filtre fréquentiel de type passe-bas (cf. figure 1.7), la mise en œuvre d'un MTD consiste à retrouver les hautes fréquences spatiales par synthèse d'ouverture numérique, permettant ainsi d'élargir la bande passante du système et ainsi d'améliorer la résolution du dispositif.

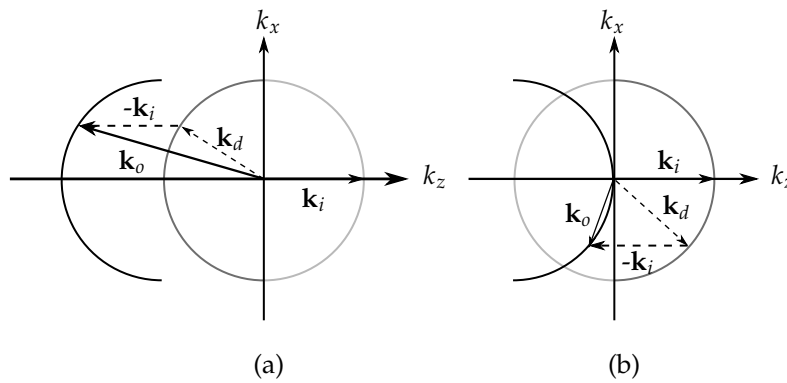


FIGURE 1.10 Représentation des support de fréquences obtenus par holographie (a) en réflexion et (b) en transmission.

2.2 Implémentation

Une photographie du montage de MTD en transmission en configuration hors-axe construit au laboratoire est présentée figure 1.11. Un faisceau laser (trait plein vert) est séparé en deux par un séparateur de faisceau fibré, donnant naissance à l'onde d'illumination (en vert) et à l'onde de référence (tirets bleus). L'onde d'illumination est réfléchiée par le miroir de balayage, permettant de faire varier l'angle d'incidence sur l'échantillon observé. En sortie d'échantillon,

L'onde d'illumination et celle diffractée (pointillés rouges) sont mélangées et capturées par l'objectif. Grâce au cube recombineur, ces deux ondes interfèrent avec l'onde de référence, les ordres de diffraction étant alors séparés grâce au principe de l'holographie hors-axe (cf. figure 1.4). La caméra est placée dans le plan focal image du système.

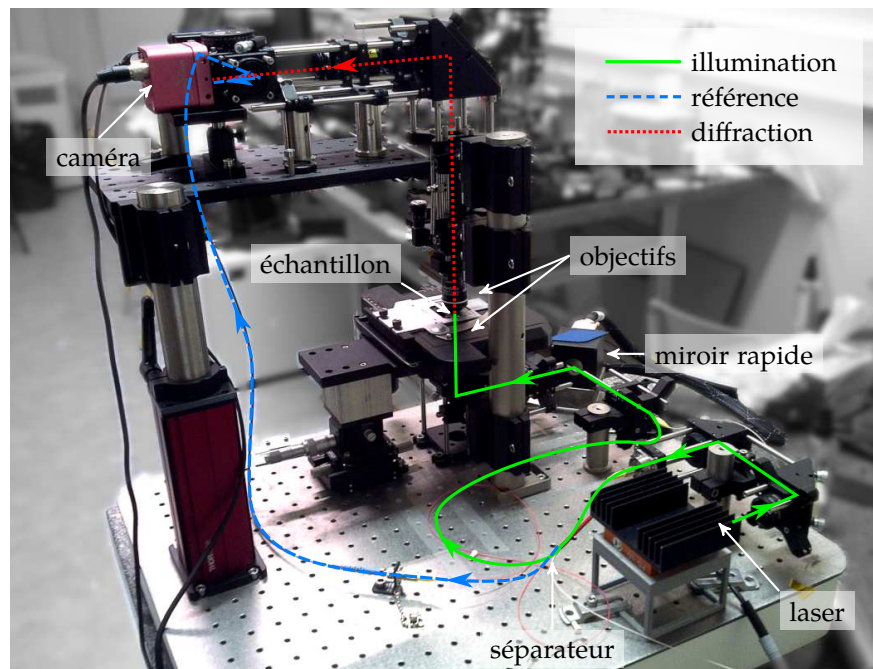


FIGURE 1.11 Photo du montage de MTD en transmission.

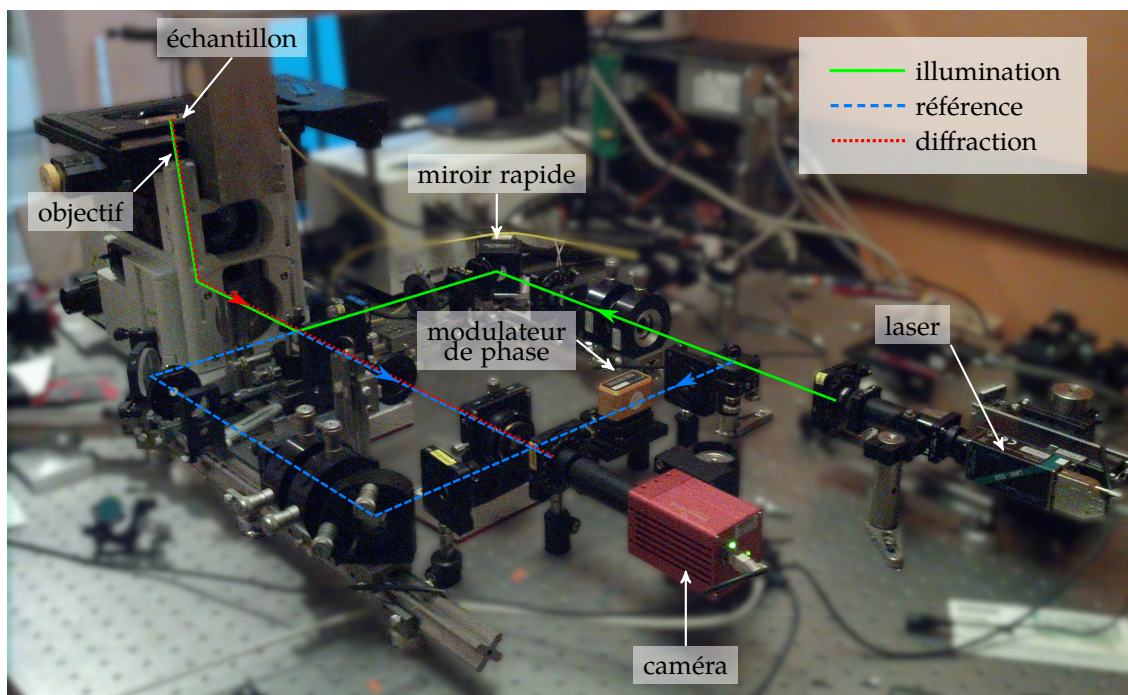


FIGURE 1.12 Photo du montage du MTD en réflexion.

Le montage de MTD peut aussi être disposé en réflexion [22], comme le montre la photographie

figure 1.12, ici en configuration en ligne. Le cube séparateur divise le faisceau incident en deux : l'onde d'illumination (trait plein vert) est réfléchiée par le miroir de balayage vers le cube recombinateur. Le faisceau est alors envoyé vers l'objectif où il illumine l'échantillon à imager. L'onde d'illumination et l'onde diffractée (pointillés rouges) sont alors capturées par l'objectif puis mélangées avec l'onde de référence (tirets bleus). Ce dispositif étant de l'holographie en ligne, la démodulation des interférogrammes se fait grâce au décalage de phase de l'onde de référence via le modulateur électro-optique. Les interférogrammes sont enfin enregistrés sur la caméra CMOS placée là aussi dans le plan image du système.

2.3 Amélioration de la résolution

En holographie, une seule calotte de sphère est nécessaire pour la reconstruction du spécimen étudié. Mais en tomographie, l'intérêt est d'élargir au maximum le spectre de Fourier afin d'augmenter la résolution de l'image finale. Pour récupérer des fréquences supplémentaires, différentes méthodes sont possibles.

2.3.1 Rotation d'illumination

La première approche agrandissant la bande passante consiste à incliner l'illumination incidente. Chaque angle d'illumination correspondant à une position différente d'une calotte de sphère (schéma 1.10), éclairer l'échantillon suivant différents angles permet de déplacer le support, et ainsi de doubler théoriquement la bande passante dans le plan transverse (k_x-k_y) [20]. La figure 1.13(a) montre la façon dont le support est agrandi lorsqu'on effectue une rotation d'illumination. Les figures 1.13(b),(c) montrent les fonctions de transfert optique obtenues en transmission et en réflexion respectivement.

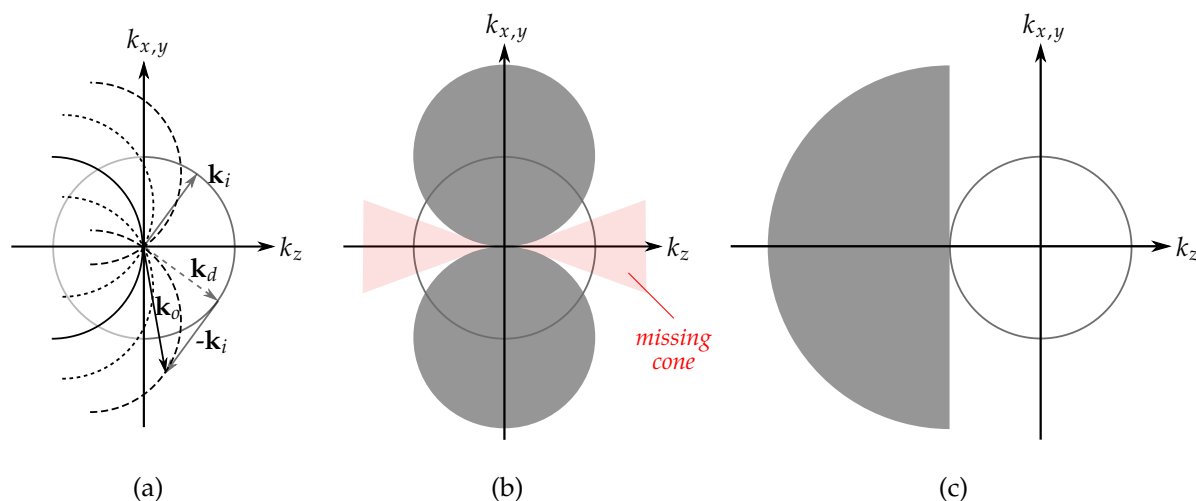


FIGURE 1.13 Schéma 2D représentant (a) la méthode de rotation d'illumination. Le support des fréquences obtenu par ce procédé, pour des angles allant de $-\pi/2$ à $\pi/2$, est doublé dans le plan (k_x-k_y), à la fois (b) en transmission et (c) en réflexion.

Dans le cas de la transmission, l'OTF a la même forme caractéristique de *donut* que dans le cas d'un microscope optique en transmission [50]. On remarque de plus qu'il manque des fréquences le long de l'axe optique : on parle alors de cône de fréquences manquantes (*missing cone*), limitant ainsi la résolution axiale.

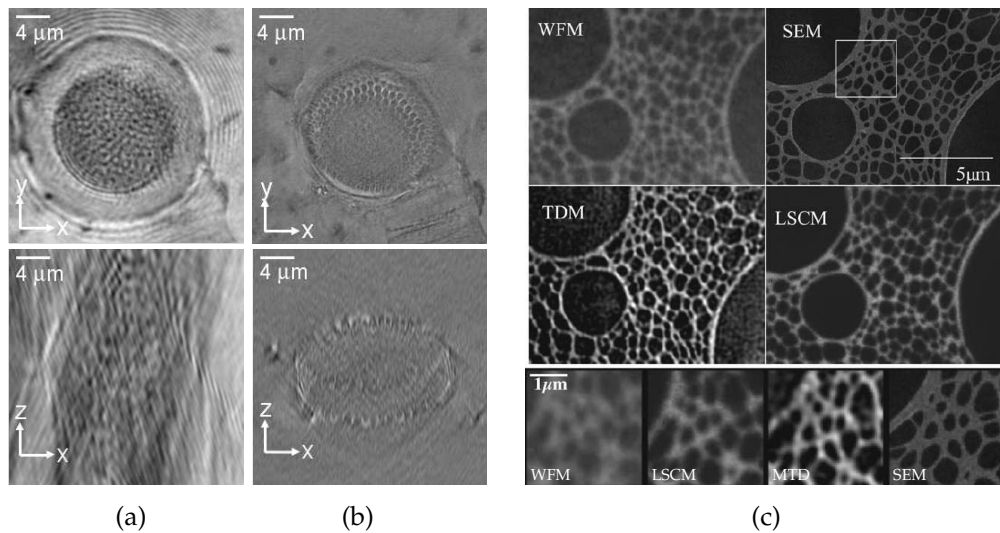


FIGURE 1.14 Images d'une diatomée obtenue (a) par holographie et (b) par tomographie en rotation d'illumination [35]. (c) Images en champ large (WFM), microscopie électronique (SEM), tomographie (TDM) et confocal (LSCM) de fibres de carbone [20].

Les figures 1.14 montrent respectivement les plans ($x-y$) et ($x-z$) d'une diatomée observée 1.14(a) en holographie et 1.14(b) en MTD avec rotation d'illumination. On observe la nette amélioration de la résolution, notamment dans le plan ($x-z$). L'amélioration de la résolution transverse peut être observée sur la figure 1.14(c), où une reconstruction en MTD de fibres de carbone est comparée à celles obtenues en plein champ, confocal et microscope électronique [20].

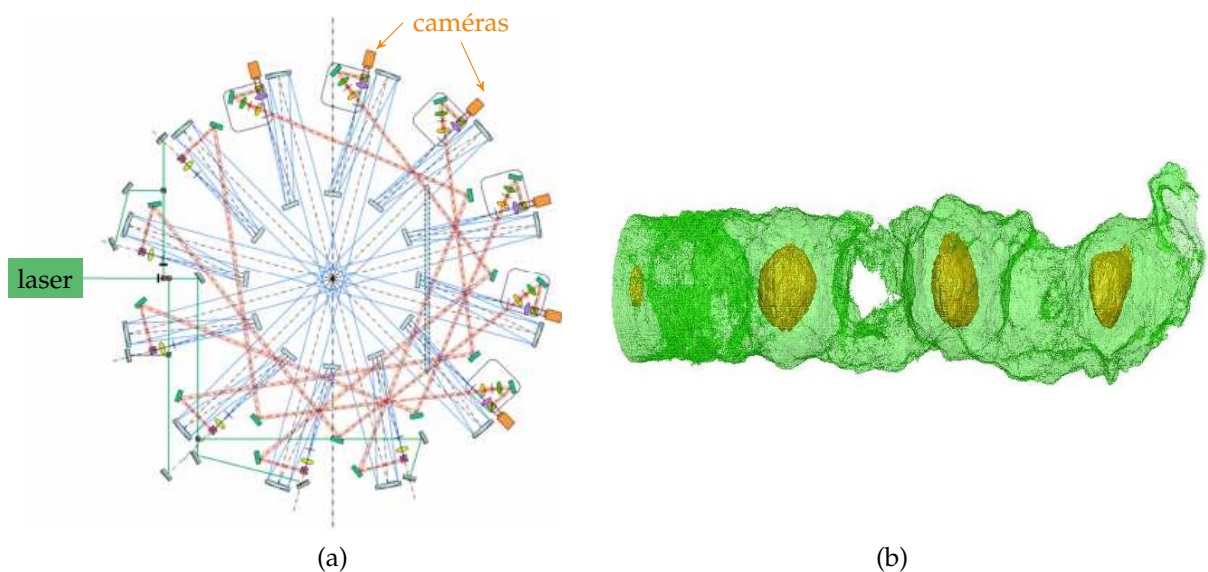


FIGURE 1.15 (a) Schéma du montage de tomographie verticale à six vues réalisé à l'ONERA. (b) Reconstruction de la densité d'un jet stationnaire d'hélium [51].

La rotation d'illumination (en transmission) peut aussi être utilisée. Dans ce cadre, l'Office National d'Études et de Recherches Aérospatiales (ONERA) a étudié des écoulements stationnaires de jets d'hélium [51]. Pour cela, un dispositif holographique statique constitué de six interféromètres de Mach-Zehnder (avec un seul laser et six caméras), disposés en étoile autour de la buse de sortie du gaz (voir figure 1.15(a)), a été mis au point, permettant de réaliser une acquisition

tomographique des six angles de vue simultanément. Les reconstructions en trois dimensions des jets, visibles figure 1.15(b), sont obtenues après application minimisation par moindres carrés et régularisation quadratique de Tikhonov [52].

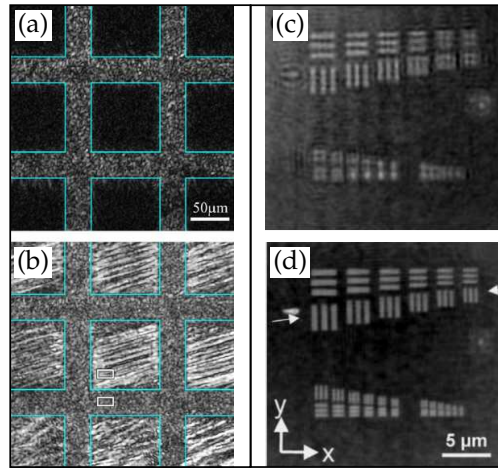


FIGURE 1.16 Images obtenues en MTD en réflexion. (a),(b) Grille micrométrique réfléchissante pour respectivement 2 et 4 angles azimutaux orthogonaux [53]. (c)–(d) Reconstruction en réflexion d'une mire USAF en holographie et en MTD respectivement [21].

Contrairement à la transmission, le manque de hautes fréquences axiales n'est pas visible dans la tomographie en réflexion, puisque l'OTF associée a la forme d'une portion de boule. Par contre, du fait de la translation du vecteur $-\mathbf{k}_i$, les basses fréquences axiales sont inexistantes. Bien que cette deuxième méthode soit moins utilisée qu'en transmission, elle a tout de même fait l'objet de plusieurs publications [53,54], notamment au sein du laboratoire avec Merdan Sarmis [21], comme en atteste la figure 1.16.

2.3.2 Variation de la longueur d'onde

Faire varier la longueur d'onde est aussi un moyen d'augmenter la bande passante par rapport au microscope holographique. En effet, nous avons vu que le diamètre de la demi-sphère dépendait du vecteur d'onde d'illumination, et donc de la longueur d'onde incidente car $k_0 = 2\pi/\lambda$. La figure 1.17 montre le support obtenu après changement progressif de la longueur d'onde dans le cas d'un doublage de la fréquence de l'onde d'illumination. En faisant varier la longueur d'onde, on fait varier le rayon de courbure de la portion de sphère.

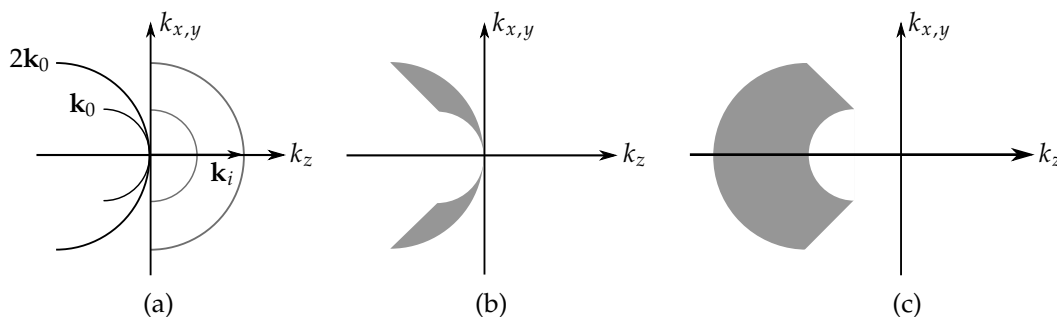


FIGURE 1.17 (a) Schéma 2D représentant le changement de longueur d'onde d'illumination. Le support des fréquences final obtenu est représenté (b) en transmission et (c) en réflexion.

Le principal avantage de ce montage est qu'il ne nécessite pas de partie en mouvement comme en rotation d'illumination ou d'objet (cf. partie suivante), puisque la tomographie s'effectue grâce à la variation de la longueur d'onde. Cependant, le support des fréquences obtenu étant peu étendu, son application au MTD paraît peu adaptée. De plus, les sources cohérentes à large spectre sont complexes à mettre en œuvre.

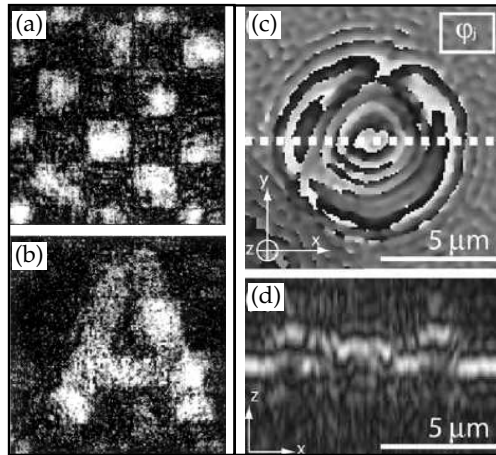


FIGURE 1.18 (a),(b) Reconstruction de deux objets (damier et lettre « A ») en MTD en transmission avec variation de la longueur d'onde [55]. (c),(d) Coupes des plans transverse ($x-y$) et axial ($x-z$) d'un globule rouge en réflexion [23].

Comme on peut le voir sur les figures 1.17(b),(c), l'OTF a une étendue spectrale nettement plus petite en transmission qu'en réflexion. C'est pourquoi c'est essentiellement cette disposition qui est privilégiée [23,56], même si la transmission a déjà fait l'objet de publications, par exemple par Kim *et al.* en 1999 [55] (figure 1.18) ou bien Kim *et al.* en 2014 [57], cette fois-ci à l'aide d'une illumination en lumière blanche.

2.3.3 Rotation de l'objet

Une dernière méthode permettant d'augmenter la bande passante d'un système holographique est d'effectuer une rotation de l'objet sur lui-même. En effet, étant donné qu'une rotation d'un angle θ dans l'espace direct correspond à la rotation du même angle dans l'espace de Fourier, le simple fait de tourner l'échantillon induit la rotation de la calotte de sphère suivant l'axe fréquentiel correspondant. L'avantage de cette technique par rapport à la rotation d'illumination en transmission est qu'elle apporte une information selon l'axe optique, permettant ainsi d'augmenter la résolution dans cette direction. Dans la figure 1.19, on fait tourner le spécimen selon l'axe k_y suivant une série d'angles θ . Le support des fréquences accessibles est alors élargi d'un facteur $\sqrt{2}$ sur le plan (k_x-k_z) [26]. Par ailleurs, on peut noter qu'il existe une région caractéristique de fréquences inaccessibles appelée *missing apple core* (en rouge sur la figure 1.19(c)) [58].

Par construction, bien qu'il y ait un manque de fréquences le long de l'axe de rotation, la résolution est quasi-isotrope [58,59]. Pour obtenir une résolution parfaitement isotrope, une solution serait de réaliser une seconde rotation de l'objet suivant l'autre direction perpendiculaire. Par ailleurs, grâce à une collaboration avec l'Institut de Science des Matériaux de Mulhouse (IS2M), IRIMAS a pu mettre au point un système de rotation d'échantillon, attaché en bout de fibre optique, et en la faisant tourner. C'est un procédé développé en 2001 par Bachelot *et al.* [60], qui ont mis au point une technique de photopolymérisation, permettant d'allonger le cœur d'une fibre

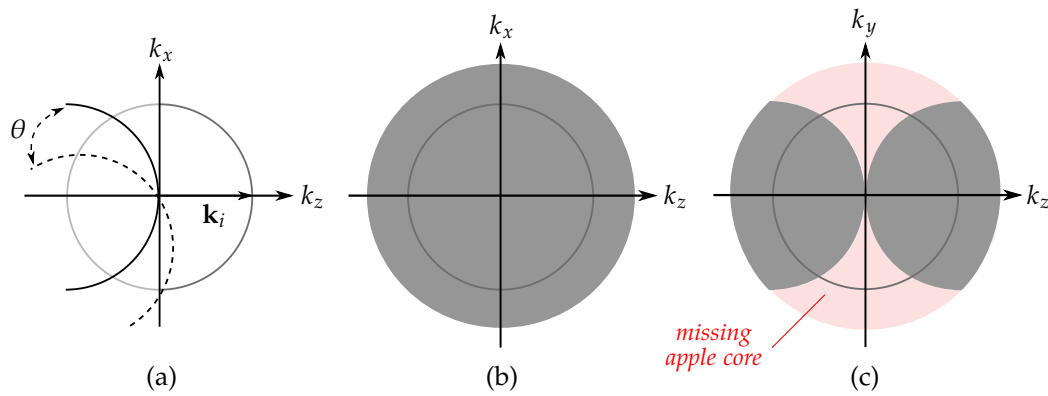


FIGURE 1.19 Schéma 2D en transmission de la rotation de l'objet (a) d'un angle θ suivant l'axe k_y . (b) et (c) correspondent au support des fréquences obtenu après de multiples rotations, dans les plans (k_x-k_z) et (k_y-k_z) respectivement.

optique par injection de lumière dans un polymère photosensible. Cependant, la mise en place d'un tel système est compliquée. En effet, le spécimen exerçant son propre poids sur la fibre, le mouvement de rotation induit une précession de la fibre autour d'un axe inconnu. Il n'existe alors aucune garantie que l'objet reste dans le champ du capteur ; une solution serait alors d'utiliser une canule, permettant de garder la pointe de fibre dans l'alignement de l'axe de rotation. De plus, du fait de cette précession, la reconstruction de l'image tomographique se complexifie puisqu'un recalage des images entre elles est nécessaire.

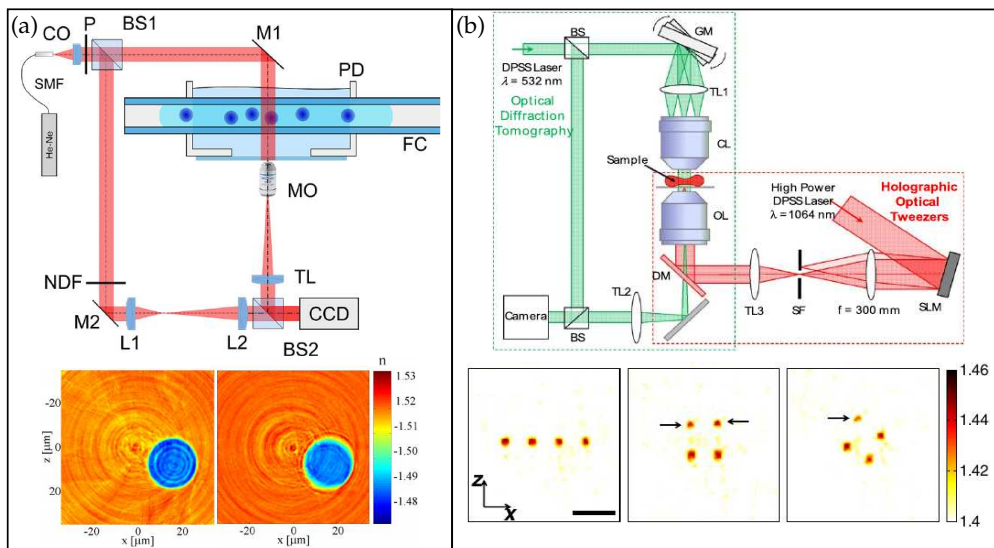


FIGURE 1.20 (a) Montage du MTD en rotation de spécimen avec microcapillaire en haut et reconstructions d'une microsphère de polyméthacrylate de méthyle (PMMA) en bas. À gauche l'image sans correction d'aberration sphérique introduite par le capillaire, à droite l'image corrigée [61]. (b) Montage avec pinces optiques en haut, reconstruction de 8 microsphères suivant différents temps d'acquisition après leur rotation en bas [62].

D'autres solutions existent et ont fait l'objet de plusieurs publications : par exemple, les microcapillaires sont souvent utilisés, bien que des problèmes de planéité et d'aberrations du front d'onde puissent perturber les mesures [59, 61, 63, 64]. Une autre méthode de rotation de l'objet est l'utilisation de pinces optiques : elles consistent à utiliser le principe de conservation

du moment des photons pour déplacer le spécimen étudié à l'aide d'un laser [62, 65–67]. La diélectrophorèse, technique tirant profit du moment dipolaire induit par un champ extérieur émis par exemple par une pointe électrostatique, peut aussi être employée à des fins de rotation. Initialement appliquée à la microscopie confocale, elle a été exploitée plus récemment en l'imagerie tomographique [68–70]. Récemment, il a aussi été montré qu'il était possible de placer le spécimen dans un canal microfluidique et de le déplacer à l'aide d'un flux appliqué par une seringue [71]. Toutes ces méthodes ont l'avantage de ne pas nécessiter un balayage de l'illumination ou un contrôle absolu sur la rotation de l'objet étudié. La figure 1.20 suivante montre des résultats obtenus grâce aux différentes méthodes énoncées.

Finalement, Olchewsky *et al.* ont utilisé un dispositif d'holographie afin de réaliser des reconstructions de jets stationnaires d'air. Comparativement aux résultats présentés figure 1.15, ils ont fait tourner la buse de sortie du gaz, contrôlant la stabilité du jet à l'aide d'un montage de strioscopie interférentielle avec biprisme de Wollaston (figure 1.21(a)) [72]. Le processus d'acquisition n'est donc plus simultané mais séquentiel. Les reconstructions de l'air pour 36 positions angulaires de la buse sont montrées figure 1.21(b).

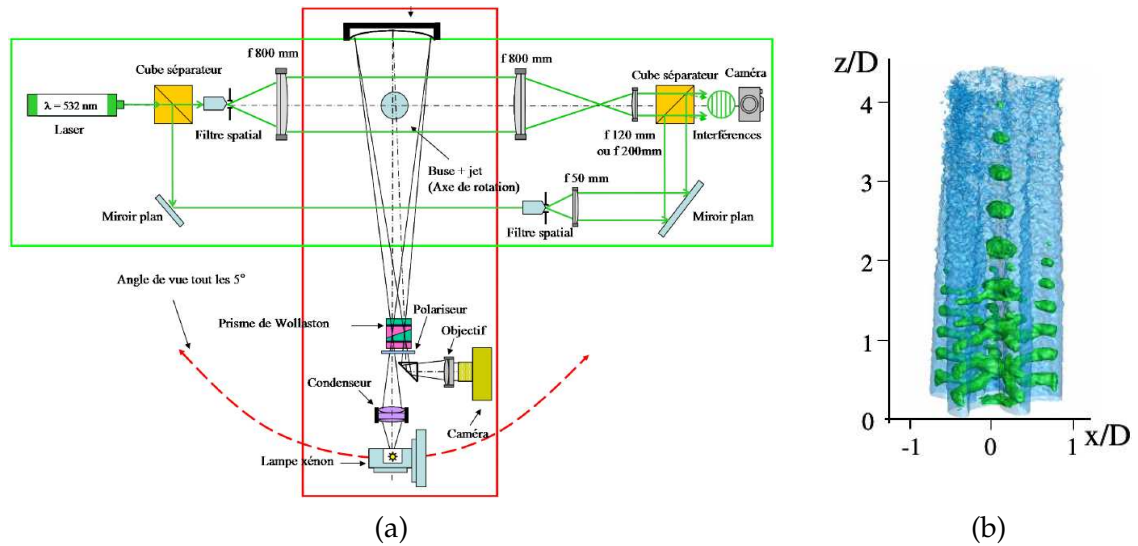


FIGURE 1.21 (a) Schéma de montage de tomographie en rotation d'objet, ici d'air. (a) Reconstruction 3D du jet d'air; le facteur D est le diamètre de la buse [72].

2.3.4 Fonction de transfert optique

Soit un système optique ayant pour réponse impulsionnelle h . Dans le cas incohérent, l'intensité en sortie du système est donnée par une convolution (notée $*$) :

$$I_i = |h|^2 * I_g = |h|^2 * |U_g|^2, \quad (1.48)$$

où I_g est l'intensité lumineuse après l'objet et U_g l'amplitude du champ complexe associé. Dans le cas cohérent cette intensité s'écrit :

$$I_c = |(h * U_g)^2|. \quad (1.49)$$

Afin de pouvoir comparer les images obtenues à l'aide de dispositifs en lumière cohérente (holographie et tomographie) et incohérente, on peut faire appel aux bandes spectrales. Pour

cela on définit la fonction de transfert optique (OTF, *optical transfer function*) du système optique comme la transformée de Fourier de la réponse impulsionnelle, pouvant aussi s'écrire sous forme exponentielle comme [73] :

$$\text{OTF}(f) = \mathcal{F}\{h\} = \text{MTF}(f) e^{i\text{PhTF}(f)}, \quad (1.50)$$

où $\text{MTF}(f) = |\text{OTF}(f)|$ est la fonction de transfert de modulation (*modulation transfer function*) et $\text{PhTF}(f) = \angle\text{OTF}(f)$ la fonction de transfert de phase (*phase transfer function*). La figure 1.22 montre les graphes de quatre MTF théoriques dans les cas de lumière blanche incohérente (trait plein gris), en holographie (tirets bleus) et en tomographie avec rotation d'illumination (pointillés rouges) et avec rotation d'échantillon (pointillés-tirets verts).

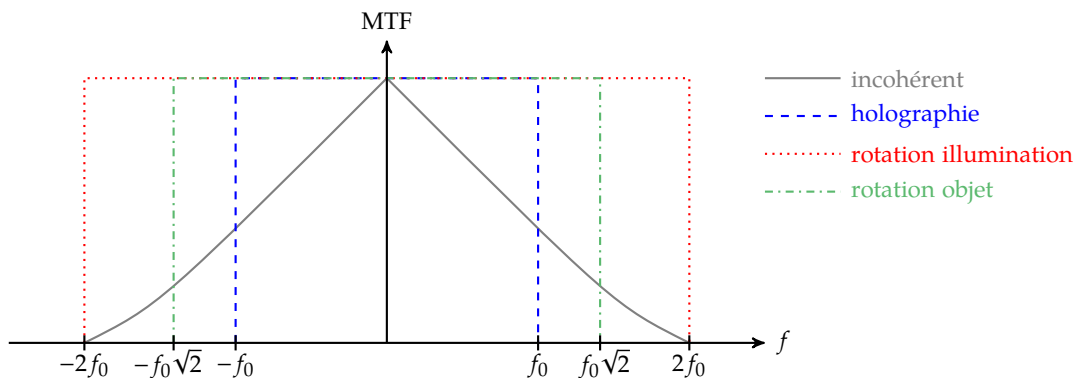


FIGURE 1.22 MTF pour les systèmes d'imagerie incohérente (trait plein gris), holographique (tirets bleus), tomographique avec rotations d'illumination (pointillés rouges) et de spécimen (pointillés-tirets vert).

On définit f_0 la fréquence maximale théorique du système holographique : il a alors une bande passante de $2f_0$, constante dans cet intervalle. Dans le cas incohérent, bien que la bande passante soit doublée, la MTF décroît rapidement et a la forme d'une toile de tente. La tomographie présente les avantages des deux techniques : on a à la fois la constance de la MTF tout en ayant une bande passante agrandie, que ce soit en rotation de spécimen augmentant d'un facteur $\sqrt{2}$ la fréquence maximale, ou en rotation d'illumination, avec une bande passante double par rapport à l'holographie.

2.4 Influence de l'ouverture numérique

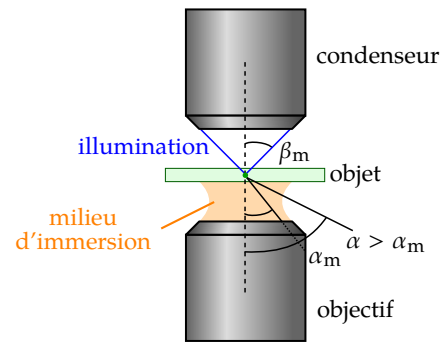
Jusqu'ici, nous nous sommes bornés au cas idéal où le faisceau diffracté pouvait être détecté sur un angle solide de 2π sr, c'est-à-dire une demi-sphère complète, en transmission ou en réflexion. Nous devons cependant prendre en compte la notion d'ouverture numérique. En microscopie, elle est définie par :

$$\text{NA} = n \sin \alpha_m \quad (1.51)$$

où n est l'indice du milieu d'immersion de l'objectif et α_m l'angle maximal de collection de lumière par l'objectif. Un schéma explicatif est donné figure 1.23.

En tenant compte de cette ouverture numérique, nous n'obtenons plus des demi-sphères entières comme dans la figure 1.10 mais des calottes de sphère, représentées figure 1.24, dont l'étalement dépend de l'angle maximum de collection de l'objectif. Dans le cas général où les angles d'injection

FIGURE 1.23 Influence de l'ouverture numérique sur l'injection et la collection.



et de collection sont différents ($\beta_m \neq \alpha_m$), la taille de la calotte de sphère dans le plan transverse à l'axe optique vaut $(NA_{\text{cond}} + NA_{\text{obj}})/\lambda$, et peut induire une asymétrie dans la forme de l'OTF finale; dans le cas particulier où $\alpha_m = \beta_m$ cette taille vaut $2NA_{\text{obj}}/\lambda$ [50].

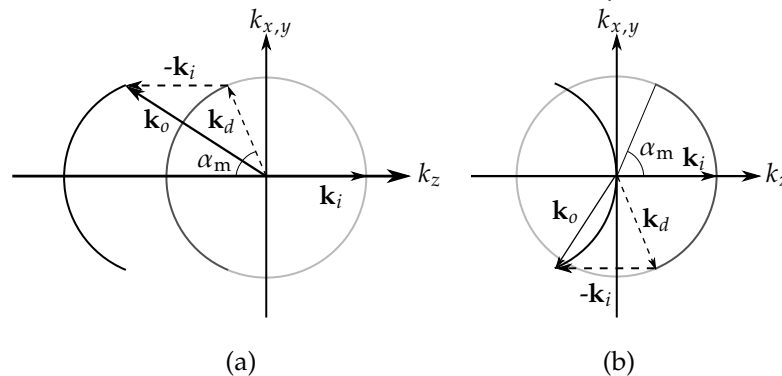


FIGURE 1.24 Schéma 2D représentant la calotte de sphère limitée par l'ouverture numérique (a) en réflexion et (b) en transmission.

Par conséquent, tous les supports de fréquence sont modifiés. La figure 1.25 montre l'effet de l'ouverture numérique sur la rotation d'illumination en (a) et celle du spécimen en 1.25(b). On observe une diminution générale du support, ce qui élargit notamment le *missing cone* pour la rotation d'illumination (largeurs des bandes passantes tirées de Simon *et al.* [26]). À noter que si nous avons eu des ouvertures numériques différentes en illumination et collection, nous aurions eu une OTF en forme de « moustaches » [74–76], comme en témoigne le spectre de la figure 1.25(c). Dans cet exemple, le rapport des ouvertures numériques est de 0,5.

2.5 Approches combinées

Jusqu'ici, j'ai décrit les différentes techniques tomographiques permettant d'augmenter la bande passante du microscope. Il est évidemment possible de combiner certaines de ces méthodes afin de combler les manques de fréquences (*missing cone* et *missing apple core* notamment), augmentant davantage la résolution selon les axes concernés.

2.5.1 Rotation d'illumination multi-spectrale

La méthode la plus simple quand il s'agit de combiner deux méthodes est de partir d'un dispositif en rotation d'illumination et soit d'utiliser différentes longueurs d'onde d'illumination, soit de la remplacer par une source large bande spectrale. Cette dernière option a été utilisée par Zhang *et al.* sur un système en réflexion, à l'aide d'un laser super-continuum filtré à 475 nm, 525 nm,

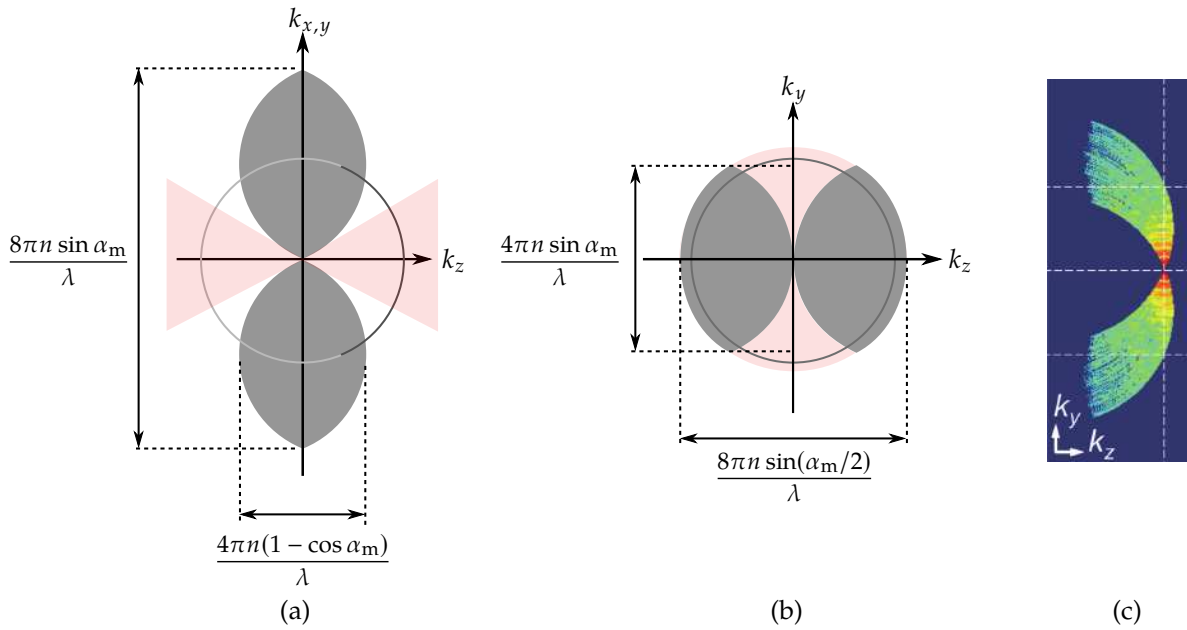


FIGURE 1.25 Coupes 2D des OTF obtenues par rotation (a) d'illumination et (b) de spécimen dans le cas d'un angle maximal de $67,5^\circ$ ($NA = 1,4$). (c) Spectre obtenu avec un rapport de 0,5 entre les deux ouvertures numériques [76].

575 nm, 625 nm et 675 nm [77]. Une rotation d'illumination est réalisée pour chaque longueur d'onde, augmentant ainsi la résolution axiale et le contraste de la reconstruction (figure 1.26).

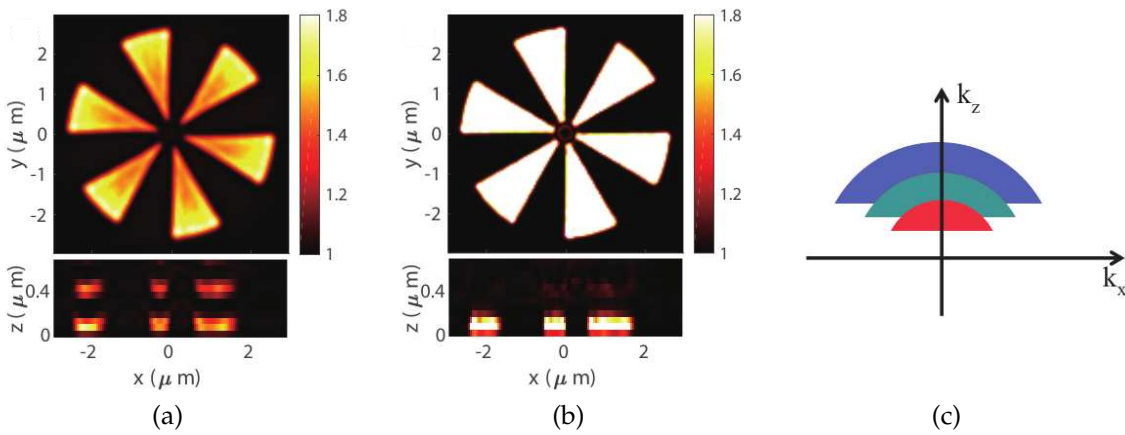


FIGURE 1.26 Reconstruction en MTD avec rotation d'illumination d'une cible avec (a) d'une seule longueur d'onde (475 nm) et (b) 5 longueurs d'onde. (c) OTF associée au balayage d'illumination avec 3 longueurs d'onde [77].

2.5.2 Rotations d'illumination et du spécimen

Un deuxième moyen permettant d'améliorer la résolution des reconstructions en MTD consiste à effectuer une combinaison des rotations d'illumination et d'objet. Le problème peut alors être divisé en deux cas bien distincts :

- une rotation d'illumination est combinée à une rotation de spécimen ;
- une rotation d'illumination est effectuée à chaque position angulaire du spécimen.

La première situation a été étudiée par Vinoth *et al.* [78]. Du fait de la combinaison d’une rotation d’illumination et d’une rotation de spécimen, ils ont introduit une nouvelle forme de fonction de transfert appelée *UFO*, fusion des OTF en rotation d’illumination (figure 1.27(a)) et de spécimen (figure 1.27(b)), et remplissant le cône manquant de fréquences, visible sur la figure 1.27(c).

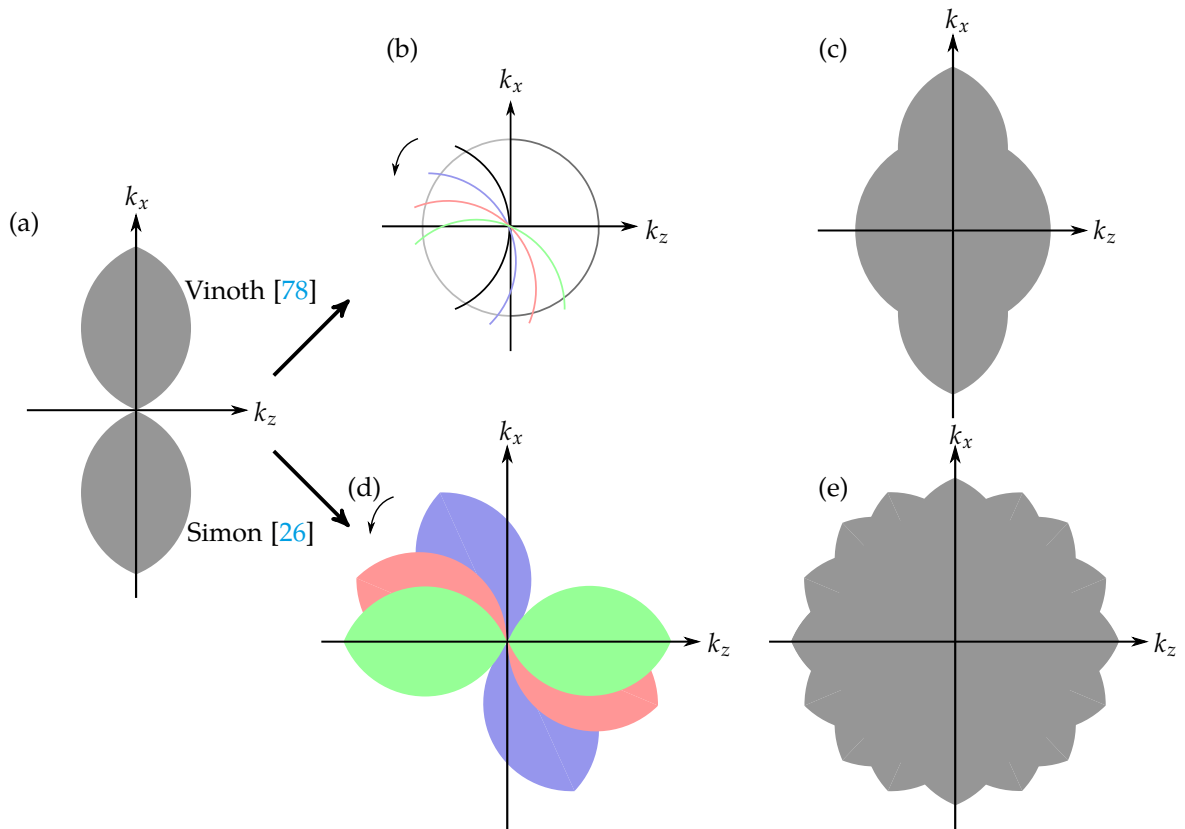


FIGURE 1.27 (a) Fonction de transfert optique obtenue par rotation d’illumination. (b) Effet de la rotation de l’objet sur son spectre. (c) Combinaison de (a) et (b) [78]. (d) Rotation de l’objet après chaque rotation d’illumination complète. (e) Fonction de transfert optique finale par fusion de 5 positions angulaires de l’objet [26].

Le second cas a été traité au laboratoire durant la thèse de Jonathan Bailleul et complété par Simon *et al.* [25,26]. Sachant qu’une rotation du spécimen implique une rotation de son support, la méthode proposée est la suivante : après chaque rotation d’illumination (figure 1.27(a)) on tourne l’échantillon, ce qui a pour effet de tourner l’OTF, et l’on répète ce processus autant de fois qu’on le souhaite (figure 1.27(d)). Après plusieurs rotations alternatives illumination–spécimen, on obtient l’OTF de la figure 1.27(e) : sa forme de sphère quasi pleine induit, dans l’espace direct, une reconstruction de l’objet présentant une résolution quasi-isotrope.

La figure 1.28 montre la reconstruction d’une pointe de fibre étirée 1.28(a)–(c) en MTD par rotation d’illumination seule et 1.28(d)–(f) en MTD avec rotations alternatives illumination–spécimen (fusion des angles 0°, 54°, 90° et 126°). Sachant que l’observation a été effectuée à l’aide d’un laser diode à 475 nm, dans un milieu d’immersion à $n = 1,515$ et un objectif d’ouverture numérique 1,4, la résolution théorique est de 85 nm ; expérimentalement, nous mesurons une résolution latérale d’environ 95 nm [26].

Alors que la rotation d’illumination seule ne permet pas de résoudre suffisamment la fibre dans

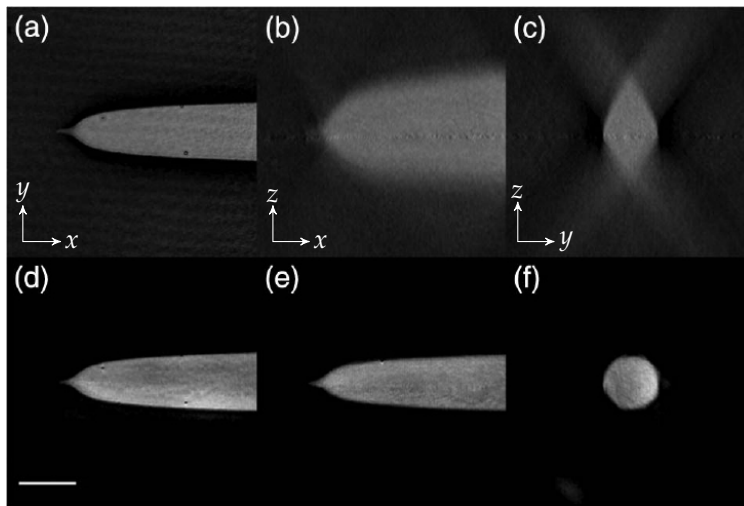


FIGURE 1.28 Reconstruction de la pointe de fibre avec rotation de spécimen. (a)–(c) MTD par rotation d’illumination seule. (d)–(f) MTD par rotations d’illumination et d’échantillon. Barre d’échelle : $3 \mu\text{m}$.

le plan ($x-z$), la combinaison des rotations permet d’obtenir une résolution identique à celle du plan ($x-y$). Cette amélioration est visible dans les coupes sagittales ($y-z$) correspondantes, où la combinaison des rotations fait apparaître une fibre quasi-circulaire, contrairement à la rotation d’illumination seule.

2.5.3 Combinaison transmission – réflexion

La dernière amélioration possible de résolution concernant la combinaison des techniques tomographiques est l’utilisation simultanée de la transmission et de la réflexion. Proposé dès 1969 par Wolf [79] et repris en 1970 par Dändliker et Weiss [80], ce système consiste à illuminer l’objet selon deux directions opposées, par exemple à l’aide de deux objectifs de microscope [81]. Dans ce cas, l’OTF finale correspond à celle enregistrable en microscopie 4π (cf. figure 1.29), augmentant significativement la résolution selon l’axe optique, et permettant ainsi d’obtenir une résolution quasi-isotrope [82]. Un montage similaire à un seul objectif a été mis en place expérimentalement durant une partie de la thèse de Hui Liu [83]. Une variante de ce dispositif de tomographie, dite assistée par miroir et tirant parti de la préparation particulière de l’échantillon, a été proposée par Mudry *et al.* en 2010 [84]. Elle fait l’objet du chapitre 3 de ce manuscrit.

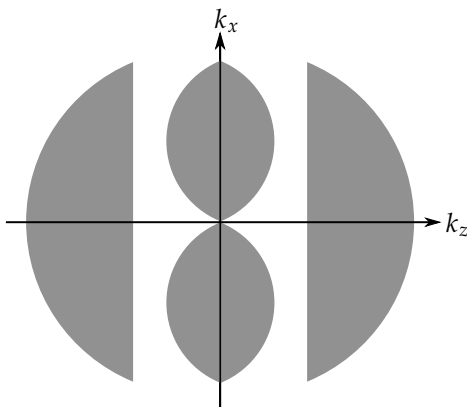


FIGURE 1.29 OTF enregistrable dans un système tomographique couplant transmission et réflexion avec deux objectifs.

2.6 Processus de reconstruction

Après avoir obtenu le champ complexe à partir des hologrammes, que ce soit en hors-axe (voir section 1.2) ou en décalage de phase (développé à la section 1.3 et appliqué au chapitre 3), il faut correctement le replacer dans l'espace 3D. La figure 1.30 montre le principe de reconstruction : à chaque image du champ complexe calculé à l'angle d'illumination i , la transformée de Fourier 2D est appliquée. Le spectre est alors recentré à l'origine des fréquences, normalisé par le spéculaire puis rétropropagé (voir pseudo-code de rétropropagation en page 31). Après N acquisitions, tous les spectres sont fusionnés et pondérés par la densité de présence des pixels. Le spectre final a alors une bande passante ayant la forme d'un donut en transmission (en haut de la figure) ou d'une demi-boule en réflexion (en bas). Une dernière transformée de Fourier 3D inverse permet de reconstruire l'objet en trois dimensions (voir équation (1.45)).

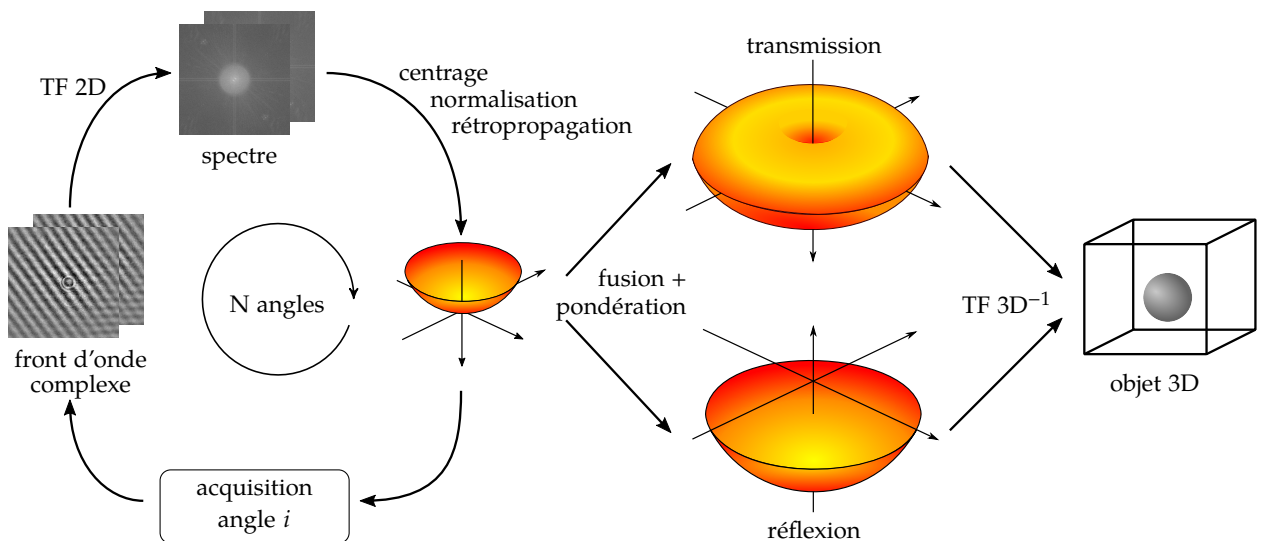


FIGURE 1.30 Schéma du processus de reconstruction tomographique dans le cas d'une rotation d'illumination en transmission (en haut) et en réflexion (en bas).

Lorsqu'une onde se propage, elle peut être intégralement définie à l'aide de deux informations : son amplitude et sa phase. Lorsque seule l'intensité du champ est enregistrée, il est commun d'utiliser la rétroprojection, couramment employée en imagerie médicale par exemple [85, 86] (cf. annexe B). Quant à la rétropropagation, elle est utilisée afin de tenir compte des déformations de la phase introduites lors de la diffraction de l'onde incidente par l'échantillon. D'après la condition d'élasticité vue dans la partie 2.1, nous savons que le support fréquentiel enregistré correspond à une portion de sphère. Il s'agit alors de faire correspondre à chaque pixel de cette portion de sphère 3D le spectre 2D enregistré. L'algorithme en pseudo-code 1 donné ci-après explique la procédure.

Finalement, afin de restituer correctement l'information d'indice optique dans la reconstruction, nous devons aussi tenir compte de la redondance de fréquences enregistrées. Nous savons que, d'après la 1^{ère} approximation de Born, les hologrammes sont rétropropagés sur des calottes de sphère d'Ewald. Cependant, pour des angles voisins, les portions de sphères peuvent être amenées à se recouvrir partiellement (S_1 et S_2 sur la figure 1.31), ce qui implique une redondance d'information fréquentielle R , qui est l'intersection des deux volumes décrite par l'équation :

$$R = S_1 \cap S_2 \quad (1.52)$$

Input: spectre2D champ diffracté

Output: spectre3D potentiel objet

Data: k_i, k_d

```
for  $\alpha_i \leftarrow 0$  to  $\alpha_m$  do
   $k_{ix} \leftarrow \cos \alpha_i$ 
   $k_{iy} \leftarrow \sin \alpha_i$ 
   $k_{iz} \leftarrow \text{sqrt}(k_i^2 - k_{ix}^2 - k_{iy}^2)$ 

  for  $\theta_d \leftarrow 0$  to  $\theta_m$  do
     $k_{dx} \leftarrow \cos \theta_d$ 
     $k_{dy} \leftarrow \sin \theta_d$ 
     $k_{dz} \leftarrow \text{sqrt}(k_d^2 - k_{dx}^2 - k_{dy}^2)$ 

     $k_{ox} \leftarrow k_{dx} - k_{ix}$ 
     $k_{oy} \leftarrow k_{dy} - k_{iy}$ 
     $k_{oz} \leftarrow k_{dz} - k_{iz}$ 
    spectre3D[ $k_{ox}, k_{oy}, k_{oz}$ ]  $\leftarrow$  spectre2D[ $k_{dx}, k_{dy}$ ]
  end
end
```

Algorithme 1: Pseudo-code de la rétropropagation.

Le poids de chaque information est 1 si l'information est non redondante, et 2 au niveau de l'intersection de deux volumes (parties grisées sur la figure 1.31). Mais lors d'une acquisition tomographique, à cause au nombre important d'images enregistrées, il existe une forte redondance de l'information. La valeur de chaque pixel de l'image reconstruite est donc moyennée par le poids qui lui est attribué en fonction du nombre de recouvrements observés. Cela permet d'augmenter considérablement le rapport signal à bruit des reconstructions.

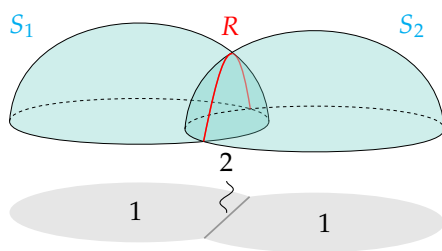


FIGURE 1.31 Fusion des fréquences dans l'espace de Fourier.

3 Conclusion

Depuis 2006, IRIMAS développe le MTD qui est une extension du microscope holographique. J'ai montré que le MTD, grâce à son principe de synthèse d'ouverture numérique, permet d'agrandir le support fréquentiel final par différents procédés comme la rotation d'illumination ou d'objet. La résolution des images via ce type de microscope est par conséquent meilleure. Cependant, la mise en place de ces méthodes de récupération de fréquences présente des inconvénients, tant

expérimentaux que numériques.

Une première simplification consiste en l'utilisation des symétries du spécimen. Nous avons vu qu'il était possible de combiner rotations d'illumination et de spécimen. Dans le but de simplifier les processus de reconstruction, je propose dans la suite du manuscrit plusieurs méthodes de reconstruction basées sur la rotation numérique des données.

Afin de réduire les temps d'acquisition, j'ai aussi développé une technique de reconstruction basée sur l'effet miroir introduit par la lame sur laquelle est posé le spécimen. Elle permet de réduire considérablement le nombre d'angles d'illumination sur l'échantillon, se limitant à un balayage annulaire de l'illumination. J'évoque aussi la piste d'objets non absorbants, permettant de faire appel à la propriété de symétrie hermitienne de la transformée de Fourier.

Dans un MTD, le faisceau d'illumination étant spatialement cohérent, le dispositif est très sensible au bruit de speckle et aux poussières. Par ailleurs, le bras de référence étant dissocié du bras d'illumination, ceci implique une forte sensibilité aux vibrations, ainsi qu'un encombrement non négligeable. C'est pourquoi j'étudie une simplification expérimentale du dispositif dans son ensemble, en utilisant un analyseur de front d'onde à la place d'une caméra standard, démodulant de manière autonome les interférogrammes.

Références

- [26] F. Zhang, G. Pedrini et W. Osten, « Phase retrieval of arbitrary complex-valued fields through aperture-plane modulation », *Physical Review A* **75**(4), p. 043 805, 2007.
- [27] P. Gemayel, *Optique adaptative par modulateur spatial de lumière en microscopie et holographie*, Thèse de doctorat, Université de Haute Alsace, 2016.
- [28] E. N. Leith et J. Upatnieks, « Reconstructed Wavefronts and Communication Theory », *Journal of the Optical Society of America* **52**(10), p. 1123–1130, 1962.
- [29] M. Malek, H. Khelifa, P. Picart, D. Mounier et C. Poilâne, « Microtomography imaging of an isolated plant fiber: a digital holographic approach », *Applied Optics* **55**(3), p. A111–A121, 2016.
- [30] J. Zhang, Z. Ren, J. Zhu et Z. Lin, « Phase-shifting lensless Fourier-transform holography with a Chinese Taiji lens », *Optics Letters* **43**(17), p. 4085–4087, 2018.
- [31] S. Mahajan, V. Trivedi, P. Vora, V. Chhaniwal, B. Javidi et A. Anand, « Highly stable digital holographic microscope using Sagnac interferometer », *Optics Letters* **40**(16), p. 3743–3746, 2015.
- [32] F. Jolivet, F. Momey, L. Denis, L. Méès, N. Faure, N. Grosjean, F. Pinston, J.-L. Marié et C. Fournier, « Regularized reconstruction of absorbing and phase objects from a single in-line hologram, application to fluid mechanics and micro-biology », *Optics Express* **26**(7), p. 8923–8940, 2018.
- [33] I. Yamaguchi et T. Zhang, « Phase-shifting digital holography », *Optics Letters* **22**(16), p. 1268–1270, 1997.
- [34] B. Simon, *Application des techniques de déconvolution multinoyaux et de tomographie diffractive optique à l'amélioration de l'imagerie microscopique 2D et 3D*, Thèse de doctorat, Université de Haute Alsace, 2007.

- [35] F. Le Clerc, L. Collot et M. Gross, « Numerical heterodyne holography with two-dimensional photodetector arrays », *Optics Letters* **25**(10), p. 716–718, 2000.
- [36] S. Zhang, D. Van Der Weide et J. Oliver, « Superfast phase-shifting method for 3-D shape measurement », *Optics Express* **18**(9), p. 9684–9689, 2010.
- [37] P. Guo et A. J. Devaney, « Digital microscopy using phase-shifting digital holography with two reference waves », *Optics Letters* **29**(8), p. 857–859, 2004.
- [38] J.-P. Liu et T.-C. Poon, « Two-step-only quadrature phase-shifting digital holography », *Optics Letters* **34**(3), p. 250–252, 2009.
- [39] K. Creath, « Phase-shifting speckle interferometry », *Applied Optics* **24**(18), p. 3053–3058, 1985.
- [40] O. Haeberlé, A. Santenac et H. Giovannini, « An introduction to diffractive tomographic microscopy », dans *Modern Research and Educational Topics in Microscopy, Formatex Microscopy Series*, tome 2, p. 956–967, Formatex, 2007.
- [41] C. Cohen-Tannoudji, B. Diu et F. Laloë, *Mécanique quantique, Savoirs actuels*, tome 1, Coédition CNRS, 2^e édition, oCLC: 1082397980, 2018.
- [42] J. A. Schmalz, G. Schmalz, T. E. Gureyev et K. M. Pavlov, « On the derivation of the Green's function for the Helmholtz equation using generalized functions », *American Journal of Physics* **78**(2), p. 181–186, 2010.
- [43] I. Fredholm, « Sur une classe d'équations fonctionnelles », *Acta Mathematica* **27**, p. 365–390, 1903.
- [44] M. Born, « On the quantum mechanics of collision processes », *Zeitschrift für Physik* **37**(12), p. 863–867, 1926.
- [45] A. C. Kak et M. Slaney, *Principles of computerized tomographic imaging*, IEEE Press, 1988.
- [46] J. B. Keller, « Accuracy and Validity of the Born and Rytov Approximations », *Journal of the Optical Society of America* **59**(8), p. 1003–1004, 1969.
- [47] A. Banos, *Dipole radiation in the presence of a conducting halfspace*, International series of monographs in electromagnetic waves, Pergamon Press, 1^{re} édition, 1966.
- [48] A. J. Devaney, « A filtered backpropagation algorithm for diffraction tomography », *Ultrasonic Imaging* **4**(4), p. 336–350, 1982.
- [49] N. Streibl, « Three-dimensional imaging by a microscope », *Journal of the Optical Society of America A* **2**(2), p. 121–127, 1985.
- [50] F. Olchewsky, J.-M. Dese, D. Donjat et F. Champagnat, « Vertical digital holographic bench for underexpanded jet gas density reconstruction », dans *Digital Holography and 3D Imaging 2019*, p. Th2B.3, OSA, Bordeaux, 2019.
- [51] F. Nicolas, V. Todoroff, A. Plyer, G. Le Besnerais, D. Donjat, F. Micheli, F. Champagnat, P. Cornic et Y. Le Sant, « A direct approach for instantaneous 3d density field reconstruction from background-oriented schlieren (BOS) measurements », *Experiments in Fluids* **57**(1), p. 13, 2016.
- [52] S. A. Alexandrov, T. R. Hillman, T. Gutzler et D. D. Sampson, « Synthetic Aperture Fourier Holographic Optical Microscopy », *Physical Review Letters* **97**(16), p. 168 102, 2006.
- [53] G. Maire, H. Giovannini, A. Talneau, P. C. Chaumet, K. Belkebir et A. Sentenac, « Phase imaging and synthetic aperture super-resolution via total internal reflection microscopy », *Optics Letters* **43**(9), p. 2173–2176, 2018.
- [54] M. K. Kim, « Wavelength-scanning digital interference holography for optical section imaging », *Optics Letters* **24**(23), p. 1693–1695, 1999.

- [55] L. Yu et M. K. Kim, « Wavelength-scanning digital interference holography for tomographic three-dimensional imaging by use of the angular spectrum method », *Optics Letters* **30**(16), p. 2092–2094, 2005.
- [56] T. Kim, R. Zhou, M. Mir, S. D. Babacan, P. S. Carney, L. L. Goddard et G. Popescu, « White-light diffraction tomography of unlabelled live cells », *Nature Photonics* **8**(3), p. 256–263, 2014.
- [57] S. Vertu, J.-J. Delaunay, I. Yamada et O. Haeberlé, « Diffraction microtomography with sample rotation: influence of a missing apple core in the recorded frequency space », *Central European Journal of Physics* **7**(1), p. 22–31, 2009.
- [58] Y.-C. Lin et C.-J. Cheng, « Sectional imaging of spatially refractive index distribution using coaxial rotation digital holographic microtomography », *Journal of Optics* **16**(6), p. 065 401, 2014.
- [59] R. Bachelot, C. Ecoffet, D. Deloeil, P. Royer et D.-J. Lounnot, « Integration of micrometer-sized polymer elements at the end of optical fibers by free-radical photopolymerization », *Applied Optics* **40**(32), p. 5860–5871, 2001.
- [60] J. Kostencka, T. Kozacki, A. Kuś et M. Kujawińska, « Accurate approach to capillary-supported optical diffraction tomography », *Optics Express* **23**(6), p. 7908–7923, 2015.
- [61] K. Kim, J. Yoon et Y. Park, « Simultaneous 3d visualization and position tracking of optically trapped particles using optical diffraction tomography », *Optica* **2**(4), p. 343–346, 2015.
- [62] A. Kus, M. Dudek, B. Kemper, M. Kujawinska et A. Vollmer, « Tomographic phase microscopy of living three-dimensional cell cultures », *Journal of Biomedical Optics* **19**(4), p. 046 009, 2014.
- [63] M. Kujawińska, W. Krauze, A. Kus, J. Kostencka, T. Kozacki, B. Kemper et M. Dudek, « Problems and Solutions in 3-D Analysis of Phase Biological Objects by Optical Diffraction Tomography », *International Journal of Optomechatronics* **8**(4), p. 357–372, 2014.
- [64] A. Ashkin, « Acceleration and Trapping of Particles by Radiation Pressure », *Physical Review Letters* **24**(4), p. 156–159, 1970.
- [65] M. Habaza, B. Gilboa, Y. Roichman et N. T. Shaked, « Tomographic phase microscopy with 180° rotation of live cells in suspension by holographic optical tweezers », *Optics Letters* **40**(8), p. 1881–1884, 2015.
- [66] Y.-c. Lin, H.-C. Chen, H.-Y. Tu, C.-Y. Liu et C.-J. Cheng, « Optically driven full-angle sample rotation for tomographic imaging in digital holographic microscopy », *Optics Letters* **42**(7), p. 1321–1324, 2017.
- [67] J. Gimsa, P. Marszalek, U. Loewe et T. Tsong, « Dielectrophoresis and electrorotation of neurospora slime and murine myeloma cells », *Biophysical Journal* **60**(4), p. 749–760, 1991.
- [68] B. Le Saux, B. Chalmond, Y. Yu, A. Trouvé, O. Renaud et S. Shorte, « Isotropic high-resolution three-dimensional confocal micro-rotation imaging for non-adherent living cells », *Journal of Microscopy* **233**(3), p. 404–416, 2009.
- [69] M. Habaza, M. Kirschbaum, C. Guernth-Marschner, G. Dardikman, I. Barnea, R. Korenstein, C. Duschl et N. T. Shaked, « Rapid 3d Refractive-Index Imaging of Live Cells in Suspension without Labeling Using Dielectrophoretic Cell Rotation », *Advanced Science* **4**(2), p. 1600 205, 2017.
- [70] M. M. Villone, P. Memmolo, F. Merola, M. Mugnano, L. Miccio, P. L. Maffettone et P. Ferraro, « Full-angle tomographic phase microscopy of flowing quasi-spherical cells », *Lab on a Chip* **18**(1), p. 126–131, 2018.
- [71] F. Olchewsky, F. Champagnat et J.-M. Dese, « Multidirectional holographic interferometer for 3d gas density reconstruction », dans *Imaging and Applied Optics 2018*, p. 3W5G.4, OSA,

Orlando, Florida, 2018.

- [72] J. W. Goodman, *Introduction to Fourier optics*, W.H. Freeman, Macmillan Learning, New York, 4^e édition, 2017.
- [73] S. S. Kou et C. J. R. Sheppard, « Image formation in holographic tomography: high-aperture imaging conditions », *Applied Optics* **48**(34), p. H168–H175, 2009.
- [74] Y. Cotte, F. Toy, P. Jourdain, N. Pavillon, D. Boss, P. Magistretti, P. Marquet et C. Depeursinge, « Marker-free phase nanoscopy », *Nature Photonics* **7**(2), p. 113–117, 2013.
- [75] J. Lim, K. Lee, K. H. Jin, S. Shin, S. Lee, Y. Park et J. C. Ye, « Comparative study of iterative reconstruction algorithms for missing cone problems in optical diffraction tomography », *Optics Express* **23**(13), p. 16 933–16 948, 2015.
- [76] T. Zhang, K. Unger, G. Maire, P. C. Chaumet, A. Talneau, C. Godhavarti, H. Giovannini, K. Belkebir et A. Sentenac, « Multi-wavelength multi-angle reflection tomography », *Optics Express* **26**(20), p. 26 093, 2018.
- [77] B. Vinoth, X.-J. Lai, Y.-C. Lin, H.-Y. Tu et C.-J. Cheng, « Integrated dual-tomography for refractive index analysis of free-floating single living cell with isotropic superresolution », *Scientific Reports* **8**(1), p. 5943, 2018.
- [78] E. Wolf, « Three-dimensional structure determination of semi-transparent objects from holographic data », *Optics Communications* **1**(4), p. 153–156, 1969.
- [79] R. Dändliker et K. Weiss, « Reconstruction of the three-dimensional refractive index from scattered waves », *Optics Communications* **1**(7), p. 323–328, 1970.
- [80] V. Lauer, « New approach to optical diffraction tomography yielding a vector equation of diffraction tomography and a novel tomographic microscope », *Journal of Microscopy* **205**(2), p. 165–176, 2002.
- [81] M. Gu et C. J. R. Sheppard, « Three-dimensional transfer functions in 4pi confocal microscopes », *Journal of the Optical Society of America A* **11**(5), p. 1619–1627, 1994.
- [82] H. Liu, *Microscopie tomographique diffractive en réflexion et profilométrie multi-angles*, Thèse de doctorat, Université de Haute Alsace, 2012.
- [83] E. Mudry, P. C. Chaumet, K. Belkebir, G. Maire et A. Sentenac, « Mirror-assisted tomographic diffractive microscopy with isotropic resolution », *Optics Letters* **35**(11), p. 1857–1859, 2010.
- [84] G. T. Herman, *Fundamentals of computerized tomography: image reconstruction from projections*, Advances in pattern recognition, Springer, Dordrecht ; New York, 2^e édition, oCLC: ocn435423235, 2009.
- [85] A. Burvall, U. Lundström, P. A. C. Takman, D. H. Larsson et H. M. Hertz, « Phase retrieval in X-ray phase-contrast imaging suitable for tomography », *Optics Express* **19**(11), p. 10 359– 10 376, 2011.

SIMPLIFICATIONS DES RECONSTRUCTIONS

Sommaire

1 Introduction	37
1.1 Problématique	38
1.2 Transformée d'Abel inverse	38
1.2.1 État de l'art	38
1.2.2 Transformée de Fourier-Hankel modifiée	39
1.2.3 Résultats	41
2 Reconstruction par rotation numérique	41
2.1 Dispositif expérimental	42
2.2 Cas d'une fibre de longueur infinie	44
2.2.1 Méthode	44
2.2.2 Simulations	45
2.2.3 Influence de la position de la calotte	46
2.2.4 Influence du bruit	48
2.2.5 Prise en compte de la réalité expérimentale	49
2.3 Cas d'une fibre de longueur finie	50
2.3.1 Méthode	50
2.3.2 Simulations	50
2.3.3 Remplissage fréquentiel	53
2.3.4 Application à des données expérimentales	55
2.3.5 Reconstruction avec défauts	57
3 Échantillonnage et interpolation	58
3.1 Type d'interpolation	58
3.2 Taille des images	59
4 Conclusion	60

1 Introduction

Pour obtenir une résolution augmentée et isotrope en MTD, il est nécessaire de réaliser une combinaison de rotations d'illumination et de spécimen (voir section 2.5.2). Cependant cette technique est expérimentalement complexe à mettre en œuvre : à chaque position angulaire de l'objet correspond un volume de données acquises qu'il faut recalcr par rapport aux suivants. Dans ce chapitre, les inconvénients du MTD en rotation de spécimen sont exposés. Nous verrons qu'en exploitant les symétries de l'échantillon, il est possible de simplifier le processus d'acquisition. Dans

notre cas, les méthodes classiques basées sur la transformée d'Abel, ne pourront être appliquées au cas de la microscopie diffractive. J'ai proposé et étudié plusieurs solutions, uniquement numériques, adaptées à cette problématique.

1.1 Problématique

En 2017, Simon *et al.* [26] ont présenté pour la première fois une réalisation expérimentale de MTD combinant rotation d'illumination et de spécimen. Les résultats montrent l'obtention d'une résolution augmentée et quasi isotrope dans les trois dimensions (voir figure 1.28 du chapitre 1).

Cependant, il a été relevé une légère diminution de la résolution transverse entre ces images et celles obtenues en rotation d'illumination simple : elle provient des imprécisions lors du recalage entre les volumes enregistrés pour les différentes positions angulaires du spécimen. De plus, la rotation de spécimen requiert par exemple l'emploi de techniques particulières devant permettre à l'échantillon de tourner sur lui-même, comme des pinces optiques [66,87] ou des techniques de diélectrophorèse [70]. Mais dans le cas où l'échantillon est mal positionné, ce dernier effectue une précession autour d'un axe inconnu, pouvant potentiellement sortir du champ observable. Par conséquent, les temps d'acquisition peuvent augmenter considérablement, puisqu'à chaque position angulaire il faut vérifier que l'objet est toujours visible, et les recalages numériques en sont compliqués.

C'est pourquoi, après avoir démontré les limites de la transformée d'Abel inverse, je propose de simplifier le processus d'acquisition pour des spécimens axisymétriques, grâce à différentes méthodes s'appuyant uniquement sur une rotation numérique des données.

1.2 Transformée d'Abel inverse

1.2.1 État de l'art

La transformée d'Abel inverse est une méthode de reconstruction souvent utilisée pour l'étude du comportement ou de la composition de fluides comme des interactions laser-plasma : elle permet d'obtenir les cartes d'une grandeur physique quelconque à partir de la mesure expérimentale de son gradient. La figure 2.1(a) montre les résultats obtenus par Merk *et al.* [88]. Grâce à la technique d'ablation laser induite par plasma LIBS (*laser-induced breakdown spectroscopy*), ils ont obtenu le spectre d'émission d'un plasma d'argon en fonction de la longueur d'onde à l'aide d'un laser pulsé Nd:YAG. Toujours en LIBS, Nguyen *et al.* [89] ont focalisé un laser pulsé sub-nanoseconde Ti:saphire sur un plasma de silice et retrouvé la carte de phase grâce à un interféromètre de Nomarski (figure 2.1(b)).

La transformée d'Abel peut aussi être utilisée dans l'étude de jets de gaz. Par exemple, Fukuda *et al.* ont imagé la variation d'indice optique de l'écoulement d'un gaz transparent dans l'air grâce à un dispositif d'holographie en décalage de phase [90] (figure 2.1(c)). Avtaeva *et al.* l'ont utilisé dans l'étude de jets de gaz supersoniques [91].

Dans le cas particulier de spécimens à symétrie axiale, la transformée d'Abel inverse permet d'obtenir la carte d'indice optique en trois dimensions. On peut donc décrire le processus d'acquisition et de reconstruction de l'indice optique d'un tel échantillon (figure 2.2). L'échantillon est illuminé perpendiculairement à l'axe de symétrie. L'image enregistrée est l'intégrale en ligne de l'échantillon le long de l'axe de propagation, correspondant à une projection de l'objet sur le capteur. On effectue ensuite une transformée d'Abel inverse afin de reconstruire la distribution radiale de l'indice. Pour obtenir l'image finale, une rotation numérique 3D des données est réalisée.

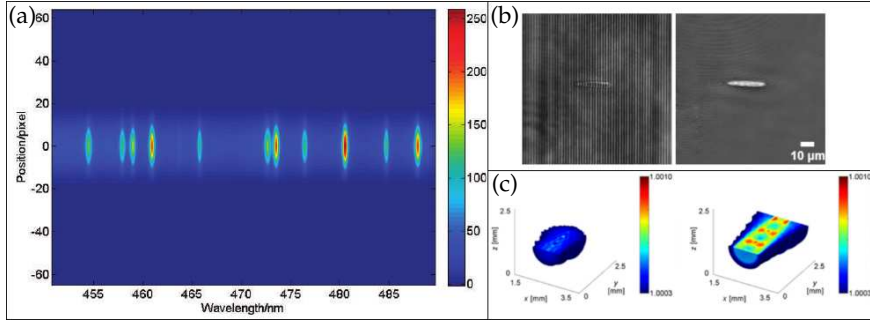


FIGURE 2.1 (a) Spectre d'émission d'un plasma d'argon par Merk *et al.* [88]. (b) Carte de phase obtenue en interférométrie par Nguyen *et al.* [89]. (c) Reconstruction de la variation d'indice optique d'un gaz par Fukuda *et al.* [90].

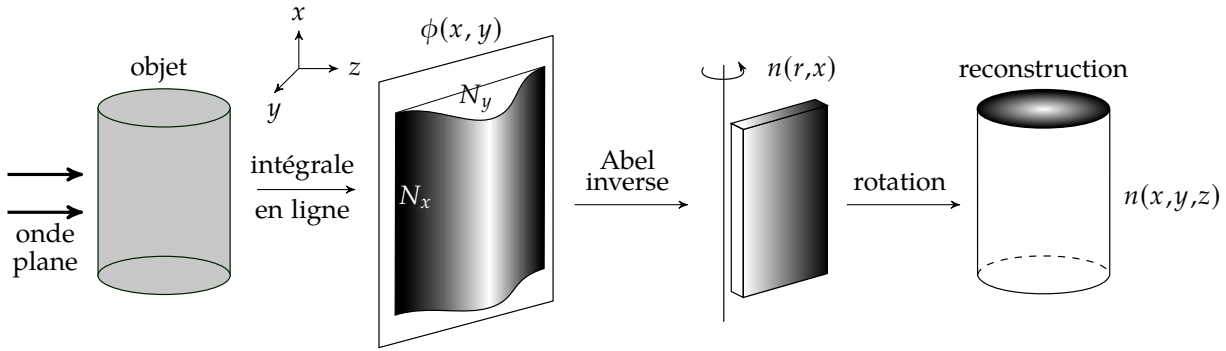


FIGURE 2.2 Reconstruction 3D de l'objet en utilisant la méthode d'inversion d'Abel.

1.2.2 Transformée de Fourier-Hankel modifiée

La différence de phase $\phi(x, y)$ introduite par un échantillon est :

$$\phi(x, y) = \int_S \frac{2\pi}{\lambda_0} \Delta n(x, y, z) dz, \quad (2.1)$$

où S est le domaine de l'échantillon, λ_0 la longueur d'onde d'illumination et $\Delta n(x, y, z) = n(x, y, z) - n_{im}$ est la différence d'indice relative entre l'objet et le milieu d'immersion d'indice n_{im} . Il a été démontré que pour des objets axisymétriques il est possible d'inverser la relation (2.1) et retrouver ainsi la distribution d'indice [90] :

$$n(r, x) = n_{im} + \frac{\lambda_0}{2\pi^2} \int_r^R \frac{\partial \phi(x, y)}{\partial y} \frac{1}{\sqrt{y^2 - r^2}} dy, \quad (2.2)$$

où $r = \sqrt{y^2 + z^2}$ et R est une valeur arbitraire maximale que peut atteindre r . Le terme $\partial \phi(x, y) / \partial y$ correspond au gradient de phase le long de l'axe y . L'objet étant symétrique, la taille de l'image du gradient suivant cette direction peut être divisée par 2, soit au final une largeur de $N_y/2$, où N_y est la largeur de la zone d'intérêt de l'image de phase enregistrée.

L'inconvénient de cette méthode est la singularité présente en $y = r$. Plusieurs solutions à ce problème existent : ajustement par des polynômes du troisième degré ou de Legendre, décomposition en ondelettes ou transformée de Fourier-Hankel modifiée (*modified Fourier-Hankel*, MFH) [92–94]. J'ai utilisé cette dernière, proposée la première fois par Kalal *et al.* en 1988 [95].

On considère un objet semi-transparent ; l'intensité radiale mesurée $I(y)$ après la traversée de l'échantillon est fonction de la donnée que l'on veut retrouver $\varepsilon(r)$:

$$I(y) = 2 \int_y^R \frac{\varepsilon(r)r}{\sqrt{r^2 - y^2}} dr . \quad (2.3)$$

La transformée d'Abel inverse donne alors l'expression du potentiel local en fonction du gradient d'intensité :

$$\varepsilon(r) = -\frac{1}{\pi} \int_r^R \frac{\partial I(y)}{\partial y} \frac{1}{\sqrt{y^2 - r^2}} dy . \quad (2.4)$$

Si la fonction d'intensité est symétrique autour de $y = 0$, continue sur son ensemble de définition et nulle en dehors, l'équation (2.3) peut être réécrite comme une somme discrète de cosinus [95] :

$$I(y) = a_0 + \sum_{k=1}^{+\infty} a_k \cos\left(\frac{k\pi y}{R}\right) , \quad (2.5)$$

où a_k sont les coefficients de Fourier. En injectant (2.5) dans (2.4) on obtient alors :

$$\varepsilon(r) = \frac{\pi}{2R} \sum_{k=1}^{\infty} k a_k g(k\pi/R, r, R) , \quad (2.6)$$

avec

$$g(\omega, r, R) = \frac{2}{\pi} \int_r^R \frac{\sin(\omega y)}{\sqrt{y^2 - r^2}} dy , \quad (2.7)$$

et $\omega = k\pi/R$. Si $R \rightarrow \infty$ alors $g(\omega, r, R)$ tend vers la fonction de Bessel de première espèce d'ordre zéro $J_0(\omega r)$. L'équation (2.6) devient ainsi la transformée de Hankel :

$$\varepsilon(r) = \frac{1}{2\pi} \int_0^{\infty} \omega \mathcal{F}\{I\}(\omega) J_0(\omega r) d\omega , \quad (2.8)$$

où $\mathcal{F}\{I\}(\omega)$ est la transformée de Fourier continue de $I(y)$. En appliquant la transformée de Fourier à l'intensité $I(y)$ de l'équation (2.3), on peut montrer qu'elle est égale à la transformée de Hankel du potentiel $\varepsilon(r)$ en coordonnées polaires [96]. Par conséquent, en posant $d\omega \simeq \Delta\omega = \alpha\pi/R$ le pas discret en fréquence avec α le facteur d'échantillonnage et en appliquant une transformée de Hankel inverse sur $\mathcal{F}\{I\}(\omega)$, l'équation (2.8) devient :

$$\varepsilon(r_i) = \frac{\alpha^2 \pi}{2N_y R} \sum_{k=1}^{N_y} k \mathcal{F}\{I\}(\alpha k) J_0\left(\frac{\alpha i k \pi}{N_y}\right) , \quad (2.9)$$

où l'on définit $r_i = i\Delta r$, $y_j = j\Delta y$ avec $(i, j) \in \{0, 1, \dots, N_y\}$ et $\Delta r = \Delta y = R/N_y$ l'écart entre deux points de mesure. La transformée de Fourier réelle discrète de l'intensité au pixel y_j de l'image finale s'écrit :

$$\mathcal{F}\{I\}(\alpha k) = \sum_{j=-N_y}^{N_y-1} I(y_j) \cos\left(\frac{\alpha j k \pi}{N_y}\right) . \quad (2.10)$$

Pour satisfaire au critère de Nyquist on choisira $\alpha \leq 1$ [97]. L'expression de l'image reconstruite, appelée transformée de Fourier-Hankel modifiée, s'écrit alors dans le cas discret :

$$\varepsilon(r_i) = \frac{\alpha^2 \pi}{N_y R} \sum_{j=0}^{N_y} \omega_j I(y_j) \sum_{k=1}^{\lfloor \eta N_y / \alpha \rfloor} k J_0\left(\frac{\alpha i k \pi}{N_y}\right) \cos\left(\frac{\alpha j k \pi}{N_y}\right) , \quad (2.11)$$

où

- $\omega_j = 0,5$ si $j = 0$ ou N_y , 1 sinon ;
- $[\cdot]$ désigne la partie entière ;
- η est le facteur d'adoucissement appartenant à l'intervalle $[0;1]$.

1.2.3 Résultats

Afin de tester cette méthode de reconstruction, j'ai simulé un cylindre de diamètre $5 \mu\text{m}$ d'indice de réfraction $n(x,y,z) = 1,43$ et calculé la différence de phase introduite avec une longueur d'illumination dans le vide $\lambda_0 = 633 \text{ nm}$ et un milieu d'immersion d'indice $n_{\text{im}} = 1,51$. Étant donné que des variations de α n'affectent que très peu la qualité de reconstruction, seuls les profils correspondant aux reconstructions suivant différentes valeurs de facteur d'adoucissement η (0,8, 0,6, 0,4 et 0,2) avec $\alpha = 0,01$ sont présentés dans la figure 2.3. Cette valeur de α est la même que celle choisie par Ma [98]. Sachant que les calculs de l'algorithme de reconstruction sont basés sur la moitié de la projection de l'image initiale, les profils sont construits sur la moitié de la section, compte-tenu de la symétrie de l'échantillon (cf. schéma 2.2).

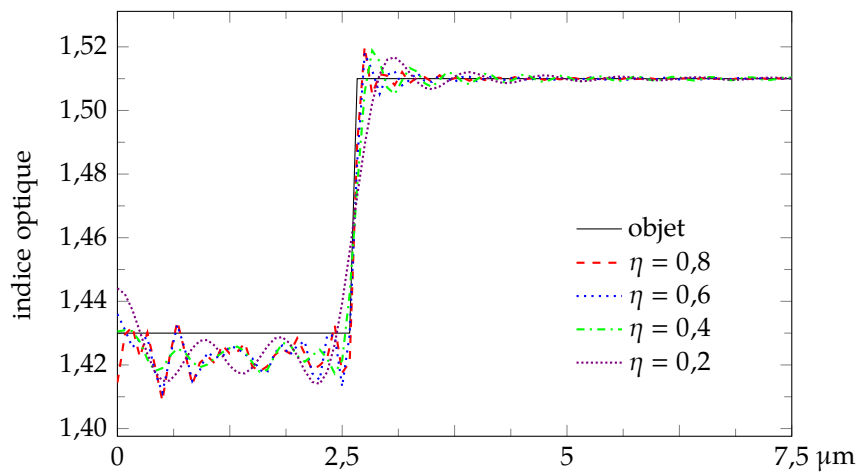


FIGURE 2.3 Comparaison des reconstructions en MFH avec $\alpha = 0,01$ pour différentes valeurs de η .

Bien que cette approche montre des reconstructions de bonne qualité, cette transformée ne peut être appliquée qu'à des spécimens purement absorbant ou de phase pure. De plus, comme nous le voyons dans l'équation (2.2), la diffraction n'est pas prise en compte, ce qui limite l'application de la méthode à des objets relativement grands par rapport à la longueur d'onde d'observation. Ces méthodes de reconstruction ne peuvent donc pas être appliquées aux échantillons microscopiques qui, par définition, sont proches en taille de la longueur d'onde d'observation. Pour cela, j'ai étudié plusieurs méthodes de reconstruction de spécimens axisymétriques utilisables en MTD.

2 Reconstruction par rotation numérique

Dans cette partie, différentes techniques de reconstruction tenant compte de la diffraction sont proposées, basées sur une seule acquisition, qu'elle soit holographique ou tomographique. Je décris tout d'abord le montage optique nécessaire à l'obtention des images, puis détaille les méthodes proposées, que j'ai appliquées à des objets simulés. Enfin, cette méthode est appliquée à des données expérimentales.

2.1 Dispositif expérimental

Un schéma de la configuration de MTD utilisée pour ce travail est présenté figure 2.4. La source laser (475 nm DPSS B&W Tek BWB-475-10-OEM) est séparée en deux faisceaux grâce à un séparateur, un faisceau pour la référence (en bleu sur la figure 2.4), l'autre pour l'illumination (en vert). Le contrôle de l'illumination est assuré par le miroir tip/tilt M_1 (Newport[®] FSM-300) et le diaphragme de champ DC. L'onde d'illumination est focalisée grâce à un objectif de microscope utilisé comme condenseur (100× NA = 1,4 immersion à huile Olympus[®]) puis diffractée par l'échantillon. L'onde résultante est alors collectée par un objectif (100× NA = 1,4 immersion à huile Olympus[®]). L'onde diffractée est ensuite collimatée par une lentille de tube L_T puis filtrée et agrandie par un système afocal L_2 -DO- L_3 . Finalement, pour chaque angle d'illumination, des interférences entre l'onde diffractée et l'onde de référence sont générées grâce au cube recombineur et enregistrées sur une caméra CMOS (PHF-MV1-D2048-96-G2 PhotonFocus[®]). Étant un système de tomographie hors axe, le module et la phase de l'onde sont calculés via une démodulation spatiale [99]. Typiquement, une acquisition tomographique nécessite l'enregistrement de plusieurs dizaines à centaines d'hologrammes à différents angles d'illumination.

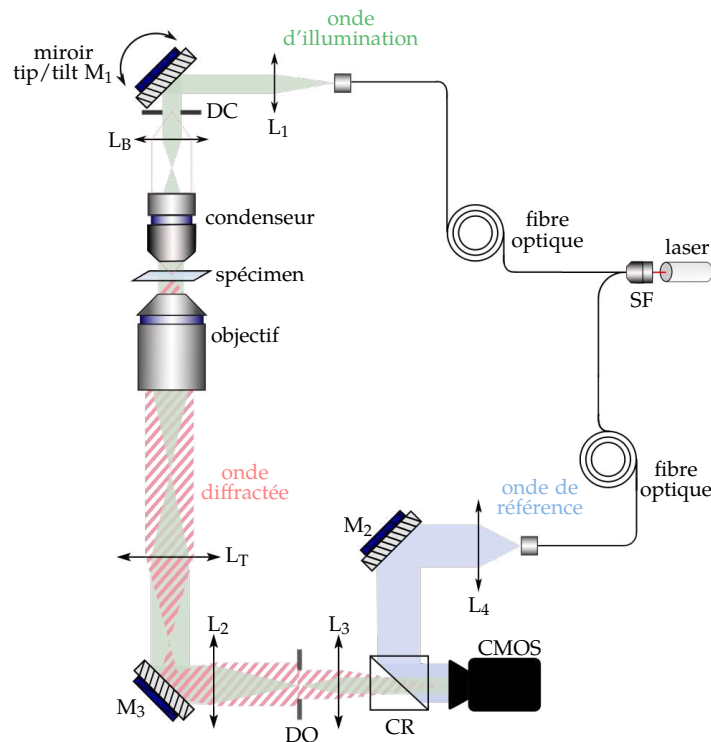


FIGURE 2.4 Schéma du MTD au laboratoire. SF : séparateur de faisceau. L_1 et L_4 : lentilles de collimation. DC : diaphragme de champ. L_B : lentille de balayage. L_T : lentille de tube. D_2 : diaphragme d'ouverture. CR : cube recombineur. M_2 et M_3 : miroirs. L_2 - L_3 : système télécentrique. DO : diaphragme d'ouverture.

Nous avons vu dans la figure 1.24 du chapitre 1 que dans un dispositif d'imagerie holographique, d'après la première approximation de Born [100], les vecteurs objets dessinent la sphère d'Ewald, et qu'il n'est possible expérimentalement d'enregistrer qu'une portion de cette même sphère.

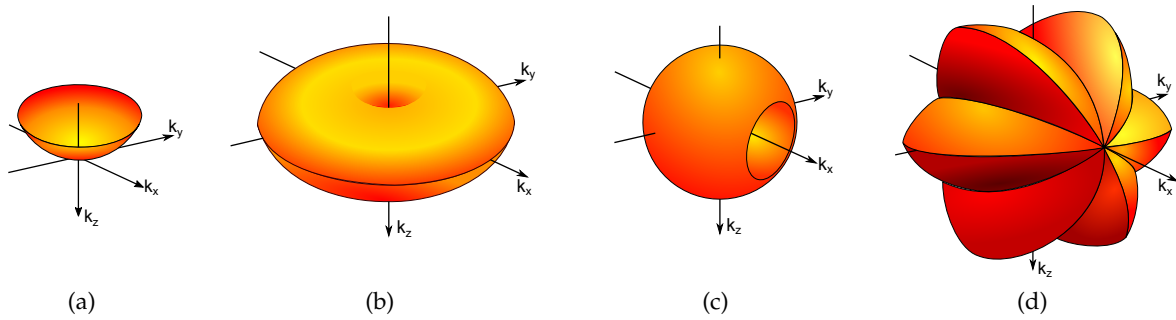


FIGURE 2.5 (a) OTF d'un microscope holographique. (b) OTF d'un MTD par rotation d'illumination. (c) OTF d'un MTD avec rotation d'échantillon. (d) OTF pour une combinaison de rotations d'illumination et d'échantillon (0° , 60° et 120°).

Par la suite, grâce au MTD, nous savons qu'il est possible de réaliser une synthèse d'ouverture numérique et d'obtenir différentes formes d'OTF suivant la mise en place d'une rotation d'illumination (figure 1.25(a)), de spécimen (figure 1.25(b)) ou une combinaison des deux (figure 1.27(e)), et dont les représentations en trois dimensions sont illustrées par les figures 2.5(b),(c),(d) respectivement.

Nous en avons déduit que la qualité de reconstruction dépend fortement de la méthode d'acquisition. Dans le cas de la rotation de spécimen, il est nécessaire d'acquérir typiquement un hologramme par degré [66]. En combinant rotations d'illumination et d'objet, plusieurs centaines voire milliers d'hologrammes sont alors nécessaires. De plus, la qualité de la reconstruction dépend de la précision des recalages image par image lors de la rotation de spécimen. Ces inconvénients font que ce genre de méthode est peu utilisée car complexe à mettre en place et à traiter.

Mais il est tout de même possible dans certains cas de lever cette difficulté via l'exploitation des propriétés de l'échantillon étudié. En effet, plus le nombre de symétries du spécimen est important, plus on peut diminuer le nombre d'opérations nécessaires au remplissage de l'espace de Fourier. C'est pourquoi je me suis intéressé à la reconstruction de spécimens axisymétriques. Dans ce cas, une seule acquisition contient toute l'information provenant de l'échantillon. L'exploitation de la symétrie circulaire permet ainsi de remplir numériquement l'espace de Fourier correspondant. De ce fait, cette opération, comblant le *missing cone*, permet de retrouver une information quantitative de l'indice optique. C'est pourquoi j'ai proposé différentes méthodes basées sur la rotation numérique des données obtenues grâce à une unique acquisition, qu'elle soit holographique ou tomographique.

Pour un objet axisymétrique, la solution la plus simple pour la reconstruction consiste à effectuer une rotation d'un certain angle autour de l'axe de rotation du spécimen. Nous savons que pour un objet axisymétrique suivant x , l'égalité suivante est respectée :

$$g(x', y', z') = g(x, y \cos \theta + z \sin \theta, -y \sin \theta + z \cos \theta), \quad (2.12)$$

où g est la fonction objet d'origine, θ l'angle de rotation perpendiculaire à l'axe de symétrie (ici x), (x, y, z) les coordonnées initiales et (x', y', z') les nouvelles coordonnées cartésiennes après rotation (cf. figure 2.6). J'ai appelé cette méthode DINER (DHM Image NumErical Rotation).

Cependant, à cette rotation dans l'espace direct correspond une rotation dans l'espace fréquentiel. En partant du théorème de la tranche centrale dans l'espace de Fourier, l'équivalence de rotation

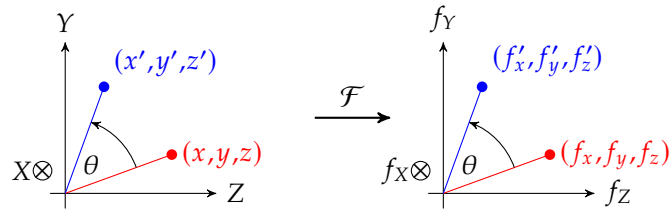


FIGURE 2.6 Correspondance de la rotation d'un angle θ entre les espaces direct (à gauche) et fréquentiel (à droite).

autour de l'axe x entre les deux espaces s'écrit mathématiquement (p. 37 dans [73] adapté au cas tridimensionnel) :

$$g(x', y', z') = \mathcal{F}^{-1} \{ \mathcal{F} \{ g \} (f_x, f_y \cos \theta + f_z \sin \theta, -f_y \sin \theta + f_z \cos \theta) \} , \quad (2.13)$$

où \mathcal{F} et \mathcal{F}^{-1} désignent respectivement les opérations de transformée de Fourier directe et inverse et $(f_x, f_y, f_z) = (k_x, k_y, k_z)/2\pi$ les fréquences correspondant aux coordonnées initiales (x, y, z) . Cette équation correspondant à une rotation dans l'espace de Fourier, j'ai appelé cette méthode FINER (Fourier Image NumÉrical Rotation).

Il est donc possible de remplir notamment le *missing cone* en exploitant les symétries de l'échantillon [101]. On obtient alors une approximation du spectre que l'on aurait eu en effectuant une véritable rotation du spécimen (voir figure. 2.5(c)), avec l'avantage de simplifier le processus d'acquisition tout en réduisant sa durée. Dans la partie suivante, j'exploite les propriétés géométriques de spécimens axisymétriques en proposant plusieurs méthodes de reconstruction basées sur une seule acquisition expérimentale, quelle soit holographique ou tomographique.

2.2 Cas d'une fibre de longueur infinie

2.2.1 Méthode

Afin d'exploiter les symétries de l'échantillon tout en tenant compte de la diffraction, j'ai développé une méthode décrite figure 2.7 : le spectre de l'hologramme enregistré (après démodulation spatiale) correspond à une portion de sphère dans l'espace de Fourier 3D. Ainsi, seulement une quantité limitée de fréquences est acquise.

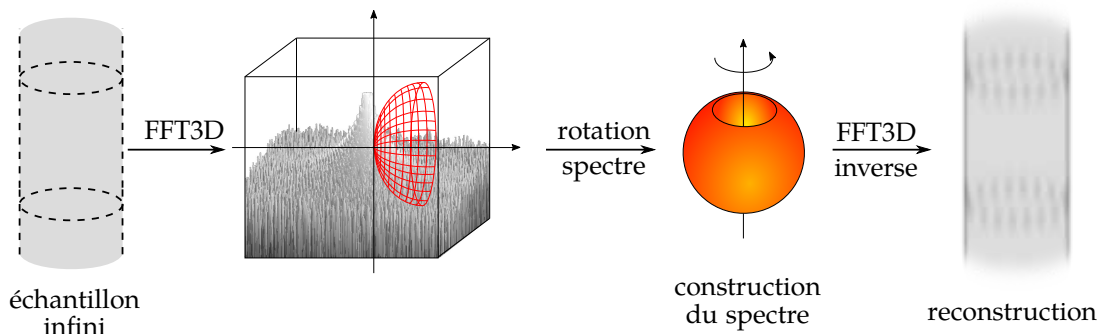


FIGURE 2.7 Principe de la méthode FINER de reconstruction pour des échantillons infiniment longs selon l'axe de rotation.

Soit une illumination de longueur d'onde $\lambda = 475 \text{ nm}$ et un objectif d'ouverture numérique 1,4 en détection. Afin de rapprocher la simulation des cas expérimentaux, j'ai choisi une fibre avec un cœur d'indice $n_{co} = 1,45$ de diamètre $1 \mu\text{m}$ et une gaine d'indice $n_{cl} = 1,43$ de diamètre $5 \mu\text{m}$, plongée dans un milieu d'indice $n_{im} = 1,51$, et illuminée perpendiculairement à son axe de rotation. Étant donné que la fibre est infiniment longue, le problème 3D est réduit à un problème 2D. Je me contente donc d'une reconstruction de la coupe sagittale du spécimen.

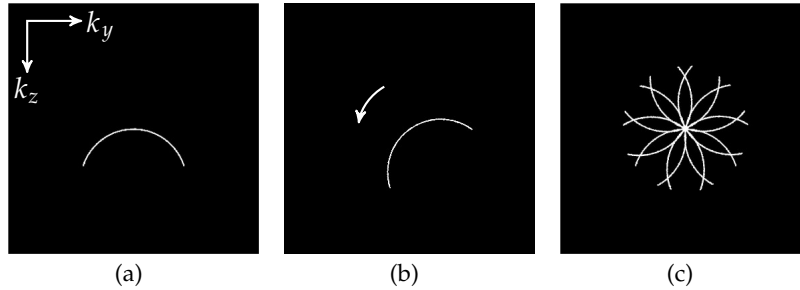


FIGURE 2.8 (a) Information accessible dans l'espace de Fourier 2D dans le cas d'une acquisition holographique. (b) Rotation numérique de l'arc de cercle. (c) Support fréquentiel final après fusion de 9 rotations.

La simulation de l'acquisition en holographie peut être réalisée en appliquant un masque, correspondant au support fréquentiel théorique, sur la transformée de Fourier de l'objet (figure 2.8(a)). Comme je travaille ici uniquement en 2D, la portion de sphère d'Ewald se limite à un arc de cercle. On peut noter que l'espace de Fourier n'est que faiblement rempli. La méthode présentée figure 2.8(b) vise à remplir l'espace de Fourier en faisant tourner numériquement le support. L'effet de cette rotation est présenté figure 2.8(c) pour 9 angles de rotation : l'espace de Fourier est davantage rempli, menant alors à une amélioration de la résolution.

2.2.2 Simulations

Dans le but de valider la méthode, considérons une première situation consistant en une fibre infiniment longue, puis le cas d'une fibre de longueur finie. L'influence du bruit sur la qualité des reconstructions est aussi étudiée.

Les résultats obtenus grâce aux méthodes DINER et FINER sont présentés figure 2.9 avec l'échantillon précédent (figure 2.9(a)). Les résultats de la première méthode (DINER) sont présentés figure 2.9(c), et dont la procédure de reconstruction peut être expliquée grâce à l'équation (2.12) : partant d'une image de DHM, on la fait tourner d'un angle θ dans l'espace direct. Pour l'ensemble des angles de rotation les données sont fusionnées dans l'espace de Fourier grâce à une FFT 2D. Enfin, une FFT 2D inverse est appliquée sur le spectre final pour reconstruire l'objet.

La seconde méthode (FINER) est basée sur une rotation des données dans l'espace de Fourier, décrite notamment par l'équation (2.13). Une FFT 2D est tout d'abord appliquée à une image de DHM pour obtenir son spectre ; ces données sont alors tournées d'un angle θ puis fusionnées dans ce même espace. À l'instar de la méthode DINER, une FFT 2D inverse est appliquée sur le spectre final pour reconstruire l'objet. La reconstruction est visible figure 2.9(c). Pour chaque type de reconstruction \hat{I} j'ai calculé la racine de l'erreur quadratique moyenne RMSE *root-mean squared*

error) par rapport à l'objet I , définie par :

$$\text{RMSE} = \sqrt{\frac{1}{L \times M \times N} \sum_{l=1}^L \sum_{m=1}^M \sum_{n=1}^N [\hat{I}(l,m,n) - I(l,m,n)]^2}, \quad (2.14)$$

où L , M et N sont les dimensions de l'image, ici en trois dimensions.

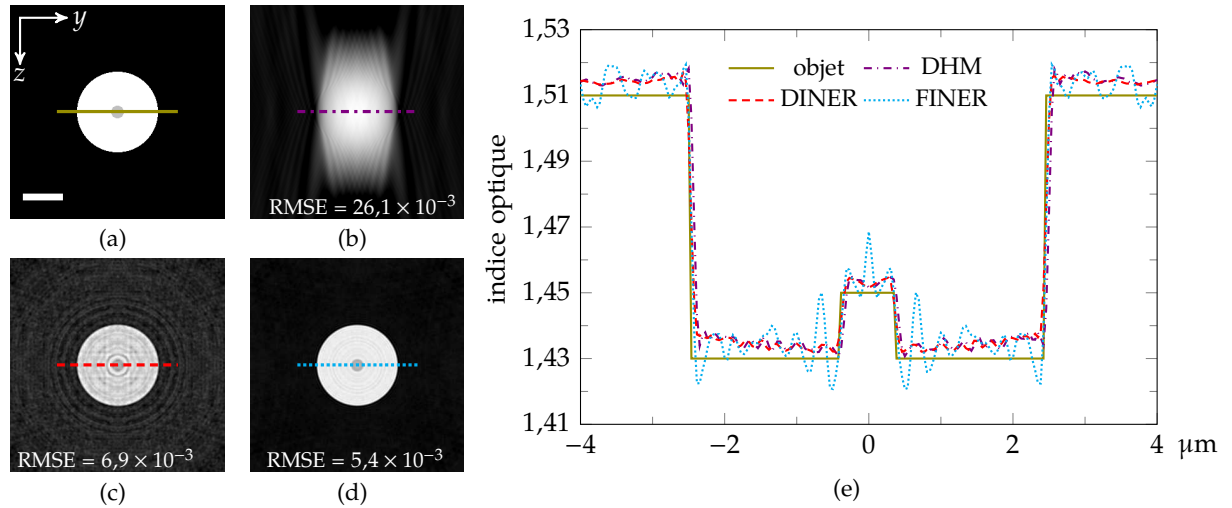


FIGURE 2.9 Illustration des méthodes de reconstruction par rotation numérique des données. (a) Objet simulé. (b) Reconstruction dans le cas d'un système holographique. (c) Reconstruction par DINER. (d) Reconstruction par FINER. (e) Profils d'indice optique. Barre d'échelle : 2,5 μm.

On remarque tout d'abord sur l'image holographique (figure 2.9(b)) la très mauvaise résolution selon l'axe z due au manque de fréquences le long de l'axe réciproque k_z (cf. figure 2.8(a)) [18]. Pour les deux méthodes, 360 angles de rotation ont été simulés. Les profils d'indice pour chaque reconstruction sont présentés figure 2.9(e). L'indice de l'objet simulé est représenté en trait plein vert; la reconstruction par la méthode DINER en tirets rouges; celle par la méthode FINER en pointillés bleus. On peut noter un bon accord entre l'objet simulé et les reconstructions obtenues par les deux méthodes. Par ailleurs, on peut constater qu'elles restituent la quasi-intégralité de l'information quantitative de l'indice optique, contrairement à la reconstruction en DHM. Cependant, il est à noter que dans le cas de la rotation dans l'espace de Fourier des oscillations de Gibbs apparaissent dues aux bords francs de l'objet.

J'ai aussi appliqué les méthodes de reconstruction à différents cylindres simulant des fibres de taille de cœur variable (figures 2.10(a)–(c)) ou une combinaison des deux (figure 2.10(d)) avec indices optiques de 1,45 pour le cœur, 1,43 pour la gaine et 1,47 pour la protection. L'objet initial est représenté sur la ligne du haut, la reconstruction en DINER sur celle du milieu et la reconstruction en FINER sur la dernière ligne. On peut observer une bonne restitution de l'information. Cependant, comme précédemment, on note aussi des ondulations autour de l'objet dues aux bords francs du cylindre.

2.2.3 Influence de la position de la calotte

Jusqu'à maintenant, je me suis limité au cas simple de l'illumination verticale sur l'échantillon, c'est-à-dire à une ouverture numérique nulle. Si l'on souhaite améliorer la résolution de la

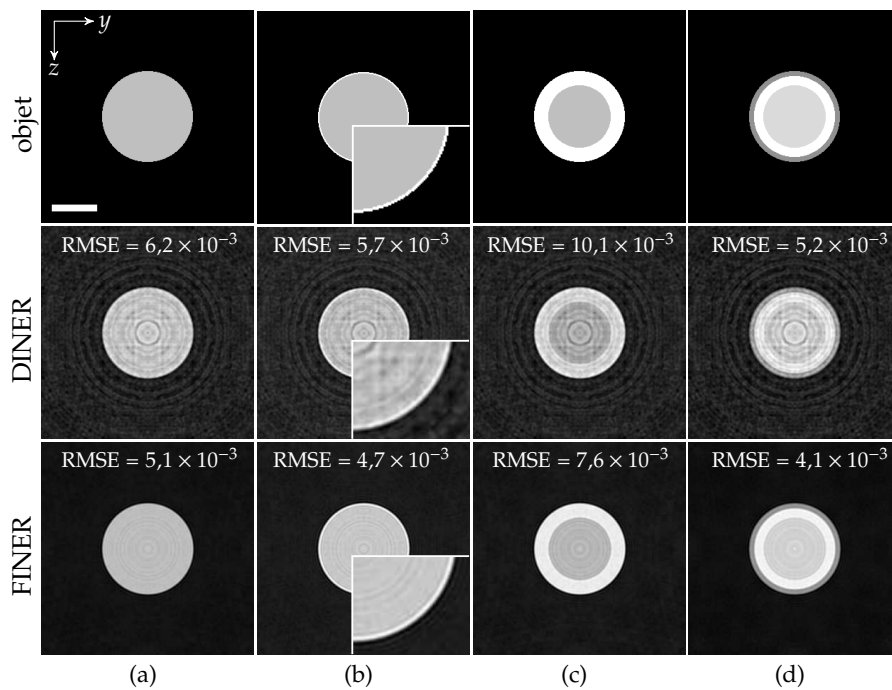


FIGURE 2.10 Reconstruction à l'aide de la méthode DINER (au milieu) et FINER (en bas) de différents types de fibres optiques pour 360 angles : (a) cœur d'indice 1,45 ; (b) cœur + gaine d'indice 1,43 de 100 nm ; (c) cœur + gaine de 1 μm et (d) cœur + gaine de 750 nm + protection d'indice 1,47 de 200 nm. Barre d'échelle : 2,5 μm .

reconstruction, il est possible de se placer dans le cas où l'on enregistrerait la calotte de sphère la plus éloignée possible, c'est-à-dire à l'ouverture numérique maximale à l'illumination (soit α_m , voir figure 1.23). La rotation numérique de ces fréquences permet alors d'augmenter la taille du spectre fréquentiel, donc la résolution théorique.

Afin de rendre compte de l'effet de la calotte de sphère extrême sur les reconstructions, j'ai simulé un objet présentant une membrane double très fine, ne pouvant être résolue qu'avec de forts angles. La figure 2.11 montre les résultats obtenus par rotation de la calotte de sphère extrême avec une ouverture numérique de 1,4 correspondant à l'angle α_m . La ligne supérieure montre le spectre de Fourier correspondant à l'image du dessous. Le résultat de la reconstruction avec une portion de sphère décalée (α_m) est comparée à celui obtenu avec la portion centrée ($\alpha = 0$). Comme précédemment, on note que plus le nombre d'angles est important, meilleure est la reconstruction.

Pour comparer de manière plus quantitative les reconstructions, j'ai tracé figure 2.11(f) les profils correspondant aux deux positions des calottes (centrale en pointillés rouges et extrême en tirets verts) comparés au profil de l'image simulée (trait plein bleu). Contrairement à ce qui est attendu, on n'observe pas d'amélioration de la résolution par rapport au cas de la calotte de sphère centrée : ceci est probablement dû au nombre angle d'illumination trop faible. Ainsi, l'effet des hautes fréquences enregistrées, dû à leur disparité, est négligeable. Ainsi, la fonction de modulation optique (cf. équation (1.50)) décroît à mesure que l'on s'éloigne vers les hautes fréquences. Cependant, on remarque que l'utilisation de la calotte extrême permet de réduire les oscillations autour des bords francs, augmentant ainsi le contraste entre le fond et l'objet reconstruit. On peut donc considérer que la reconstruction est de meilleure qualité avec la calotte de sphère extrême.

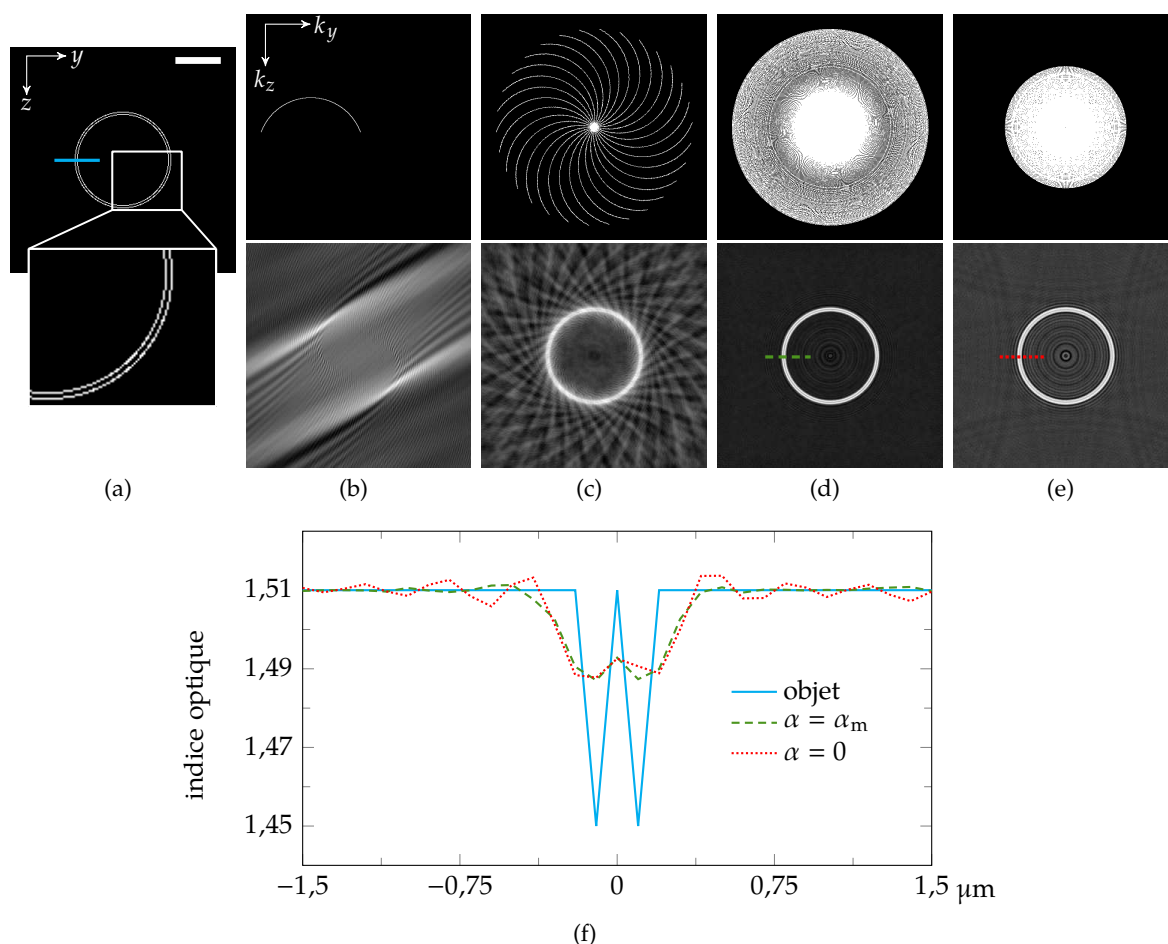


FIGURE 2.11 (a) Objet simulé. (b) Utilisation de la calotte de sphère extrême à $\alpha_m \simeq 67,5^\circ$. Reconstructions via FINER avec (c) 30 angles et (d) 360 angles de rotation. (e) Reconstruction avec la portion de sphère centrée ($\alpha = 0$). (f) Profils respectifs. Barre d'échelle : $2,5 \mu\text{m}$.

2.2.4 Influence du bruit

Dans cette partie, j'utilise le même échantillon que précédemment. Dans notre dispositif de MTD, on peut négliger le bruit de speckle puisque les tâches de tavelure ont une taille de l'ordre du champ observé (cf. p. 174 de la référence [102]). C'est pourquoi dans la simulation de bruit j'ai uniquement considéré deux origines possibles : le bruit de grenaille, poissonnien, et le bruit électronique, gaussien et prenant en compte le bruit d'obscurité et le bruit de lecture. Pour avoir un rendu réaliste, j'ai utilisé les données de la caméra fournies par le fabricant^b. Cette image bruitée est utilisée comme base pour toutes les reconstructions suivantes, étant donné que théoriquement une seule acquisition holographique est réalisée.

Le rapport signal sur bruit (SNR) a été calculé en fonction du nombre d'angles de rotation. J'ai

b. Photonfocus, <http://www.photonfocus.com/products/camerafinder/camera/mv1-d2048-96-g2>, consulté le 16/09/2019

utilisé la définition du SNR en décibels donnée par Gonzalez *et al.* [103] p. 376 :

$$\text{SNR}_{\text{dB}} = 10 \log_{10} \left[\frac{\sum_{x=0}^{M-1} \sum_{y=0}^{N-1} \hat{f}(x,y)^2}{\sum_{x=0}^{M-1} \sum_{y=0}^{N-1} [f(x,y) - \hat{f}(x,y)]^2} \right] \quad (2.15)$$

où f est l'objet d'origine sans bruit et \hat{f} l'image reconstruite avec bruit, M et N étant les dimensions de l'image. Les résultats sont tracés figure 2.12 en décibels et en échelle logarithmique.

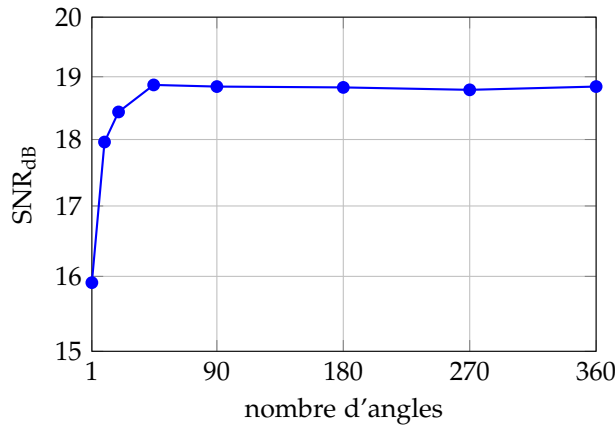


FIGURE 2.12 Représentation logarithmique du SNR en décibels en fonction du nombre d'angles de rotation.

On remarque que le SNR augmente jusqu'à 45 angles de rotation où il atteint environ 19 dB, puis reste constant jusqu'à 360 angles. Ce phénomène peut s'expliquer par le moyennage fréquentiel réalisé lors de chaque reconstruction.

2.2.5 Prise en compte de la réalité expérimentale

Bien qu'il soit légitime de réduire l'étude d'un objet 3D à un problème à deux dimensions lorsque celui-ci est infiniment long, cette démarche ne prend pas en compte des aspects d'enregistrement dans les conditions expérimentales. En effet, on doit dans ce cas considérer qu'une acquisition est une projection de l'information sur le capteur. On enregistre alors non pas simplement un arc de cercle (comme sur la figure 2.8) mais une portion de sphère (figure 2.5(a)). Pour obtenir une image en deux dimensions à partir d'une reconstruction en trois dimensions, j'ai moyenné l'ensemble des plans p suivant l'axe de rotation de l'objet. Les résultats de ces reconstructions pour 360 angles avec les deux méthodes DINER et FINER sont présentés figure 2.13.

Nous observons alors deux cas :

1. dans le premier (DINER), nous voyons que la moyenne de la projection de l'image 3D sur le plan 2D diminue un peu le bruit sur les aplats mais l'accroît de manière importante au centre de la fibre ;
2. la reconstruction en FINER, quant à elle, permet de réduire considérablement le bruit, tant sur les aplats que sur le cœur de la fibre, ce malgré le bruit important appliqué à l'objet de départ. Ainsi, on observe toujours un milieu d'immersion autour de 1,51, une gaine à 1,43 et un cœur de fibre à 1,45 environ. Cette méthode de reconstruction est donc à privilégier même dans le cas d'objets infiniment longs.

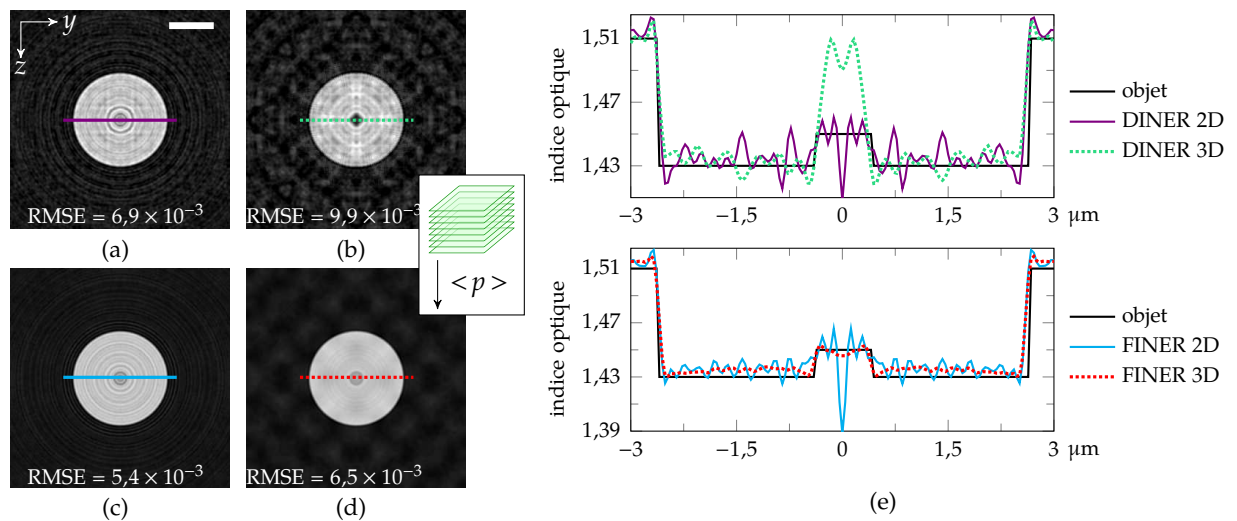


FIGURE 2.13 Comparaison des reconstructions entre (a) DINER 2D, (b) DINER 3D avec moyenne sur tous les plans p , (c) FINER 2D et (d) FINER 3D avec moyenne sur tous les plans p pour 360 angles. (e) Profils respectifs. Barre d'échelle : $2,5 \mu\text{m}$.

Par conséquent, dans la suite du manuscrit je privilégierai la rotation numérique dans l'espace de Fourier (méthodes FINER et F-TINER) lorsque cela est nécessaire.

2.3 Cas d'une fibre de longueur finie

2.3.1 Méthode

Pour des objets axisymétriques non invariants en translation selon l'axe de rotation, appliquer directement la rotation numérique des données mène à un support fréquentiel particulier. La figure 2.14 montre une comparaison entre les images de l'objet simulé et sa reconstruction via la méthode FINER. On observe sur la figure un léger manque de résolution sur la reconstruction (flèche rouge), provenant de l'absence de fréquences le long de l'axe de rotation dans l'espace de Fourier (*missing apple core* en vert sur la figure 2.14(c)) [58, 104]. Ce manque de fréquences explique aussi les oscillations observables à l'intérieur du cylindre. C'est pourquoi, pour les échantillons non invariants en translation, une seconde méthode a été développée, analogue de DINER, mais basée sur la rotation des données acquises par MTD en rotation d'illumination : je l'ai appelée TINER (TDM Image NumERical Rotation) pour une rotation des données tomographiques dans l'espace direct, F-TINER si elle a lieu dans l'espace de Fourier.

Illustrée par la figure 2.15, cette opération de rotation numérique permet d'obtenir une meilleure résolution selon l'axe de rotation de l'échantillon. S'ensuit une rotation numérique du support fréquentiel suivant ce même axe, permettant ainsi d'obtenir une amélioration de la résolution dans les deux directions orthogonales. Finalement, comme pour les méthodes FINER/DINER, une transformée de Fourier 3D inverse est calculée pour reconstruire l'objet.

2.3.2 Simulations

Le problème à trois dimensions a été étendu en simulant un objet de longueur finie le long de son axe de rotation. Le même échantillon que précédemment a été utilisé, cette fois présentant une longueur de $10 \mu\text{m}$.

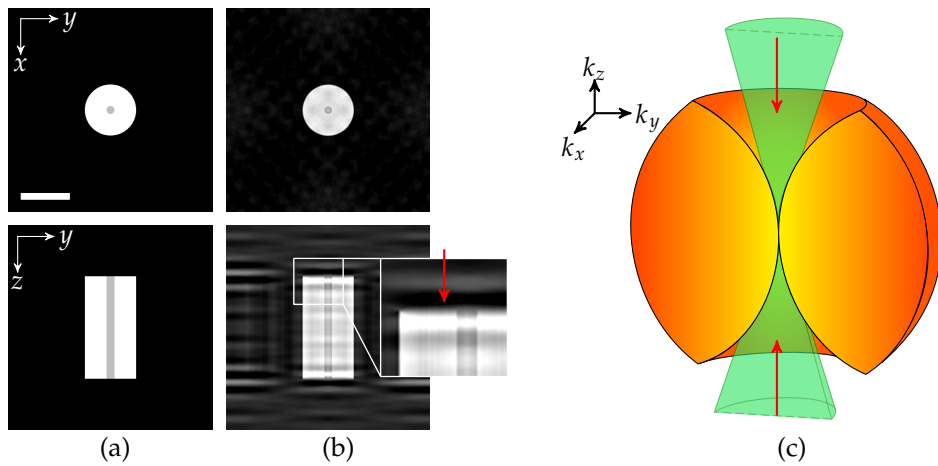


FIGURE 2.14 (a) Cylindre d'origine et (b) sa reconstruction via la méthode FINER. (c) OTF correspondante. Barre d'échelle : $5 \mu\text{m}$.

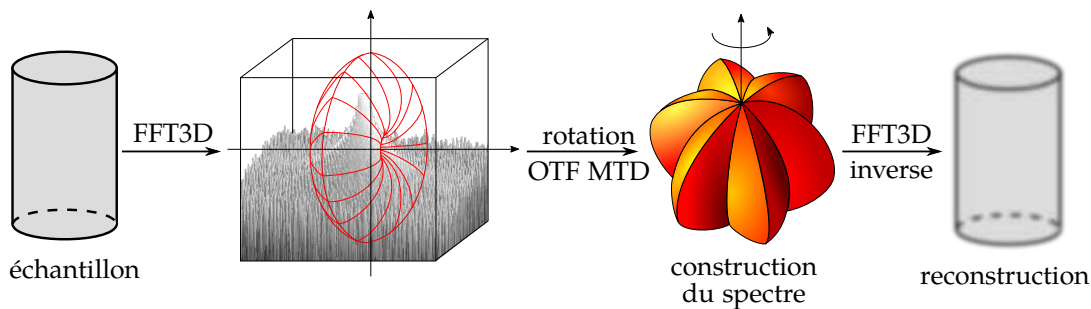


FIGURE 2.15 Principe de la méthode de reconstruction (F)-TINER pour des échantillons finis selon l'axe de rotation.

Les résultats obtenus par la méthode DINER ainsi que leurs spectres respectifs dans le plan (k_y-k_z) sont présentés figure 2.16. Les figures 2.16(a)–(c) montrent respectivement les coupes transversale, longitudinale et sagittale des reconstructions. Les figures 2.16(d)–(f) montrent la reconstruction dans le cas d'un microscope holographique, d'où les bonnes résolutions suivant les axes x et y mais la très mauvaise résolution selon z .

Les figures 2.16(h)–(j) montrent la reconstruction obtenue en MTD par rotation d'illumination, c'est-à-dire que l'espace de Fourier se présente comme indiqué dans la figure 2.5(b). On observe l'amélioration de la résolution le long de x et y comparé à l'holographie qui est due au doublement du support fréquentiel selon les axes k_x, k_y . Cependant un tel remplissage ne permet pas d'acquérir suffisamment de fréquences et l'on observe l'effet du *missing cone* clairement visible sur la vue sagittale qui ne montre pas une fibre circulaire. Des mesures quantitatives d'indice sont illustrées dans les profils des figures 2.16(s)–(t) : comme attendu, les images de DHM et MTD indiquent des valeurs d'indice de réfraction éloignées de celles attendues à cause du manque de fréquences, que ce soit le support limité en DHM ou le cône manquant en MTD. Par conséquent, les mesures quantitatives d'indice optique ne sont possibles que si l'on a rempli l'espace de Fourier de manière symétrique.

Les figures 2.16(l)–(n) présentent la reconstruction obtenue par MTD en rotation d'illumination, dont les données ont été numériquement tournées en utilisant TINER pour 0° et 90° , et en utilisant F-TINER pour les figures 2.16(p)–(r). Le spectre correspondant (figure 2.16(o)) montre un

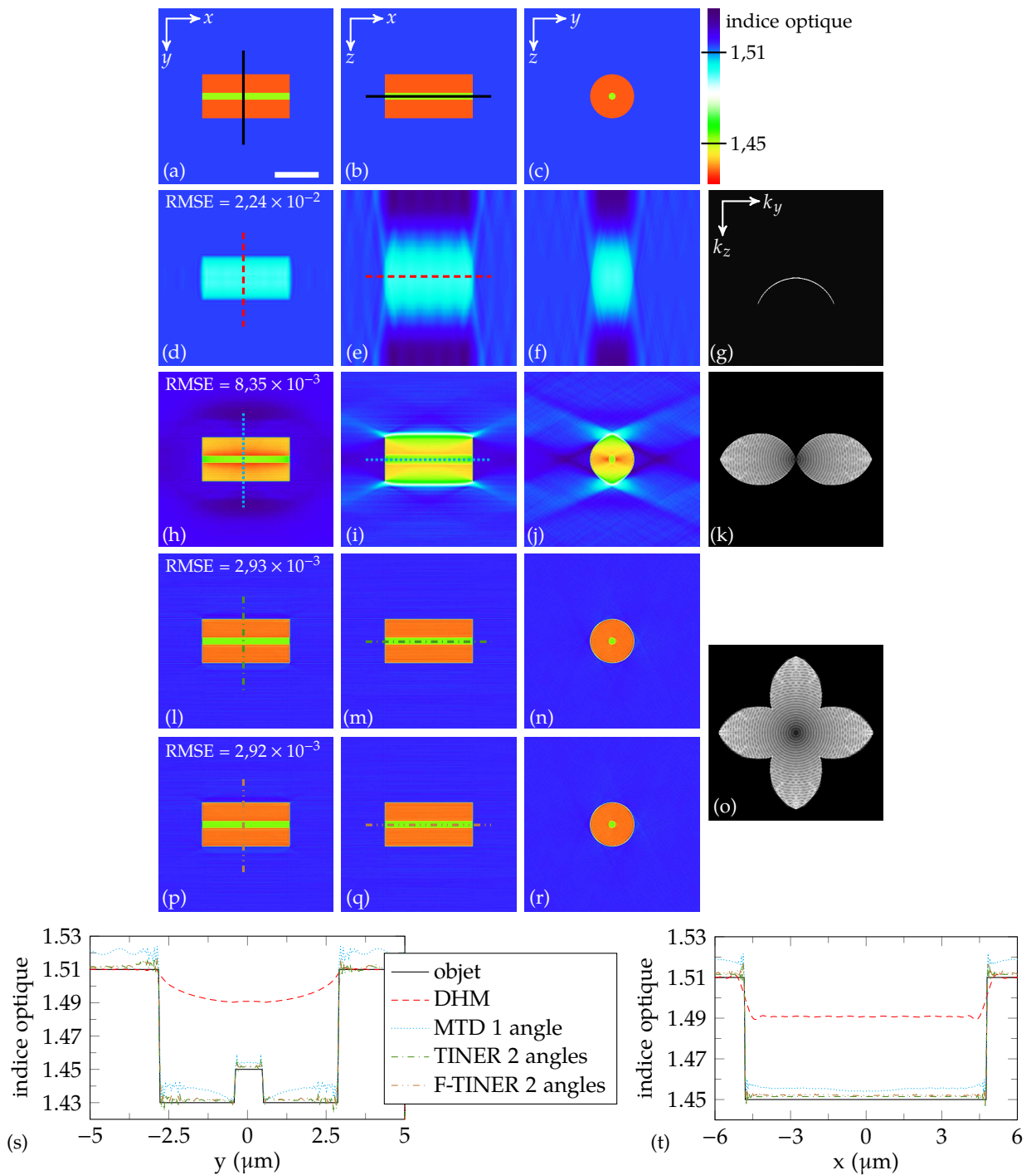


FIGURE 2.16 Reconstruction d'une fibre de longueur finie d'indice 1,45 de cœur 1,43 immergée dans un milieu d'indice 1,51. (g), (k) et (o) montrent les spectres de Fourier correspondant aux images de gauche. (a)–(c) Simulation du cylindre. (d)–(f) Reconstruction holographique (pas de rotation). (h)–(j) Reconstruction en MTD avec rotation d'illumination. Reconstruction avec deux angles de rotation (0° et 90°) via (l)–(n) Tiner et (p)–(r) F-Tiner. (s),(t) Profils des plans centraux (x - y) et (x - z) respectivement. Barre d'échelle : $5 \mu\text{m}$.

remplissage identique de l'espace de Fourier le long des trois axes perpendiculaires k_x , k_y et k_z . Une nette amélioration de la résolution peut être observée, particulièrement visible dans la coupe

sagittale, affichant alors une coupe parfaitement circulaire de la fibre. Par ailleurs, contrairement aux reconstructions en DINER/FINER, aucune oscillation d'indice à l'intérieur de l'objet n'est visible. Une amélioration quantitative peut finalement être mesurée, atteignant en moyenne la valeur attendue de 1,45 pour le cœur.

Suite à cette étude, nous concluons que, bien qu'avec des spécimens 2D la rotation dans l'espace de Fourier paraisse plus précise et robuste au bruit que dans l'espace direct, les deux méthodes donnent les mêmes résultats quantitatifs avec des échantillons 3D. Néanmoins, le but des techniques proposées étant de réduire les temps de reconstruction, j'ai choisi celle qui demande le moins d'opérations numériques. C'est pourquoi je me limiterai dans le cas expérimental uniquement à l'utilisation de la méthode F-TINER car ne faisant appel qu'à deux transformées de Fourier.

2.3.3 Remplissage fréquentiel

Afin d'alléger le processus d'acquisition des images tomographiques, il est essentiel de comparer les différents remplissages de l'espace de Fourier suivant le nombre d'angles, à l'acquisition et à la reconstruction. Pour cela, j'ai reconstruit l'échantillon simulé via F-TINER en tenant compte de deux variables : la première est le nombre d'angles d'illuminations remplissant l'OTF à l'acquisition (noté A), la seconde le nombre d'angles de rotation numériques utilisés (noté R).

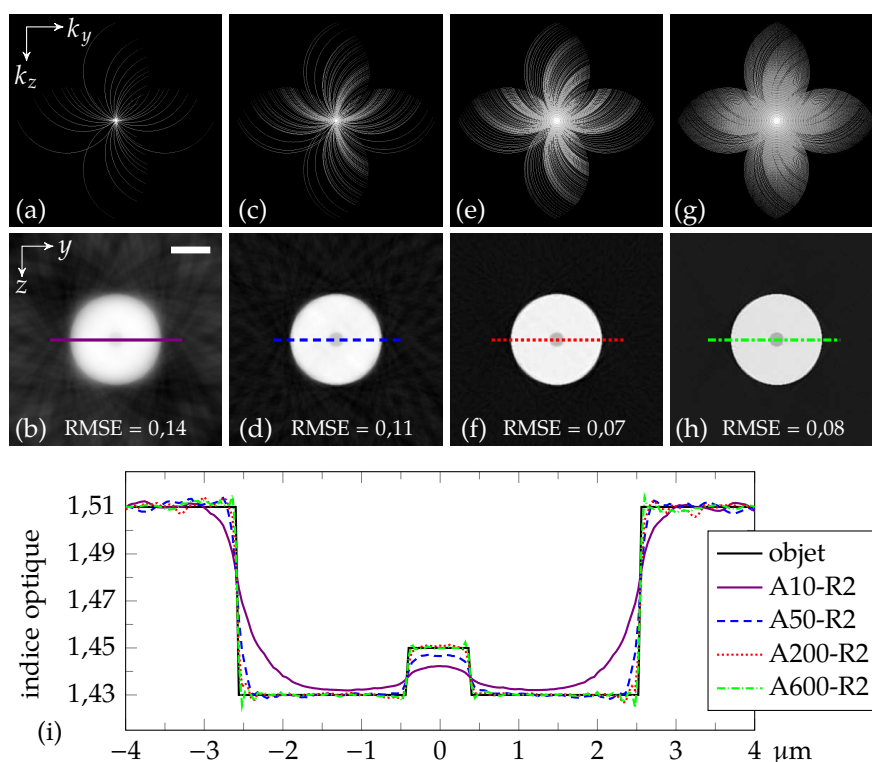


FIGURE 2.17 Ligne supérieure : spectre de Fourier. Ligne inférieure : coupe sagittale. (a),(b) A10-R2 : 10 angles d'illuminations tournés numériquement 2 fois en utilisant la méthode F-TINER. (c),(d) A50-R2. (e),(f) A200-R2. (g),(h) A600-R2. (i) Profils respectifs. Barre d'échelle : 2,5 μm .

La première étude consiste à faire varier A pour N angles d'illumination et fixer R à 2 angles de rotation numérique. Les résultats sont présentés figure 2.17, où chaque reconstruction est notée AN-R2 (N = 10, 50, 200 et 600). La partie supérieure montre le spectre de Fourier, la partie

inférieure la reconstruction correspondante. On remarque que, pour un même nombre d'angles de rotation numérique, plus le nombre d'angles d'acquisition augmente, plus la reconstruction est fidèle à l'objet. Les profils figure 2.17(i) attestent de cette amélioration. D'après ce graphe, on peut aussi considérer que le nombre d'angles d'illumination suffisant pour pouvoir reconstruire l'objet de manière acceptable d'après la RMSE est d'environ 50 (A50-R2).

Dans la seconde étude, j'ai fixé A à 10 angles d'acquisition et fait varier le nombre d'angles de rotation numérique n; chaque reconstruction est donc notée A10-Rn (n = 2, 6, 24 et 120). Les résultats sont présentés figure 2.18. Pour un nombre d'angles d'acquisition donné, on note que plus le nombre d'angles de rotation numérique augmente, meilleure est la reconstruction. En attestent les profils 2.18(i), où l'on peut en déduire que la qualité de la reconstruction est acceptable d'après la RMSE à partir de 24 angles (A10-R24).

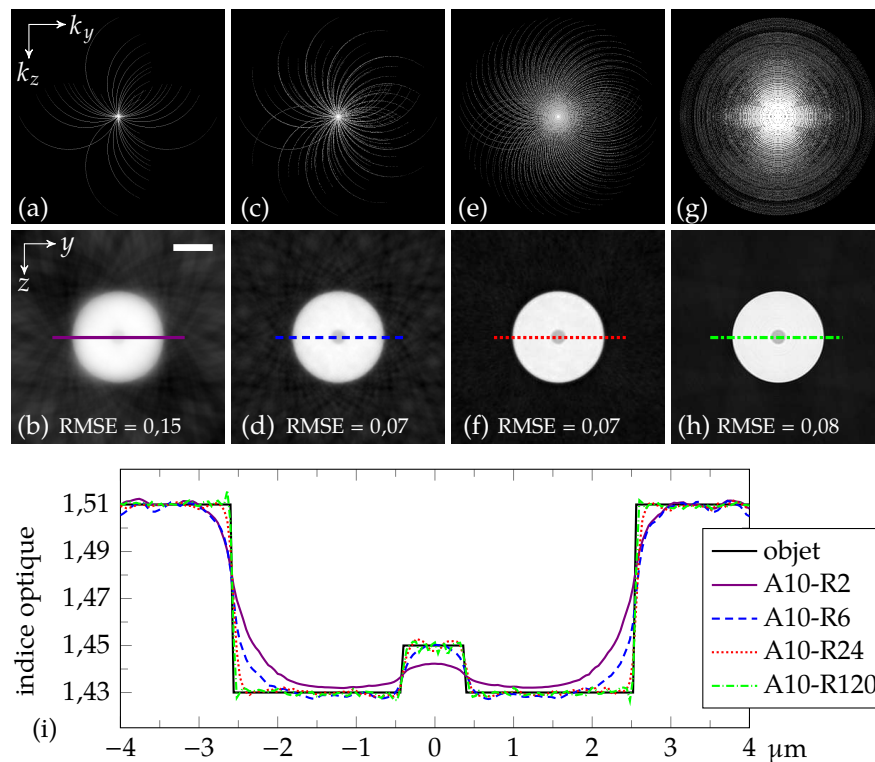


FIGURE 2.18 Ligne supérieure : spectre de Fourier. Ligne inférieure : coupe sagittale. (a),(b) A10-R2 : 10 angles d'illuminations tournés numériquement 60 fois en utilisant la méthode F-TINER. (c),(d) A10-R6. (e),(f) A10-R24. (g),(h) A10-R120. (i) Profils respectifs. Barre d'échelle : 2,5 μm .

En comparant les résultats de ces deux études via notamment la RMSE, j'en ai déduit qu'une rotation d'illumination de 50 angles combinée à 2 angles de rotation numérique correspondent peu ou prou à 10 angles d'illumination et 24 angles numériques. Par conséquent, le nombre total d'angles passe de 100 à 240, soit une augmentation d'un facteur $\approx 2,4$. Cependant, les rotations des données (numériques par ordinateur) étant plus rapides que les rotations d'illumination (mécaniques grâce au miroir de balayage), cette analyse m'a permis de mettre en avant le gain de temps potentiel lors d'une acquisition tomographique. Cependant, s'il existe une limitation quelconque quant au nombre d'angles d'illumination, cette approche peut être complétée par de l'information *a priori* sur l'objet étudié, l'utilisation de méthodes itératives (discutées en conclusion p. 60), ou effectuer les calculs sur GPU [105,106].

2.3.4 Application à des données expérimentales

Dans le but de valider expérimentalement la méthode de reconstruction F-TINER, je l'ai appliquée à un échantillon expérimental. On considère une fibre optique allongée, terminant par une pointe fine d'environ $1\ \mu\text{m}$ de long (technique du heat-and-pull [107]), et d'un diamètre inférieur à $100\ \text{nm}$ [26]. La fibre est illuminée par un laser de longueur d'onde $475\ \text{nm}$, l'onde diffractée par l'objet est collectée par un objectif d'ouverture numérique 1,4. Les reconstructions sont effectuées dans l'approximation de Rytov car ayant un plus grand domaine de validité que celle de Born [108]. Un moteur pas à pas contrôle la rotation du spécimen. Les résultats sont présentés dans la figure 2.19 ci-après.

Les figures 2.19(a)–(f) montrent les plans latéraux (x - y), axiaux (x - z) et sagittaux (y - z) de la fibre optique obtenue respectivement avec un MTD par rotation d'illumination sans rotation de spécimen pour la première figure, avec 4 angles de rotation de spécimen pour la seconde (0° , 54° , 90° et 126° à cause du pas de $3,6^\circ$ du moteur). Dans la figure 2.19(a), la résolution est estimée à $95\ \text{nm}$ dans le plan (x - y) pour une seule acquisition par MTD. Après quatre recalages d'images par MTD, le résultat est quasi-isotrope, avec une résolution de $150\ \text{nm}$ dans le plan (x - y) et $180\ \text{nm}$ dans le plan (x - z), ce grâce à un meilleur remplissage de l'espace de Fourier. Cette amélioration permet ainsi une meilleure visibilité de la pointe de fibre, indiquée par une flèche blanche. La différence de résolution entre les deux plans est principalement due aux problèmes d'alignement des images lors du recalage. Cet effet, combiné avec le nombre limité d'acquisitions effectuées, peut être observé dans la coupe sagittale où la forme de la fibre n'est pas parfaitement circulaire 2.19(f). Ces résultats ont été la première validation expérimentale de la méthode [26].

Les figures 2.19(g)–(i) montrent les reconstructions après rotation numérique des données via la méthode F-TINER, avec les quatre mêmes angles. On remarque une amélioration importante de la qualité des images dans les plans (x - y) et (x - z). Mais contrairement à la rotation physique de l'objet, on peut aisément envisager davantage d'angles de rotation, impliquant une meilleure qualité de reconstruction, comme montré dans les figures 2.19(j)–(l), où 20 angles ont été utilisés. De plus, on peut voir que la coupe sagittale de la fibre (figure 2.19(l)) possède une forme parfaitement circulaire.

Le principal inconvénient de cette technique est inhérente à la rotation numérique des données elle-même : si un défaut est observé, la rotation numérique va propager cette information dans l'espace, amenant à une mauvaise représentation de l'échantillon. Il est possible de compenser ce problème par l'utilisation d'informations *a priori* [109].

Cependant, on voit apparaître des artefacts résiduels au milieu de la fibre sur les figures 2.19(g), (h), (j) et (k) (double flèche rouge). Pour cet échantillon, cela coïncide avec la pointe de la fibre, dont la reconstruction est dégradée. Ce type d'artefact est commun en MTD, tandis qu'il n'apparaît pas dans d'autres modalités d'imagerie tomographique [110, 111]. Dans le cas du MTD en rotation d'illumination, le bruit présent dans l'onde de référence est sommé de manière cohérente pour chaque acquisition, conduisant alors à un plan très bruité au centre du volume reconstruit. Cet effet a déjà été abordé par Kostencka *et. al* [112]. De plus, durant une acquisition en MTD l'objet est placé sur le focus de l'objectif, nécessaire pour maintenir une résolution optimale. Donc le plan central de l'objet reconstruit coïncide avec le plan bruité. La rotation numérique transforme ce plan bruité en ligne bruitée, coïncidant avec l'axe de rotation du spécimen. L'effet de cette ligne est visible sur la pointe de la fibre, comme on peut le remarquer sur les figures 2.19(j),(k) (rotation physique de la fibre).

Une première solution serait de réaliser une acquisition à blanc, puis de la soustraire à

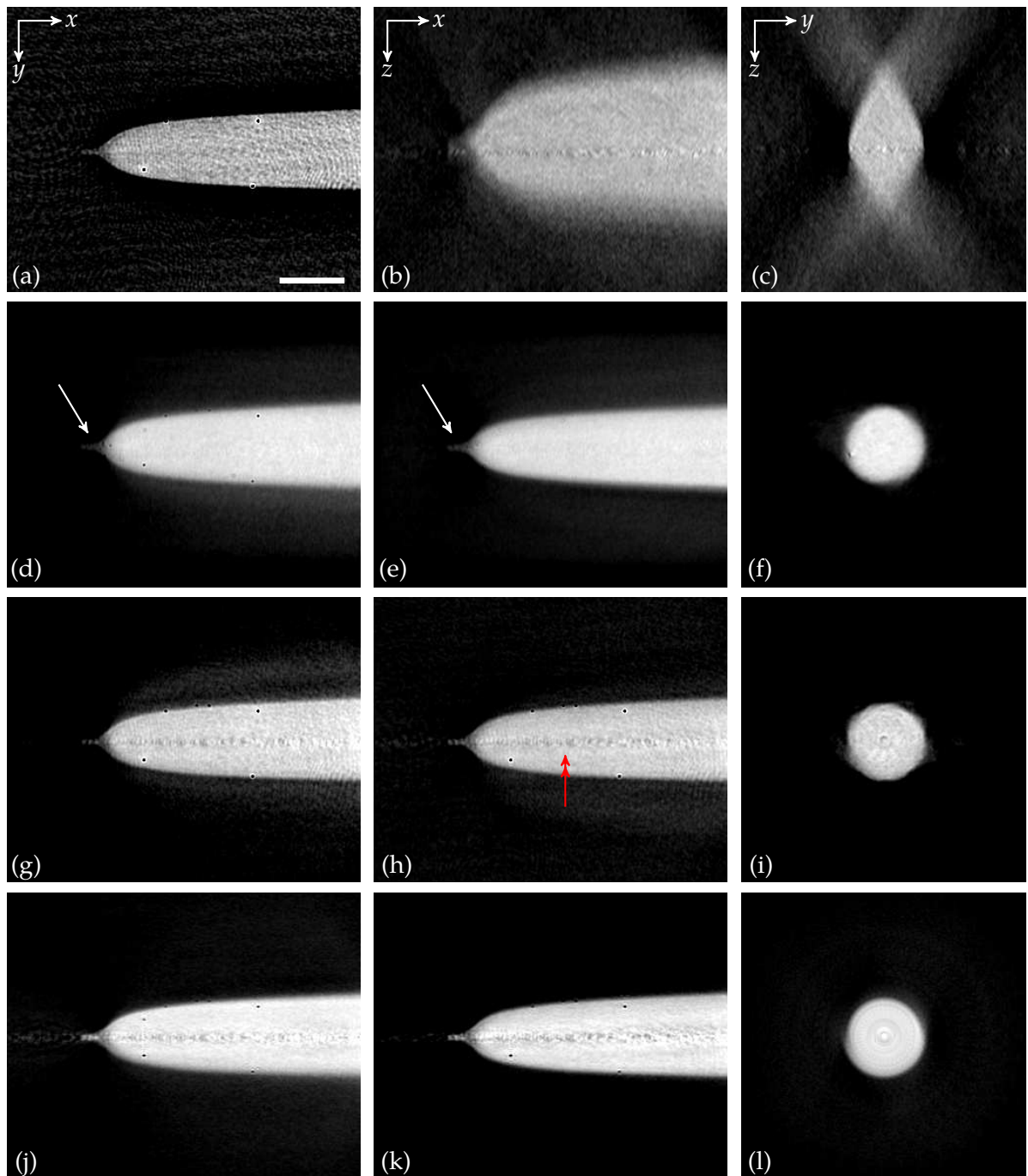


FIGURE 2.19 Vues latérale (gauche), axiale (centre) et sagittale (droit) d'une fibre optique étirée reconstruite dans l'approximation de Rytov par MTD. (a)–(c) Reconstruction par MTD avec rotation d'illumination. (d)–(f) Rotation physique du spécimen avec 4 angles combinée à un MTD en rotation d'illumination (0° , 54° , 90° et 126°). (g)–(i) Rotation numérique des données avec les mêmes angles. (j)–(l) Rotation numérique des données avec 20 angles. Barre d'échelle : $3\ \mu\text{m}$.

l'acquisition avec l'échantillon. Une autre solution possible serait de défocaliser légèrement l'objet avant l'acquisition avant de le refocaliser numériquement. De plus, puisque le bruit ne se trouve que sur une ligne, une autre possibilité serait de le supprimer via un traitement numérique. C'est un des inconvénients de notre échantillon, dont la plus petite structure coïncide avec l'axe de

symétrie. Une solution serait de refaire une acquisition tomographique à une position angulaire de l'objet différente. Malheureusement, il m'a été impossible de vérifier ce fait expérimentalement ; la prise en compte de défauts au sein du spécimen est donc traité via des simulations dans la partie suivante.

2.3.5 Reconstruction avec défauts

Afin de tester la robustesse de la rotation numérique sur des échantillons plus réalistes, j'ai ajouté un défaut à l'objet d'origine. Il consiste en une petite inclusion de quelques dizaines de nanomètres et d'indice optique 1,51, comme l'indice du milieu d'immersion. Les résultats utilisant FINER et DINER sont montrés figure 2.20.

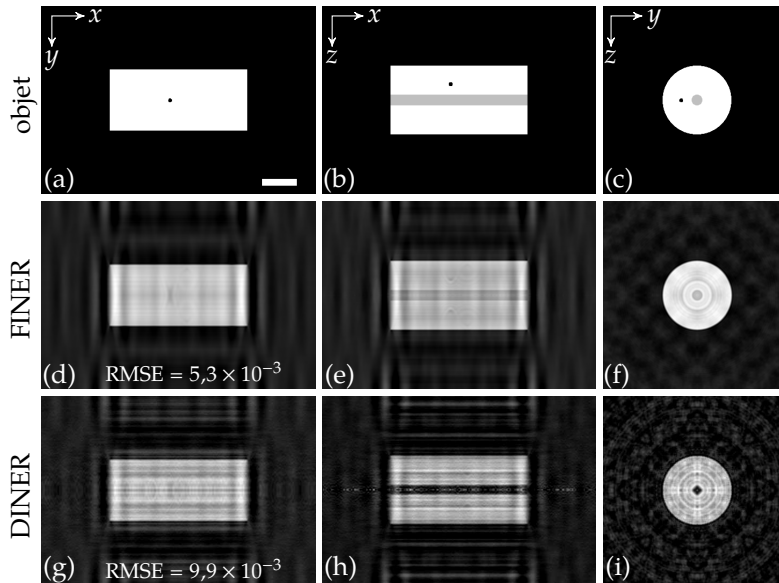


FIGURE 2.20 Reconstruction d'un échantillon présentant un défaut d'indice optique 1,51. (a)–(c) Objet simulé. (d)–(f) Reconstruction via l'approche FINER. (g)–(i) Reconstruction via l'approche DINER. Barre d'échelle : 2,5 μm .

Pour les deux méthodes de rotation, la reconstruction de l'inclusion ressemble à un anneau entourant le cœur de la fibre, d'un diamètre correspondant à la distance initiale entre le défaut et le cœur, ce qui est attendu des méthodes proposées puisque basées sur la rotation numérique des données existantes. Cependant, on peut noter que l'inclusion est bien moins visible avec les deux approches. Cela peut s'expliquer par deux facteurs :

- l'ensemble des fréquences du défaut n'est pas conservé lors de la simulation en DHM, du fait de l'ouverture numérique limitée en illumination comme en détection ;
- le moyennage fréquentiel dans l'espace de Fourier, déjà observé dans la partie précédente traitant du bruit, propageant le défaut sur une surface plus grande (un anneau au lieu d'un objet ponctuel), et diminuant ainsi son intensité.

Le principal inconvénient de cette technique est inhérent à la rotation numérique elle-même : si un défaut est trop grand comparé au spécimen que l'on veut analyser, il sera considéré comme un objet à part entière. Sachant que l'on fait tourner la même information, elle sera alors propagée sur tout l'espace, ce qui produira une reconstruction erronée de l'échantillon. Cela pourrait être contrebalancé en utilisant des informations *a priori* sur l'échantillon [109].

3 Échantillonnage et interpolation

Dans ce chapitre, j'ai uniquement travaillé en simulation avec des images carrées de 512×512 pixels de côté, et la rotation était systématiquement réalisée sans interpolation. Cependant, comme je l'ai déjà évoqué, il existe des différences entre les reconstructions via DINER et FINER. En effet, d'après les équations (2.12) et (2.13), bien qu'il y ait une égalité mathématique stricte, ce n'est pas le cas pour un signal échantillonné. Je détaille donc dans cette partie les différents effets qui peuvent intervenir dans la qualité des reconstructions suivant ces deux méthodes, en différenciant d'une part l'incidence du type d'interpolation choisi, et d'autre part celle de la taille de l'image sur laquelle sont réalisées les reconstructions.

3.1 Type d'interpolation

Considérant un espace à deux dimensions, la rotation d'un angle θ d'un point quelconque défini par ses coordonnées (x,y) dans ce plan s'écrit mathématiquement à l'aide de la matrice de rotation R_θ :

$$\begin{pmatrix} x' \\ y' \end{pmatrix} = R_\theta \begin{pmatrix} x \\ y \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} \cos \theta & -\sin \theta \\ \sin \theta & \cos \theta \end{pmatrix} \begin{pmatrix} x \\ y \end{pmatrix} \quad (2.16)$$

où (x',y') sont les coordonnées du point tourné. Pourtant, d'un point de vue traitement d'image, l'échantillonnage par le pixel implique l'impossibilité de rendre compte de nombres à virgule, ici les fonctions sinus et cosinus. Se pose alors la question de la position du pixel à laquelle la valeur initiale doit être recopiée. C'est pourquoi il existe différentes méthodes, représentées figure 2.21, permettant de calculer au mieux cette position, parmi elles :

- l'arrondi, affectant la valeur au plus proche voisin ;
- l'interpolation bilinéaire, approximant l'intervalle entre deux points voisins par une droite ;
- l'interpolation bicubique, considérant cette fois une courbe polynomiale.

Les opérations de rotation ont été réalisées à l'aide de la bibliothèque C++ CImg, développée au GREYC à Caen par David Tschumperlé^c ; l'interpolation bicubique intégrée utilise les splines cubiques d'Hermite (voir [113] p. 52). On remarque sur la figure 2.21(b) que l'interpolation au plus proche voisin met en avant l'effet de crénelage, contrairement aux interpolations bilinéaire et bicubique.

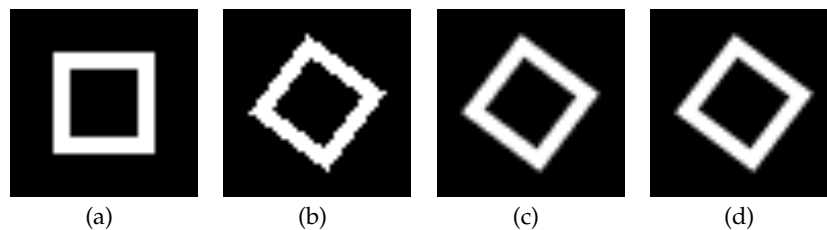


FIGURE 2.21 (a) Objet, suivi des trois types d'interpolation utilisées lors d'une rotation : (b) plus proches voisins, (c) bilinéaire et (d) bicubique.

Afin de quantifier l'effet de l'interpolation sur les reconstructions, j'ai tracé les cartes d'erreur relative (figure 2.22) entre la méthode de reconstruction choisie (DINER ou FINER) et l'objet initial simulé pour les trois types d'interpolation. L'objet est le même que celui utilisé dans les

c. CImg, <http://www.cimg.eu>

reconstructions 2D de la partie 1.2.3. On remarque tout d'abord qu'indépendamment de la méthode de reconstruction, l'interpolation a très peu d'effet de manière générale (tout particulièrement en DINER, confirmé par le graphe 2.22(d)), avec une erreur relative comprise entre 0 et 5%. On peut cependant noter un comportement différent avec FINER : plus l'interpolation choisie est importante, plus l'erreur est uniformément répartie sur l'ensemble de l'image, mais est globalement plus élevée, notamment visible au centre du cylindre, par rapport au plus proches voisins par exemple. Par ailleurs, une forte interpolation peut provoquer un effet de halo provenant de l'accentuation du phénomène de Gibbs aux bords francs, ce qui est à éviter. Malgré tout, on peut en conclure qu'au vu des erreurs relatives extrêmement faibles, le type d'interpolation choisi a un impact très faible sur la qualité des reconstructions.

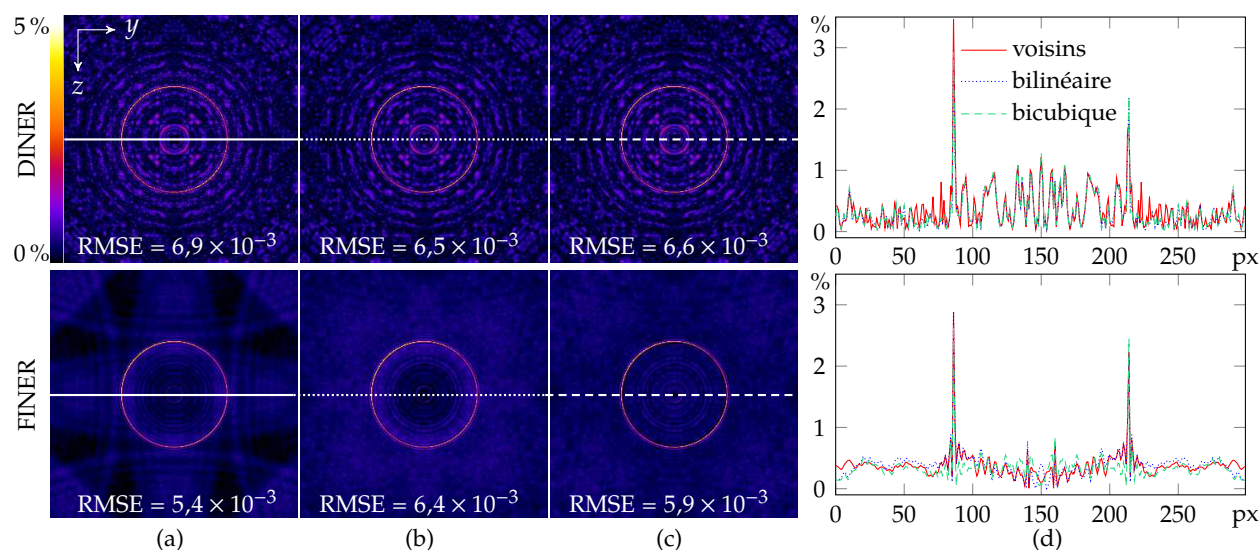


FIGURE 2.22 Cartes d'erreur relative pour les méthodes DINER (en haut) et FINER (en bas) pour trois types d'interpolation : (a) plus proches voisins, (b) bilinéaire et (c) bicubique. (d) Profils correspondant.

3.2 Taille des images

Le deuxième critère à prendre compte lors de la reconstruction de l'objet par rotation numérique est l'échantillonnage de l'image, c'est-à-dire sa taille. Comme je l'ai déjà évoqué dans la section précédente, les fonctions sinus et cosinus étant à valeurs dans \mathbb{R} , il est très peu probable que la nouvelle position du pixel calculée soit un entier. Aussi, il est possible de jouer sur la taille de l'image, permettant alors de discrétiser davantage l'espace où s'effectue la rotation afin de limiter les approximations.

La figure 2.23 montre les cartes d'erreur relative pour des reconstructions en DINER et FINER, obtenues à différentes tailles d'image : 512×512 pixels, 1024×1024 pixels, 4096×4096 pixels et 8192×8192 pixels. On remarque une amélioration de la qualité de reconstruction pour des tailles d'image de 1024 px et 4096 px de côté, atteignant dans ce dernier cas par exemple en FINER une RMSE de $3,5 \times 10^{-3}$. La dynamique d'indice est aussi plus proche de la vérité terrain. Cependant, on note que la RMSE augmente pour une taille supérieure de 8192 px de côté. Lors d'une simulation, il est donc nécessaire de choisir une taille appropriée permettant de limiter les artefacts d'échantillonnage. Mais les graphiques 2.23(e) montrent que les erreurs dues à cet effet,

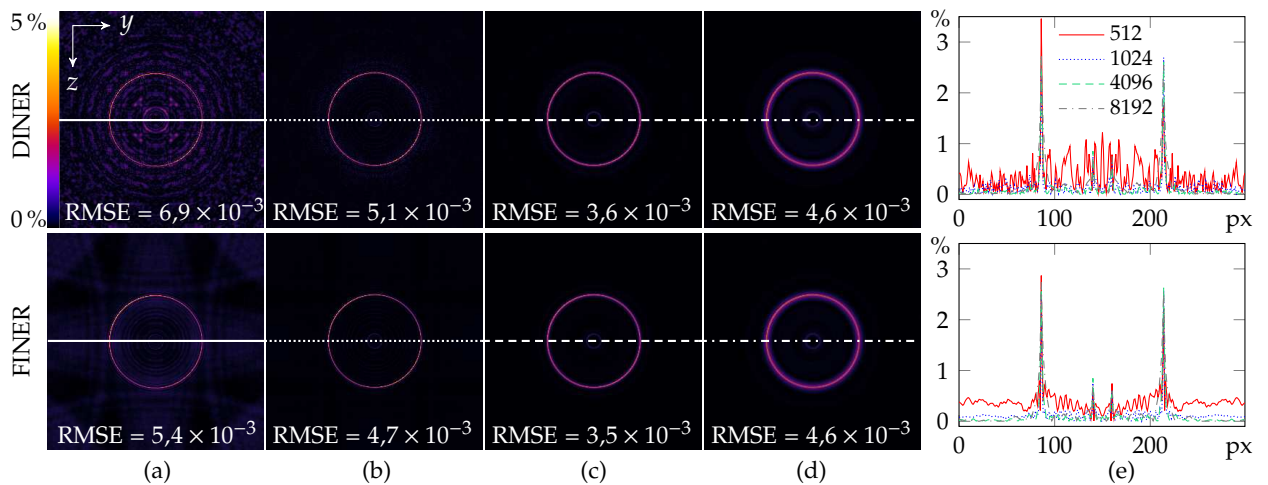


FIGURE 2.23 Cartes d'erreur relative pour les méthodes DINNER (en haut) et FINER (en bas) pour quatre tailles d'images : (a) 512, (b) 1024, (c) 4096 et (d) 8192 pixels de côté. (e) Profils correspondant.

comprises entre 0 et 5 %, peuvent être négligées à partir d'une image en 1024×1024 pixels, ce qui permet de limiter au minimum les temps de reconstruction par rapport à des images de plus grande taille.

4 Conclusion

De nouvelles méthodes de reconstruction via MTD ont été proposées, applicables à des échantillons particuliers présentant une symétrie de rotation. Cette approche permet une simplification du processus d'acquisition et la réduction du temps d'acquisition. Contrairement à la transformée d'Abel inverse, cette méthode tient compte de la diffraction. Pour des échantillons cylindriques (c'est-à-dire invariants le long de l'axe de rotation), j'ai démontré l'efficacité de la rotation numérique du spectre holographique dans l'espace de Fourier (FINER), ou bien de l'image obtenue par un DHM classique (DINNER). Mais cette méthode n'est plus valable quand on passe à des échantillons qui ne sont pas invariants selon l'axe de rotation à cause du *missing apple core* présent dans l'OTF d'un MTD avec rotation d'échantillon. Pour de tels objets, il est nécessaire de réaliser au préalable une rotation d'illumination, afin d'avoir une bonne résolution le long de l'axe de rotation. Puis ce spectre est tourné numériquement afin d'améliorer la résolution selon l'axe optique. J'ai montré que ces méthodes (TINER et F-TINER) fonctionnent sur des images simulées et des données expérimentales. Ce chapitre a fait l'objet d'une publication dans OSA Continuum, ajoutée à la fin de ce manuscrit [114].

Cette approche pourrait avoir des applications diverses dans l'étude d'échantillons dont certains sont illustrés figure 2.24, qu'ils soient naturels (par exemple des fibres de toile d'araignée visibles figure 2.24(a) [115]) ou artificiels (nano/microfibres fonctionnalisées (figure 2.24(b) [116]), fibres textiles, imagerie 3D de microcapillaires de verre (figure 2.24(c) [117]), cônes de Taylor et cone-jet bridges (figure 2.24(d) [118, 119]), nanopipettes [120], gouttes en lévitation [121] ou en dispersion [122], et fabrication de pointes de fibres en polymères [60, 123]).

En effet, pour des échantillons cylindriques comme des fibres, si les approches inverses permettent d'améliorer la précision des mesures [22, 124], elles sont cependant limitées à la

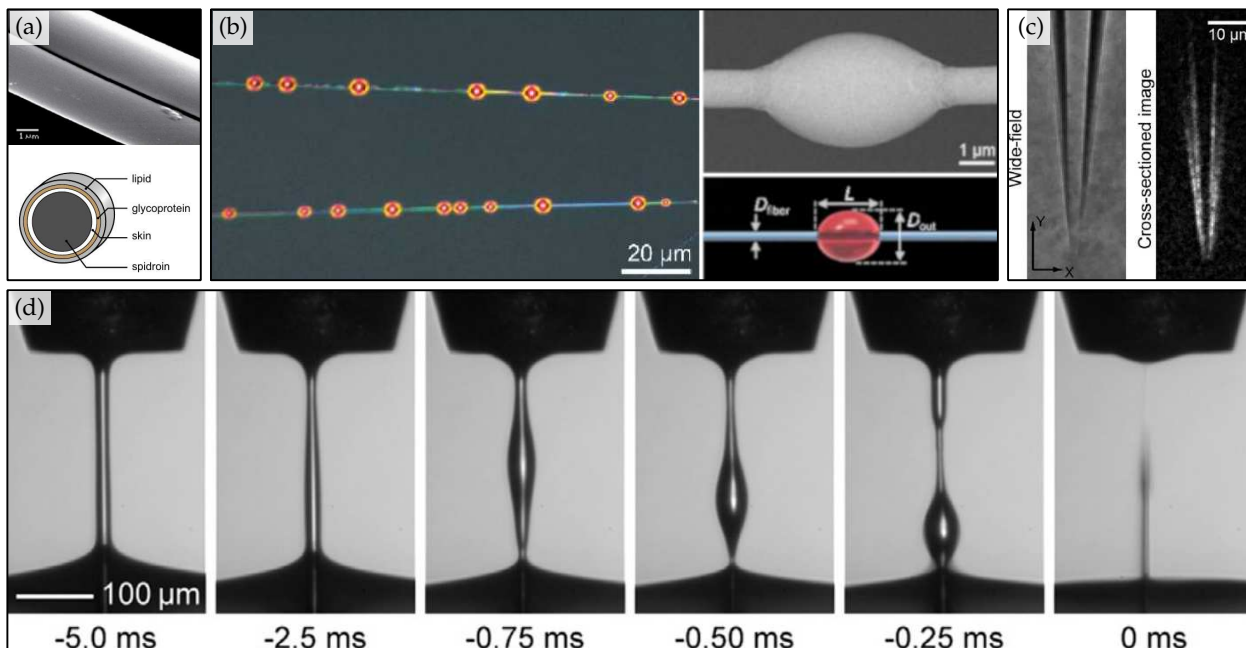


FIGURE 2.24 (a) Fibres de soie d'araignée par Hardy *et al.* [115]. (b) Microrésonateurs autour de fibres de silice par Ubaid *et al.* [116]. (c) Micro-capillaire en champ proche (à gauche) et en microscopie HiLo (à droite) par Macias-Romero *et al.* [117]. (d) Pont de Taylor à différents temps d'enregistrement par Liu *et al.* [119].

mesure de paramètres spécifiques du spécimen (son diamètre par exemple), à partir d'hypothèses souvent très fortes sur sa forme (sphérique, cylindrique ou ovoïdal) ou son indice de réfraction (la plupart du temps homogène). Notre approche est moins précise dans la mesure de ces paramètres, mais allège les hypothèses à satisfaire sur l'échantillon, en se basant uniquement sur sa symétrie axiale. Finalement, cette technique pourrait être utilisée en conjonction avec des reconstructions de type approches inverses en holographie [125] et en tomographie [126, 127] pour améliorer la qualité de l'image finale.

Références

- [86] M. K. Kreysing, T. Kießling, A. Fritsch, C. Dietrich, J. R. Guck et J. A. Käs, « The optical cell rotator », *Optics Express* **16**(21), p. 16 984–16 992, 2008.
- [87] S. Merk, A. Demidov, D. Shelby, I. B. Gornushkin, U. Panne, B. W. Smith et N. Omenetto, « Diagnostic of Laser-Induced Plasma Using Abel Inversion and Radiation Modeling », *Applied Spectroscopy* **67**(8), p. 851–859, 2013.
- [88] V. H. Nguyen, M. Kalal, H. Suk et K. A. Janulewicz, « Interferometric analysis of sub-nanosecond laser-induced optical breakdown dynamics in the bulk of fused-silica glass », *Optics Express* **26**(12), p. 14 999–15 008, 2018.
- [89] T. Fukuda, Y. Wang, P. Xia, Y. Awatsuji, T. Kakue, K. Nishio et O. Matoba, « Three-dimensional imaging of distribution of refractive index by parallel phase-shifting digital holography using

- Abel inversion », *Optics Express* **25**(15), p. 18 066–18 071, 2017.
- [90] S. V. Avtaeva, K. V. Gubin, V. I. Trunov et P. V. Tuev, « Algorithm for supersonic gas jet density profile retrieval from interferometric measurement », *Journal of the Optical Society of America A* **36**(5), p. 910–917, 2019.
- [91] S. Ma, H. Gao et L. Wu, « Modified Fourier–Hankel method based on analysis of errors in Abel inversion using Fourier transform techniques », *Applied Optics* **47**(9), p. 1350, 2008.
- [92] M. El fagrich et H. Chehouani, « A simple Abel inversion method of interferometric data for temperature measurement in axisymmetric medium », *Optics and Lasers in Engineering* **50**(3), p. 336–344, 2012.
- [93] E. De Micheli, « A fast algorithm for the inversion of Abel’s transform », *Applied Mathematics and Computation* **301**, p. 12–24, 2017.
- [94] M. Kalal et K. Nugent, « Abel inversion using fast Fourier transforms », *Applied Optics* **27**(10), p. 1956–1959, 1988.
- [95] A. D. Poularikas, *Transforms and applications handbook, Electrical engineering handbook*, CRC Press, 2^e édition, 2000.
- [96] A. V. Oppenheim, A. S. Willsky et S. H. Nawab, *Signals & systems*, Prentice-Hall signal processing series, Prentice Hall, Upper Saddle River, N.J, 2^e édition, 1996.
- [97] S. Ma, « Tomography of cylindrical objects: comparison of noise property and accuracy of Abel inversion techniques with and without noise filtering », *Applied Optics* **50**(35), p. 6512–6521, 2011.
- [98] E. Cucho, P. Marquet et C. Depeursinge, « Spatial filtering for zero-order and twin-image elimination in digital off-axis holography », *Applied Optics* **39**(23), p. 4070–4075, 2000.
- [99] M. Born et E. Wolf, *Principles of optics - Electromagnetic theory of propagation, interference and diffraction of light*, Cambridge University Press, 7^e édition, 1999.
- [100] Z. Pan, S. Li et J. Zhong, « Digital holographic microtomography for geometric parameter measurement of optical fiber », *Optical Engineering* **52**(3), p. 035 801, 2013.
- [101] J. C. Dainty, rédacteur, *Laser speckle and related phenomena*, numéro 9 dans *Topics in applied physics*, Springer, Berlin, oCLC: 1858401, 1975.
- [102] R. C. Gonzalez et R. E. Woods, *Digital image processing*, Prentice Hall, Upper Saddle River, N.J, 3^e édition, 2008.
- [103] A. T. Vouldis, C. N. Kechribaris, T. A. Maniatis, K. S. Nikita et N. K. Uzunoglu, « Investigating the enhancement of three-dimensional diffraction tomography by using multiple illumination planes », *Journal of the Optical Society of America A* **22**(7), p. 1251–1262, 2005.
- [104] K. Kim, K. S. Kim, H. Park, J. C. Ye et Y. Park, « Real-time visualization of 3-D dynamic microscopic objects using optical diffraction tomography », *Optics Express* **21**(26), p. 32 269–32 278, 2013.
- [105] J. Bailleul, B. Simon, M. Debailleul, L. Foucault, N. Verrier et O. Haeberlé, « Tomographic diffractive microscopy: Towards high-resolution 3-D real-time data acquisition, image reconstruction and display of unlabeled samples », *Optics Communications* **422**, p. 28–37, 2018.
- [106] M. Xiao, J. Nieto, J. Siqueiros et R. Machorro, « Simple device for making optical fiber tips for scanning near field optical microscopes », *Review of Scientific Instruments* **68**(7), p. 2787–2789, 1997.
- [107] A. J. Devaney, « Inverse-scattering theory within the Rytov approximation », *Optics Letters* **6**(8), p. 374–376, 1981.

- [108] H. Xia, S. Montresor, R. Guo, J. Li, F. Olchewsky, J.-M. Desse et P. Picart, « Robust processing of phase dislocations based on combined unwrapping and inpainting approaches », *Optics Letters* **42**(2), p. 322–325, 2017.
- [109] Y. Park, C. Depeursinge et G. Popescu, « Quantitative phase imaging in biomedicine », *Nature Photonics* **12**(10), p. 578–589, 2018.
- [110] M. Fauver, E. J. Seibel, J. R. Rahn, M. G. Meyer, F. W. Patten, T. Neumann et A. C. Nelson, « Three-dimensional imaging of single isolated cell nuclei using optical projection tomography », *Optics Express* **13**(11), p. 4210–4223, 2005.
- [111] J. Kostencka, T. Kozacki, M. Dudek et M. Kujawińska, « Noise suppressed optical diffraction tomography with autofocus correction », *Optics Express* **22**(5), p. 5731–5745, 2014.
- [112] F. B. Hildebrand, *Introduction to numerical analysis*, Dover Publications, New York, 2^e édition, 1987.
- [113] L. Foucault, N. Verrier, M. Debailleul, B. Simon et O. Haeberlé, « Simplified tomographic diffractive microscopy for axisymmetric samples », *OSA Continuum* **2**(4), p. 1039–1055, 2019.
- [114] J. G. Hardy, L. M. Römer et T. R. Scheibel, « Polymeric materials based on silk proteins », *Polymer* **49**(20), p. 4309–4327, 2008.
- [115] S. Ubaid, F. Liao, S. Linghu, J. Yu et F. Gu, « Electrospun polymer bottle microresonators for stretchable single-mode lasing devices », *Optics Letters* **43**(13), p. 3128–3131, 2018.
- [116] C. Macias-Romero, I. Nahalka, H. I. Okur et S. Roke, « Optical imaging of surface chemistry and dynamics in confinement », *Science* **357**(6353), p. 784–788, 2017.
- [117] I. G. Loscertales, « Micro/Nano Encapsulation via Electrified Coaxial Liquid Jets », *Science* **295**(5560), p. 1695–1698, 2002.
- [118] F. Liu et C.-H. Chen, « Electrohydrodynamic cone-jet bridges : Stability diagram and operating modes », *Journal of Electrostatics* **72**(4), p. 330–335, 2014.
- [119] S. Hennig, S. van de Linde, M. Lummer, M. Simonis, T. Huser et M. Sauer, « Instant Live-Cell Super-Resolution Imaging of Cellular Structures by Nano-injection of Fluorescent Probes », *Nano Letters* **15**(2), p. 1374–1381, 2015.
- [120] V. Contreras, R. Valencia, J. Peralta, H. Sobral, M. A. Meneses-Nava et H. Martinez, « Chemical elemental analysis of single acoustic-levitated water droplets by laser-induced breakdown spectroscopy », *Optics Letters* **43**(10), p. 2260–2263, 2018.
- [121] A. Eddi, K. G. Winkels et J. H. Snoeijer, « Short time dynamics of viscous drop spreading », *Physics of Fluids* **25**(1), p. 013 102, 2013.
- [122] S. Jradi, O. Soppera, D. J. Lougnot, R. Bachelot et P. Royer, « Tailoring the geometry of polymer tips on the end of optical fibers via control of physico-chemical parameters », *Optical Materials* **31**(4), p. 640–646, 2009.
- [123] D. J. Little et D. M. Kane, « Subdiffraction-limited radius measurements of microcylinders using conventional bright-field optical microscopy », *Optics Letters* **39**(17), p. 5196–5199, 2014.
- [124] C. Fournier, F. Jolivet, L. Denis, N. Verrier, E. Thiebaut, C. Allier et T. Fournel, « Pixel super-resolution in digital holography by regularized reconstruction », *Applied Optics* **56**(1), p. 69–77, 2017.
- [125] F. Momey, A. Berdeu, T. Bordy, J.-M. Dinten, F. K. Marcel, N. Picollet-D’ahan, X. Gidrol et C. Allier, « Lensfree diffractive tomography for the imaging of 3d cell cultures », *Biomedical Optics Express* **7**(3), p. 949–962, 2016.
- [126] A. Berdeu, F. Momey, B. Laperrousaz, T. Bordy, X. Gidrol, J.-M. Dinten, N. Picollet-D’ahan et C. Allier, « Comparative study of fully three-dimensional reconstruction algorithms for

lens-free microscopy », *Applied Optics* **56**(13), p. 3939–3951, 2017.

SIMPLIFICATION DES ACQUISITIONS : TOMOGRAPHIE ASSISTÉE PAR MIROIR

Sommaire

1 Techniques d'extension de l'OTF	65
1.1 Choix du balayage	66
1.2 Rotation d'illumination à ouverture numérique limitée	66
1.3 Rotation d'illumination azimutale	68
1.4 Utilisation des propriétés de l'échantillon	71
2 Symétrie hermitienne	72
2.1 Problématique	72
2.2 Simulations	72
2.3 Reconstructions expérimentales	73
2.4 Conclusion	74
3 Tomographie assistée par miroir	74
3.1 Travaux antérieurs	74
3.1.1 Principe	74
3.1.2 Transformée en cosinus	76
3.2 MTD assistée par miroir simplifiée	77
3.2.1 Simplifications	77
3.2.2 Simulations	78
3.3 Validation expérimentale	80
3.3.1 Montage expérimental	80
3.3.2 Calibrage du déphasage	81
3.3.3 Premiers résultats avec un miroir d'or	82
3.3.4 Effet de la focalisation	83
3.3.5 Rotation d'illumination complète	84
4 Conclusion	85

1 Techniques d'extension de l'OTF

Nous avons vu que, dans un système de MTD avec rotation d'illumination, le support fréquentiel enregistré induit l'absence de fréquences particulières que l'on a appelée « cône manquant », empêchant une mesure quantitative précise de l'indice optique. Bien qu'il existe des techniques permettant de remplir ce cône, comme une rotation de spécimen ou avec rotation numérique des

données expérimentales d'échantillons axisymétriques (cf. chapitre précédent), des alternatives reposant sur des contraintes moins sévères sont envisageables. Leur utilisation systématique permet alors d'obtenir une meilleure résolution tout en réduisant considérablement les temps d'acquisition. Dans ce chapitre, toutes les simulations numériques et acquisitions expérimentales sont réalisées à l'aide d'une rotation d'illumination.

1.1 Choix du balayage

Avant d'évoquer les différentes solutions numériques envisageables à la restitution de fréquences non enregistrées par le MTD, on doit considérer la manière dont la rotation d'illumination est réalisée. Pour cela, plusieurs formes de balayage sont comparées, résumées dans la figure ci-dessous.

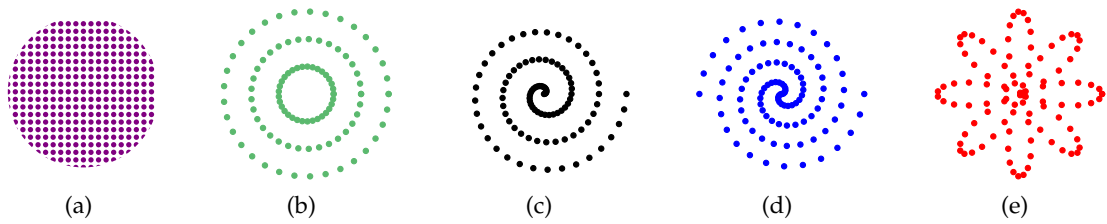


FIGURE 3.1 Différents types de balayages : (a) en grille, (b) annulaire, (c) en spirale, (d) en spirale double et (e) en rosace.

Pour cette étude, j'ai reconstruit une bille simulée de $5\ \mu\text{m}$ à l'aide des différents balayages proposés pour 600 angles d'illumination. Deux indicateurs sont utilisés pour comparer les résultats obtenus :

- la compacité $c\%$ en pourcentage, définie comme le rapport entre le volume de l'OTF V_B pour un balayage donné et celui théorique V_T :

$$c\% = \frac{V_B \times 100}{V_T}, \quad (3.1)$$

- la RMSE entre l'image d'origine et sa reconstruction (cf. équation 2.14).

Les résultats sont présentés figure 3.2. La première chose à remarquer est la faible compacité des balayages annulaire et en spirale, où elles ne dépassent pas 55 %, ce qui explique leur RMSE plus élevée que pour les autres reconstructions. Ensuite, on note le remplissage particulier du balayage en grille, notamment dans le plan (k_x-k_z) , faisant apparaître des « trous » à intervalles réguliers. Malgré cela, sa compacité de 60 % est la deuxième plus élevée après le balayage en rosace qui est le plus dense à 61 %. Cet indicateur est confirmé par sa RMSE de $4,9 \times 10^{-4}$, la plus faible de tous les balayages. D'après ces critères, le balayage en rosace paraît donc comme le plus approprié.

1.2 Rotation d'illumination à ouverture numérique limitée

Jusqu'à maintenant, j'ai toujours considéré que l'ouverture numérique du condenseur correspondait à celle de l'objectif, c'est-à-dire $\text{NA}_{\text{cond}} = \text{NA}_{\text{obj}}$ (cf figure 1.13). Cependant, il arrive fréquemment que ce ne soit pas le cas, induisant un changement de forme de l'OTF accessible par le système, où généralement $\text{NA}_{\text{cond}} < \text{NA}_{\text{obj}}$. Dans ce cas, Streibl en 1985 [50] et Kou *et al.* en 2009 [74] ont montré que l'OTF est déformée et la bande passante réduite, comme en atteste la figure 3.3.

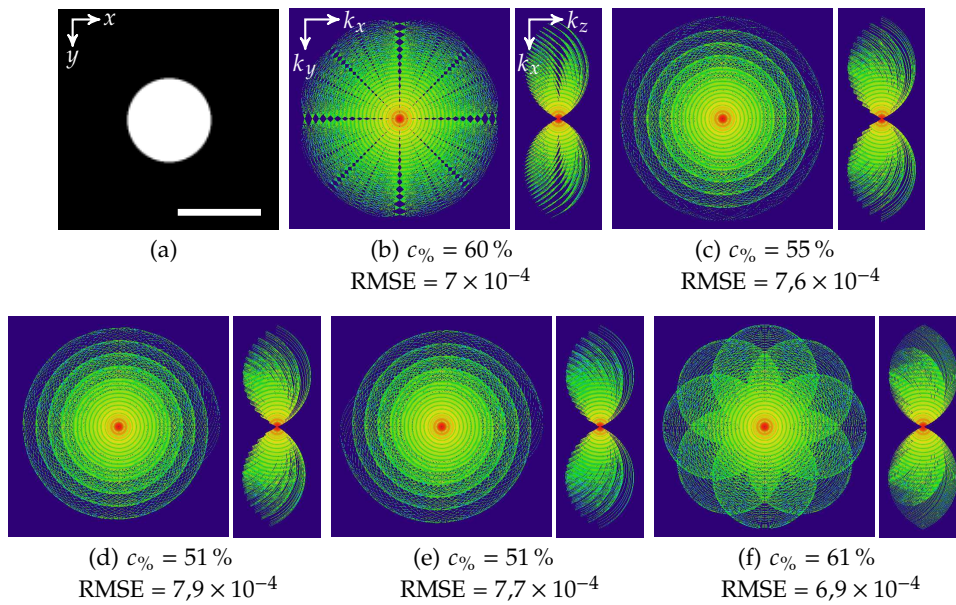


FIGURE 3.2 (a) Bille de $5 \mu\text{m}$. Spectres, compacités et RMSE respectives pour différents types de balayage : (b) grille, (c) annulaire, (d) spirale, (e) double spirale et (f) rosace. Barre d'échelle : $5 \mu\text{m}$.

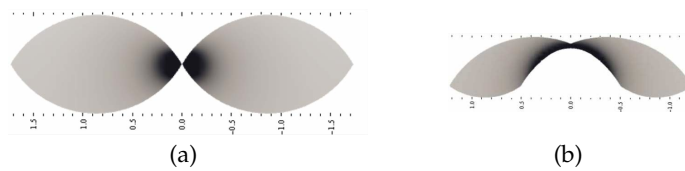


FIGURE 3.3 OTF d'un MTD dans les cas où (a) $\text{NA}_{\text{cond}} = \text{NA}_{\text{obj}}$ et (b) $\text{NA}_{\text{cond}} < \text{NA}_{\text{obj}}$ [74].

Ce constat est tout d'abord visible dans les résultats de Kim *et al.* [128] présentés figure 3.4. 600 angles d'illumination ont été réalisés en utilisant un objectif à ouverture numérique 1,4 en collection. Afin de compenser la non symétrie de l'OTF, un algorithme sous contrainte est utilisé, avec des *a priori* sur le milieu d'immersion (indice connu) et sur l'indice du spécimen (supérieur à celui du milieu d'immersion).

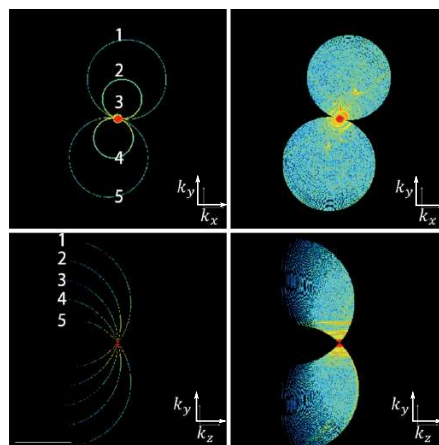


FIGURE 3.4 Spectres fréquentiels obtenus par Kim [128] pour 5 angles (à gauche) et pour 600 angles (à droite) de rotation d'illumination.

Cette situation a aussi été traitée par Lim *et al.* [76], dont les exemples de balayage d'illumination sont illustrés figure 3.5. Dans ce cas, deux balayages de 300 angles d'illumination ont été réalisés : le premier (en rouge sur la figure (a)) avec un rapport des ouvertures numériques de 0,5, le second (en vert) avec un rapport de 0,8.

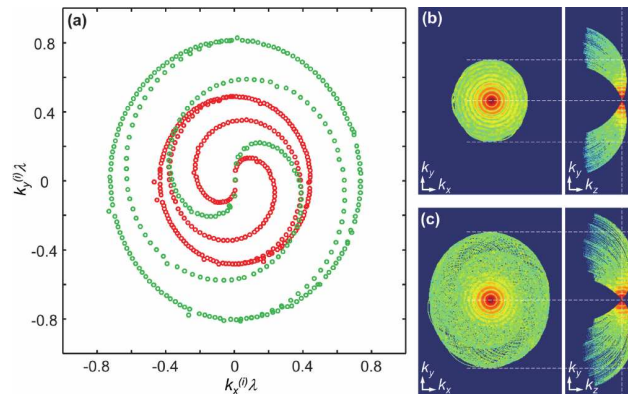


FIGURE 3.5 (a) OTFs obtenues par Lim pour deux cas de rapport d'ouvertures numériques de (b) 0,5 et (c) 0,8 pour 300 angles d'illumination [76].

Différentes techniques itératives d'approches inverses régularisées sont comparées pour retrouver l'information manquante : préservation de bords [129], variation totale [130] et algorithme de Gerchberg-Papoulis [131]. Les deux premières approches utilisent des algorithmes minimisant l'écart entre une reconstruction et l'image attendue par la théorie. La différence principale entre ces deux algorithmes est leur fonction de régularisation, permettant une convergence plus ou moins rapide du problème vers une solution acceptable et unique. De manière générale, ces deux algorithmes favorisent les aplats et bords francs d'intensité, tout en diminuant le bruit. La variation totale a cependant l'inconvénient de renforcer les angles droits au détriment des arrondis [132]. L'algorithme de Gerchberg-Papoulis est quant à lui une méthode effectuant des allers-retours entre l'espace image et l'espace de Fourier, avec une contrainte dans chaque espace (positivité de l'indice et support basse fréquence invariant par exemple). Ce type d'algorithme est principalement utilisé dans la restitution des hautes fréquences d'un signal à support borné [133]. C'est une méthode de choix en MTD puisque permettant de remplir numériquement le *missing cone*.

Les résultats comparatifs de la reconstruction d'une cellule hépatique pour chacun des algorithmes sont présentés figure 3.6. Il en ressort que l'algorithme le plus adapté pour la reconstruction de spécimen vivants est celui de préservation de bords, et ce même s'il dépend fortement de la synthèse d'ouverture numérique, contrairement à l'algorithme de variation totale.

1.3 Rotation d'illumination azimutale

Afin d'alléger le processus d'acquisition des hologrammes, certains dispositifs comme Nanolive[®] et Tomocube[®] réalisent un balayage azimutal de l'illumination^{d e}. Le principe est expliqué figure 3.7. Contrairement à la rotation d'illumination complète (figure 3.7(a)), une rotation azimutale consiste en un balayage à angle azimutal fixe, décalant l'OTF suivant l'axe optique (figure 3.7(b)). Dans le

d. Nanolive, <https://nanolive.ch/hardware/>

e. Tomocube, <http://www.tomocube.com/product/technology/>

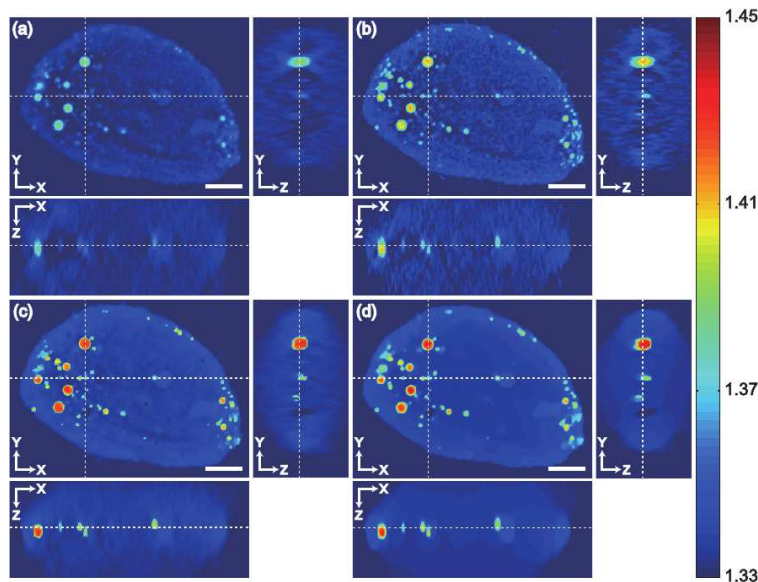


FIGURE 3.6 Reconstructions d'un hépatocyte via (a) la méthode classique, (b) Gerchberg-Papoulis, (c) préservation de bords et (d) variation totale à une ouverture numérique de 1,2 et 300 angles d'illumination [76].

cas optimal (bande passante maximale suivant le plan (k_x-k_y)), on se place à l'angle maximal α_m autorisé par l'objectif (figure 3.7(c)).

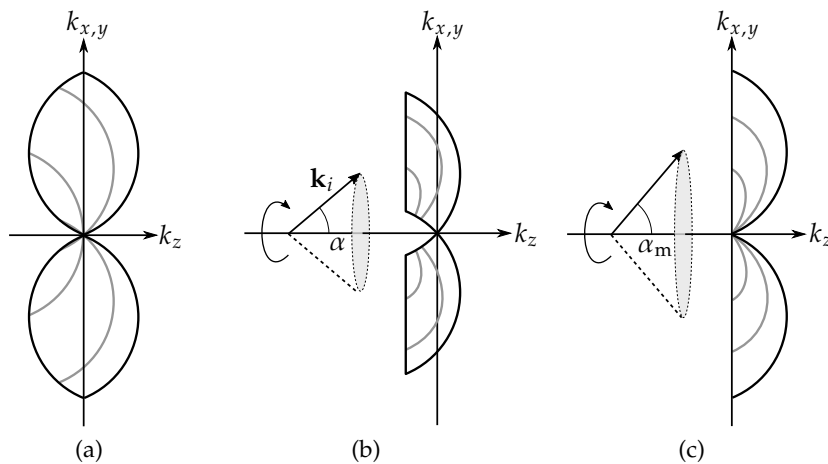


FIGURE 3.7 (a) OTF en MTD par rotation d'illumination classique. (b) Support fréquentiel enregistré dans le cas d'une rotation azimutale de l'illumination à un angle quelconque et (c) à l'angle maximal α_m permis par l'objectif.

Fiolka *et al.* ont utilisé ce type de balayage où la rotation d'illumination est réalisée à un angle de 30° dans un système à décalage de phase [134]. Bien que cet angle soit très inférieur à l'angle maximal ($NA_{obj} = 1,2$ à eau, soit $\alpha_m = 62^\circ$), les reconstructions présentent un rapport signal à bruit suffisant pour cette étude. Afin d'obtenir une meilleure résolution axiale qu'en holographie, l'enregistrement est combiné à un sectionnement optique via l'utilisation d'une platine déplaçant l'échantillon selon l'axe optique, permettant ainsi d'obtenir une information plus précise en z . Il s'agit d'une méthode qui tire profit de la profondeur de champ Δz de l'objectif : plus son

ouverture numérique est grande, plus l'épaisseur optique est fine [135] :

$$\Delta z \simeq \frac{\lambda n}{\text{NA}^2}, \quad (3.2)$$

où λ est la longueur d'onde d'illumination, n le milieu d'immersion et NA est l'ouverture numérique de l'objectif. Cela permet alors de résoudre plus facilement selon l'axe optique des objets initialement invisibles avec un objectif d'ouverture numérique plus faible. Ici, la profondeur de champ est d'environ 490 nm, un pas selon z de 200 nm est donc choisi pour satisfaire au critère de Nyquist. Cette opération, prenant en compte le fait que l'objet observé est non absorbant, implique une duplication du spectre, comme montré figure 3.8. On observe bien sur ces images l'amélioration de la résolution axiale par rapport à l'holographie.

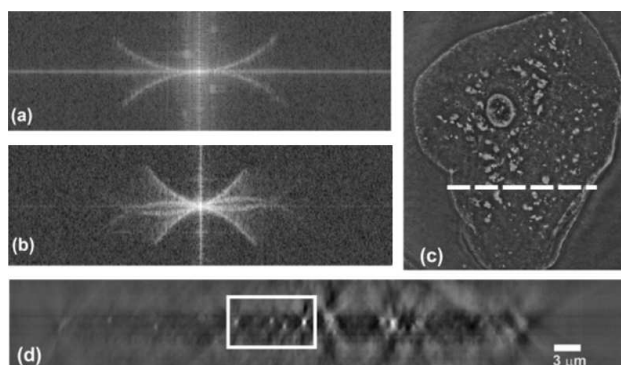


FIGURE 3.8 Spectres fréquentiels enregistrés par Fiolka [134] (a) en illumination axiale et (b) en rotation azimutale. (c) Reconstruction d'une cellule de joue, où l'amélioration de la résolution en z est visible sur la tranche en (d).

De la même manière, Krauze *et al.* ont réalisé une rotation azimutale d'illumination sur des cellules de muscle de souris [136]. Étant donné que l'ouverture numérique de l'objectif d'injection (1,3) n'est pas la même que celui de collection (1,25), la rotation azimutale est réalisée à un angle moyen de 48° (accessible à la collection) afin de conserver la symétrie. Pour compenser la perte d'information axiale, ils comparent la reconstruction obtenue grâce à une contrainte *a priori* sur la positivité de l'indice du spécimen et celle avec un algorithme de variation totale combinée à la même contrainte (figure 3.9). Là encore, l'amélioration de la résolution est clairement visible dans les deux cas, notamment sur les spectres, mettant en avant l'avantage de la méthode combinant positivité de l'indice et variation totale proposée.

Nous pouvons aussi citer l'entreprise suisse Nanolive[®] qui a mis au point un système tomographique par rotation d'illumination azimutale avec un angle de 45° à l'aide d'un laser de longueur d'onde 520 nm [75]. La restitution des fréquences non enregistrées s'effectue grâce à une déconvolution complexe combinée à un seuillage τ de la fonction de contraste $\tilde{c}(\mathbf{k})$ définie par [137] :

$$\tilde{c}(\mathbf{k}) = \begin{cases} c & \text{si } |c| > \tau \\ \exp(i \cdot \arg\{c\}) & \text{si } |c| \leq \tau \end{cases} \quad (3.3)$$

Le balayage azimutal est également utilisé par l'entreprise Tomocube[®] qui vend des systèmes commerciaux de MTD. Suivant les modèles, la rotation d'illumination d'un laser à 532 nm s'effectue à un angle de 53° (HT-1S) ou 63° (HT-1H) à l'aide d'un DMD (*digital micromirror device*), l'onde incidente étant focalisée sur l'échantillon à l'aide d'un objectif $\times 60$ NA = 1,2 à immersion à eau,

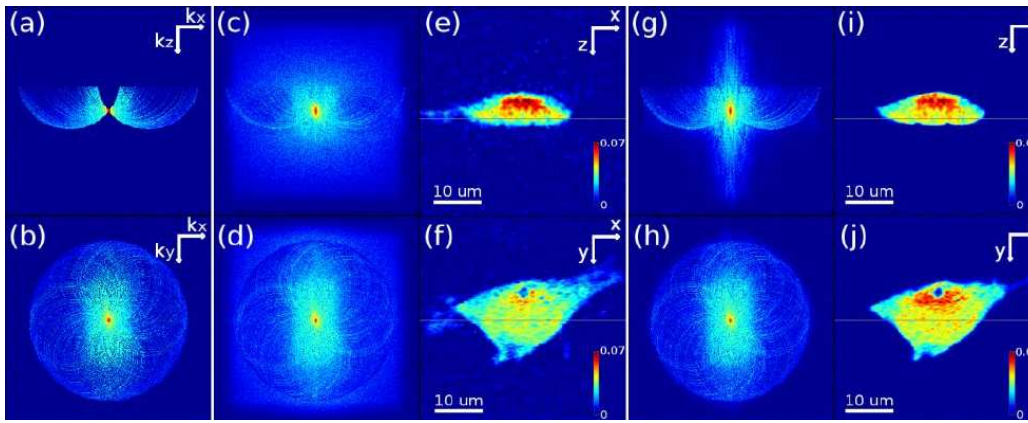


FIGURE 3.9 (a)–(b) Spectres fréquentiels enregistrés par Krauze [136] pour 360 acquisitions à 48°. (c)–(f) Reconstructions en utilisant la contrainte de positivité de l’indice. (g)–(j) Reconstructions en utilisant l’algorithme de variation totale.

permettant d’atteindre 110 nm et 356 nm de résolutions latérale et axiale respectivement (modèle HT-1H).

1.4 Utilisation des propriétés de l’échantillon

Une dernière technique numérique augmenter la taille de l’OTF consiste à prendre en compte les propriétés physiques de l’échantillon. Utilisée par Park *et al.* [138], elle consiste à supposer que l’échantillon est non absorbant, c’est-à-dire la partie imaginaire de son indice est nulle. Dans ce cas, on peut faire appel à la propriété de symétrie hermitienne (expliquée en détail dans la partie 2). L’expérimentateur effectue une rotation complète de l’illumination avec la condition $NA_{\text{cond}} = NA_{\text{obj}}$, ce qui lui permet d’enregistrer une OTF en forme de *donut* (figure 3.10). La symétrie hermitienne lui permettant de supposer l’égalité sur l’OTF :

$$O_{\text{eff}}(\mathbf{k}) = \frac{1}{2}[O(\mathbf{k}) + O^*(-\mathbf{k})] = \frac{1}{2}[O(\mathbf{k}) + O(-\mathbf{k})], \quad (3.4)$$

en considérant un objet non absorbant, il peut construire un nouveau support fréquentiel $O_{\text{eff}}(\mathbf{k})$ et dont la moyenne correspond à l’OTF originale $O(\mathbf{k})$.

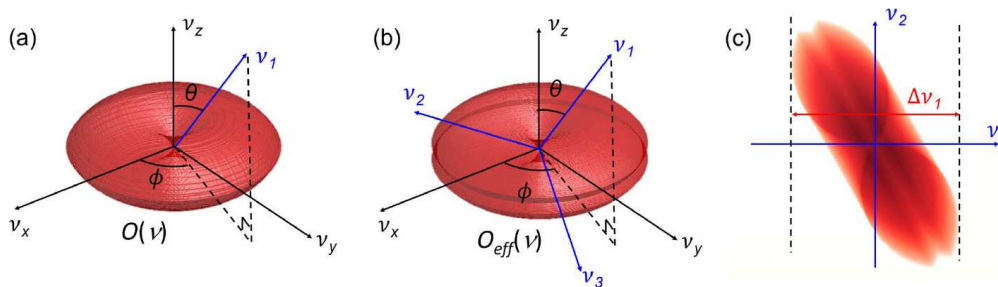


FIGURE 3.10 Doublement de l’OTF grâce à la symétrie hermitienne par Park [138].

J’ai évoqué dans cette partie plusieurs méthodes permettant d’améliorer la résolution du MTD : soit expérimentalement à l’aide d’un choix adéquat de balayage d’illumination, soit numériquement en appliquant des techniques de reconstruction comme des algorithmes sous contrainte, de problèmes inverses ou sur les propriétés de la symétrie hermitienne.

Cette dernière technique fait l'objet de la partie suivante : je commence par expliquer son utilisation et son intérêt quant à une intégration en MTD. Puis, dans la suite du chapitre, je détaille une nouvelle technique de tomographie en transmission permettant d'illuminer l'échantillon suivant deux directions opposées utilisant l'effet miroir [84].

2 Symétrie hermitienne

Pour pouvoir remplir davantage l'espace fréquentiel, j'utilise la symétrie hermitienne sur le spectre enregistré, qui est une méthode qui avait déjà été évoquée par Kawata *et al.* en 1987 [139] et utilisée par Park en 2018 [138].

2.1 Problématique

Soit un spécimen de forme quelconque d'indice optique complexe $n(x,y)$ dont la transformée de Fourier s'écrit :

$$\mathcal{F}\{n\}(u,v) = \frac{1}{2\pi} \int_{\mathbb{R}^2} n(x,y) e^{-2i\pi(xu+yv)} dx dy . \quad (3.5)$$

On en déduit la transformée de Fourier du complexe conjugué noté $n^*(x,y)$:

$$\mathcal{F}\{n^*\}(u,v) = \frac{1}{2\pi} \int_{\mathbb{R}^2} n^*(x,y) e^{-2i\pi(xu+yv)} dx dy , \quad (3.6a)$$

$$= \left(\frac{1}{2\pi} \int_{\mathbb{R}^2} n(x,y) e^{2i\pi(xu+yv)} dx dy \right)^* , \quad (3.6b)$$

$$= [\mathcal{F}\{n\}]^*(-u, -v) . \quad (3.6c)$$

Si le spécimen est non absorbant, c'est-à-dire sa partie imaginaire nulle, alors l'équation (3.6c) devient :

$$\mathcal{F}\{n^*\}(u,v) = \mathcal{F}\{n\}(u,v) = [\mathcal{F}\{n\}]^*(-u, -v) . \quad (3.7)$$

Cette équation met en évidence la propriété de symétrie hermitienne dans le cas d'un échantillon purement déphasant. Cette propriété permet ainsi de se limiter expérimentalement à l'acquisition d'une moitié du spectre de l'objet et de reconstruire la seconde moitié numériquement.

La conclusion est la suivante : en considérant un objet purement déphasant, comme des cellules épithéliales de joue, de rein, des neurones, ou des fluides (gaz ou plasmas), il suffit de réaliser une rotation d'illumination azimutale, permettant d'obtenir la partie supérieure du spectre, et de reconstruire la partie inférieure grâce à la symétrie hermitienne. C'est ce que je démontre dans la suite du chapitre.

2.2 Simulations

J'ai commencé par appliquer la méthode de reconstruction sur un objet simulé. La figure 3.11 illustre un exemple d'implémentation de la symétrie hermitienne dans la reconstruction d'un objet non absorbant de forme quelconque (figure 3.11(a)), accompagnée des spectres de Fourier correspondant dans la ligne supérieure.

Si l'on effectue une acquisition MTD en rotation d'illumination azimutale à l'angle maximal d'illumination, on obtient la partie supérieure du spectre (figure 3.11(b)), contrairement au cas classique d'une rotation d'illumination complète (figure 3.11(c)). Dans le cas de l'illumination

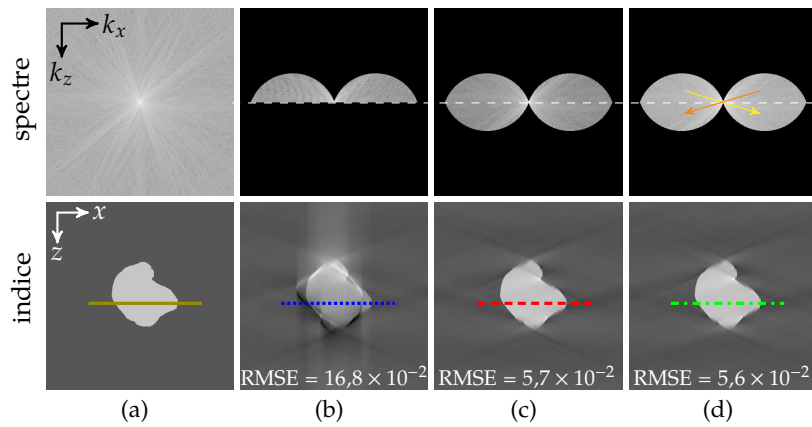


FIGURE 3.11 (a) Objet purement déphasant simulé. (b) Reconstruction avec un demi spectre. (c) Reconstruction avec le spectre entier. (d) Reconstruction via la symétrie hermitienne.

azimutale, on remarque une superposition de l'objet avec son symétrique, due à l'absence de fréquences dans la partie inférieure du spectre, induisant une asymétrie dans l'espace image. L'application de la symétrie hermitienne sur le spectre permet de reconstruire la partie manquante du spectre (figure 3.11(d)). On observe bien la reconstruction de la forme attendue, ainsi que l'effet du *missing cone* suivant l'axe optique. Les profils correspondant présentés figure 3.12 montrent bien l'équivalence de l'opération de symétrie.

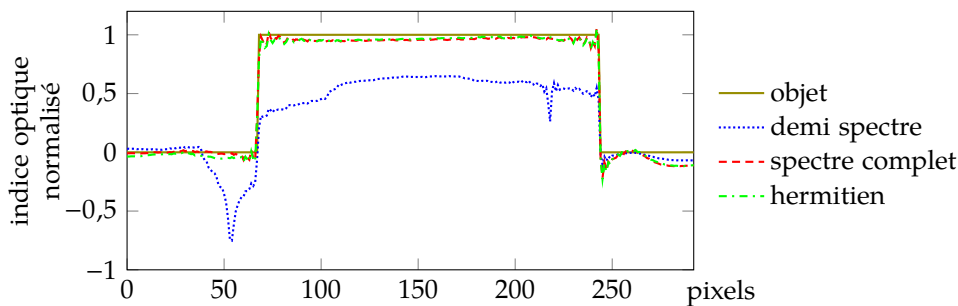


FIGURE 3.12 Profils des différentes reconstructions de la figure 3.11.

2.3 Reconstructions expérimentales

Afin de confirmer la faisabilité de la méthode proposée, je l'ai appliquée à des acquisitions expérimentales. Pour cela, j'ai imagé une bille de silice d'indice optique compris entre 1,43 et 1,46 et de diamètre moyen $4,89 \mu\text{m}$ (données Sigma-Aldrich®). Les acquisitions ont été réalisées à l'aide d'un objectif $\times 100$ d'ouverture numérique 1,4 et d'une illumination à 633 nm. Les parties réelle et imaginaire de l'indice optique de la reconstruction tomographique en rotation complète d'illumination sont présentées figure 3.13.

On remarque que la bille apparaît effectivement très peu absorbante (figure 3.13); l'effet du *missing cone* peut aussi être observé suivant l'axe z . Nous pouvons voir dans la figure 3.13(b) la reconstruction de la bille avec une rotation azimutale de l'illumination. Notons aussi une duplication de l'information à cause de l'asymétrie de la fonction de transfert, davantage visible sur l'indice. La figure 3.13(c) montre la reconstruction après application de la symétrie hermitienne en illumination azimutale. L'absorption étant très faible, j'ai appliqué la symétrie hermitienne

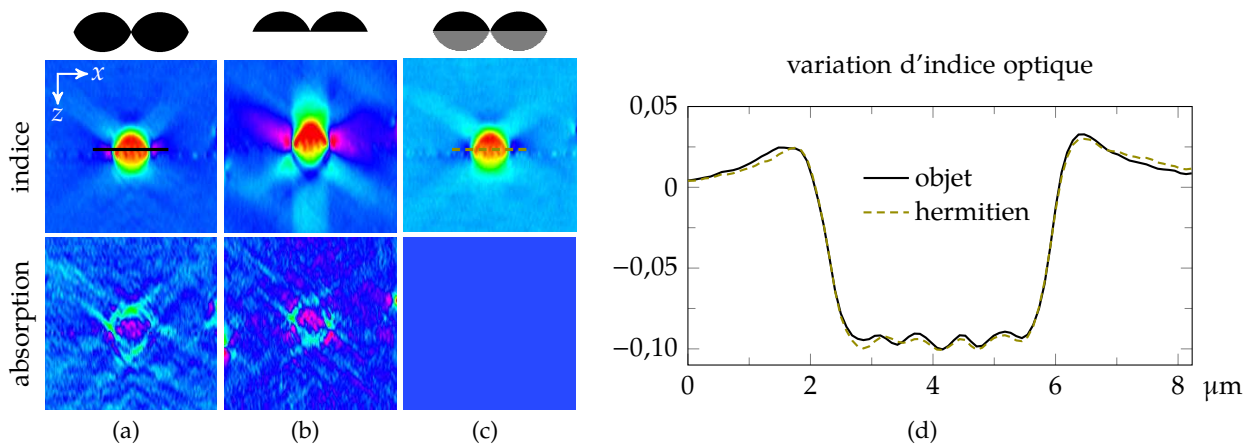


FIGURE 3.13 (a) Bille de silice obtenue en MTD avec rotation d'illumination complète. (b) Reconstruction en rotation azimutale seule. (c) Reconstruction en rotation azimutale avec symétrie hermitienne. (d) Profils respectifs.

à l'image 3.13 avec la contrainte d'absorption nulle, ce que l'on retrouve dans l'absorption en 3.13(c). Les profils des reconstructions correspondantes, tracés dans le graphe 3.13(d), montrent que la partie réelle de l'indice a des valeurs très proches de celles du MTD classique, démontrant ainsi que la propriété de symétrie hermitienne est expérimentalement applicable à des spécimens pas ou peu absorbant, conservant une qualité de reconstruction identique tout en diminuant les temps d'acquisition.

2.4 Conclusion

J'ai proposé dans ce paragraphe une méthode de reconstruction numérique appliquée à des échantillons non absorbants, basée sur une rotation azimutale de l'illumination. L'utilisation de la symétrie hermitienne sur le spectre de Fourier m'a permis de reconstruire l'objet, se rapprochant des valeurs d'indice mesurées en MTD avec rotation complète de l'illumination. Bien que ce soit une solution possible en vue de simplifier les reconstructions, les spécimens naturels non absorbants sont relativement rares, ce qui limite l'application de cette méthode. C'est pourquoi une seconde technique d'acquisition et de reconstruction que je propose dans la suite du chapitre a été étudiée pour avoir un champ d'application théoriquement plus étendu.

3 Tomographie assistée par miroir

Dans cette partie, une seconde manière de simplifier les acquisitions et les reconstructions est proposée, toujours grâce à une rotation azimutale de l'illumination, mais cette fois en utilisant une préparation particulière de l'échantillon.

3.1 Travaux antérieurs

3.1.1 Principe

Au chapitre 1, j'ai détaillé les différentes méthodes d'amélioration de la résolution en MTD via l'agrandissement de la fonction de transfert grâce à la rotation d'illumination, celle de spécimen ou une combinaison des deux si l'on souhaite une résolution isotrope (section 2.3). Lauer a proposé

en 2002 une autre méthode permettant d'obtenir une résolution quasi isotrope, en tenant compte des composantes transmises et réfléchies par l'échantillon [81]. La technique consiste à utiliser un montage similaire au microscope 4π de fluorescence [1] (figure 3.14(a)), mais de se placer dans les conditions d'illumination et de détection cohérente de la lumière.

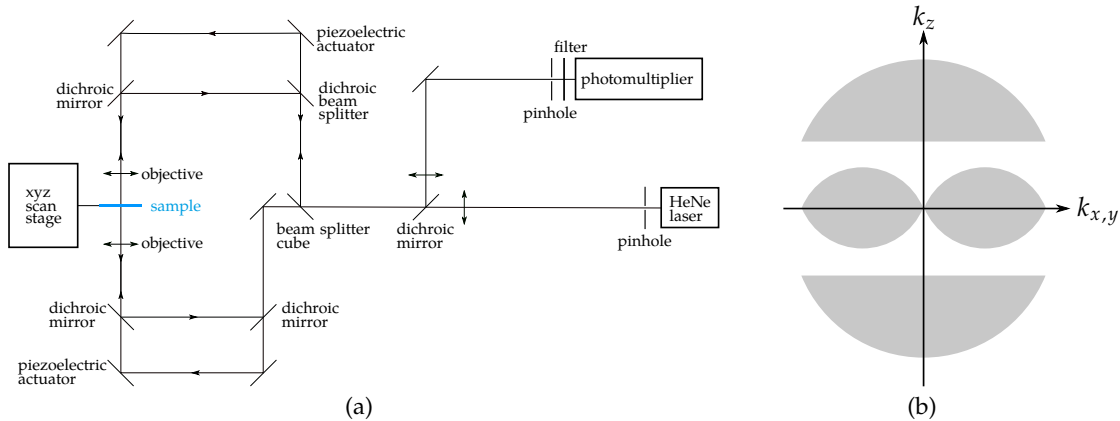


FIGURE 3.14 (a) Schéma du montage d'un microscope 4π en fluorescence [1] et (b) OTF enregistrable dans un tel système. On obtiendrait la même chose avec un microscope holographique.

L'avantage de cette technique, par rapport à la combinaison des rotations d'illumination et de spécimen, est qu'elle ne nécessite qu'un balayage de l'illumination, les deux objectifs en vis-à-vis permettant d'enregistrer systématiquement toutes les composantes transmises et réfléchies (figure 3.14(b)). Cependant, la mise en place d'un tel système est extrêmement complexe.

En 2010, Mudry *et al.* [84] ont proposé un système similaire à celui proposé par Lauer [81] : le MTD assisté par miroir. Un schéma correspondant est présenté figure 3.15. Les simulations tomographiques sont réalisées à l'aide d'une rotation d'illumination de 64 angles avec une ouverture numérique de 0,95 en injection et collection (soit un angle maximal de 70°). Le spécimen étudié est une sphère diélectrique de permittivité $\varepsilon = 1,01$ contenant deux petites sphères de permittivité complexe $\varepsilon = 1,01 + 0,02i$. En supposant que l'onde incidente n'est réfléchi qu'une seule fois par l'objet, elle peut alors avoir quatre trajectoires possibles :

- elle est réfléchi par l'objet (en rose sur la figure 3.15(a)) ;
- elle est transmise dans l'échantillon puis réfléchi par le miroir (orange) ;
- elle est réfléchi par le miroir puis transmise dans le spécimen (vert) ;
- elle est réfléchi par le miroir, puis par l'échantillon et finalement par le miroir une nouvelle fois (bleu).

Les reconstructions sont effectuées dans la 1^{re} approximation de Born via un algorithme itératif de gradient conjugué [140] et une transformée discrète en cosinus (développée dans la partie suivante). Alors qu'en transmission ou réflexion classiques les billes internes ne sont pas ou peu résolues dans la partie imaginaire (figures 3.15(c),(d)), la combinaison des deux effets permet de les observer séparément (figure 3.15(e)).

En définitive, la fonction de transfert optique finale correspond à celle présentée figure 3.15(b) : elle combine les deux réflexions (rose et bleu) et les deux transmissions (vert et orange hachuré), correspondant à un système 4π comme expliqué plus haut, mais utilisant cette fois un seul objectif. L'avantage d'une telle technique réside dans la simplicité de son acquisition : bien qu'enregistrant quatre ondes, l'onde incidente provient en fait d'une seule source. On obtient donc la totalité

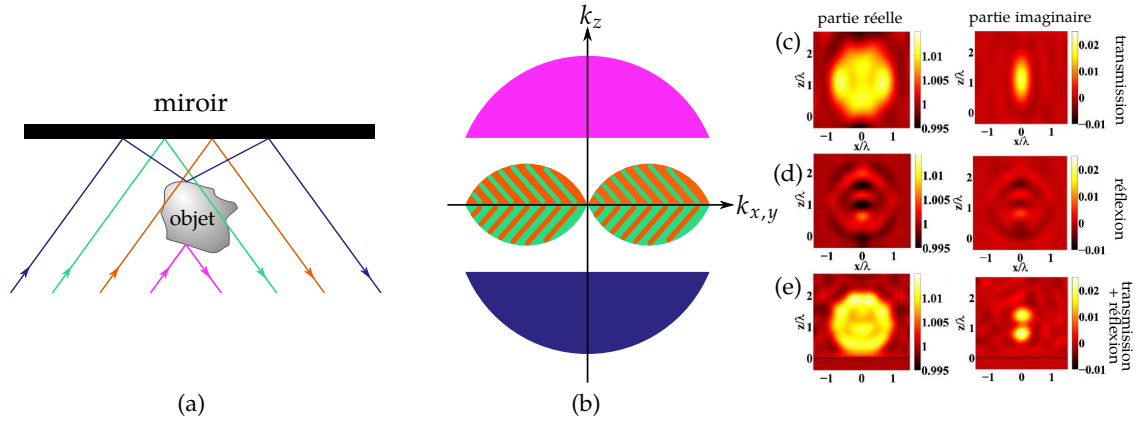


FIGURE 3.15 (a) Schéma de principe de la combinaison de transmission et de réflexion proposée par Mudry. (b) OTF correspondante dans le cas d’une acquisition tomographique avec rotation d’illumination. Reconstructions (c) en transmission seule, (d) réflexion seule et (e) avec l’effet miroir [84].

de l’information accessible dans un microscope 4π à l’aide d’un dispositif de tomographie en réflexion uniquement.

3.1.2 Transformée en cosinus

La méthode de reconstruction initialement proposée par Mudry *et al.* est la transformée discrète en cosinus (DCT, *discrete cosine transform*), appliquée uniquement suivant la direction perpendiculaire au plan du miroir. Considérons un signal discret d’entrée $e(n)$ de N échantillons tel que sa transformée en cosinus $E(n)$ s’écrive [141] :

$$E(n) = \sum_{k=0}^{N-1} e(k) \cos\left[\frac{\pi}{N}\left(k + \frac{1}{2}\right)n\right] = \sum_{k=0}^{N-1} e(k) \cos\left(\frac{4k+1}{2N}n\pi\right). \quad (3.8)$$

On peut diviser cette expression en sommes paire et impaire :

$$E(n) = \sum_{k=0}^{N/2-1} e(2k) \cos\left(\frac{4k+1}{2N}n\pi\right) + \sum_{k=0}^{N/2-1} e(2k+1) \cos\left(\frac{4k+3}{2N}n\pi\right). \quad (3.9)$$

Soit à présent un nouveau signal $y(k)$ définit tel que, $\forall k \in \{0, \dots, \frac{N}{2} - 1\}$:

$$\begin{aligned} g(k) &= e(2k), \\ g(N-1-k) &= e(2k+1). \end{aligned} \quad (3.10)$$

L’équation (3.9) devient alors :

$$E(n) = \sum_{k=0}^{N/2-1} g(k) \cos\left(\frac{4k+1}{2N}n\pi\right) + \sum_{k=0}^{N/2-1} g(N-1-k) \cos\left(\frac{4k+3}{2N}n\pi\right). \quad (3.11)$$

Effectuons le changement de variable suivant : on définit $k' = N-1-k$, appartenant alors à

l'intervalle $[\frac{N}{2}; N - 1]$. Le membre de droite de l'expression (3.11) s'écrit donc :

$$\sum_{k=0}^{N/2-1} g(N-1-k) \cos\left(\frac{4k+3}{2N}n\pi\right) = \sum_{k'=N/2}^{N-1} g(k') \cos\left(2n\pi - \frac{4k'+1}{2N}n\pi\right) \quad (3.12)$$

$$= \sum_{k'=N/2}^{N-1} g(k') \cos\left(\frac{4k'+1}{2N}n\pi\right). \quad (3.13)$$

L'équation (3.11) devient :

$$E(n) = \sum_{k=0}^{N-1} g(k) \cos\left(\frac{4k+1}{2N}n\pi\right). \quad (3.14)$$

Par ailleurs, considérons la transformée de Fourier discrète de $g(k)$:

$$G(n) = \sum_{k=0}^{N-1} g(k) e^{-j2\pi \frac{nk}{N}} = \sum_{k=0}^{N-1} g(k) \left[\cos\left(2\pi \frac{nk}{N}\right) - j \sin\left(2\pi \frac{nk}{N}\right) \right]. \quad (3.15)$$

En multipliant cette équation par un déphasage $\exp(-j\frac{n\pi}{2N})$, on obtient, après simplification, la partie réelle suivante :

$$\operatorname{Re}\{e^{-j\frac{n\pi}{2N}} \cdot G(n)\} = \sum_{k=0}^{N-1} g(k) \cos\left(\frac{4k+1}{2N}n\pi\right) = E(n). \quad (3.16)$$

Cette dernière équation permet de faire un lien direct entre la transformée de Fourier et la transformée en cosinus, séparable en trois étapes :

1. symétriser la fonction d'entrée (équation (3.10));
2. appliquer la transformée de Fourier à cette fonction (équation (3.15));
3. prendre la partie réelle de la transformée de Fourier déphasée (équation (3.16)).

Or l'image enregistrée en MTD assistée par miroir est double, l'étape 1 est donc toujours vérifiée, la DCT séparant alors automatiquement les objets par son implémentation (suivi d'un déphasage). Dans mon cas, je travaille systématiquement dans l'espace de Fourier, par conséquent, je dois réaliser la séparation des objets de l'image obtenue en MTD. C'est pourquoi j'ai proposé une méthode de démodulation, présentée dans la partie 3.2.2, uniquement basée sur des transformées de Fourier, et permettant de séparer facilement parties réelle et imaginaire du spécimen étudié.

3.2 MTD assistée par miroir simplifiée

Dans l'article de Mudry *et al.* [84] la technique du MTD assisté par miroir a été introduite et démontrée théoriquement. j'en propose ici une application expérimentale pour un système moins complexe, aussi bien en termes de champs enregistrés (deux au lieu de quatre) que de reconstruction (démodulation des interférogrammes).

3.2.1 Simplifications

Considérant le cas d'un échantillon peu rétrodiffractant, on peut supposer que les composantes de l'OTF issues de la réflexion peuvent être négligées (figure 3.15). L'OTF finale aura donc

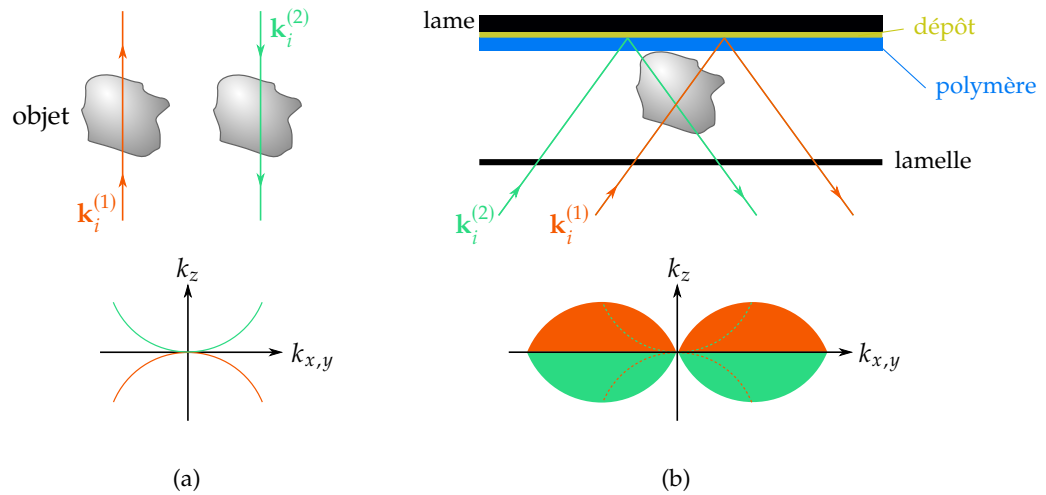


FIGURE 3.16 Représentation schématique de coupes d'enregistrement d'OTF (a) dans le cas d'illuminations séparées et (b) via l'utilisation de l'effet miroir du polymère réfléchissant combinée à une rotation azimutale de l'illumination.

uniquement la forme du donut que l'on obtiendrait en MTD en transmission avec un balayage de l'illumination classique. On constate alors que les composantes verte et orange sont mélangées lors de l'acquisition.

Par ailleurs, la préparation de l'échantillon est modifiée : un dépôt réfléchissant est préalablement réalisé, sur lequel a été placé un polymère transparent d'épaisseur d ; le spécimen est ensuite déposé sur ce polymère. La distance séparant l'objet du dépôt permet d'obtenir l'effet miroir désiré. Sa valeur d est choisie de telle sorte que les objets reconstruits (par rétropropagation comme dans un MTD à rotation d'illumination classique) soient suffisamment séparés pour pouvoir ensuite les démoduler. Le principal intérêt de cette méthode est la possibilité de la combiner à une rotation azimutale de l'illumination : en assemblant deux rotations d'illumination de ce type, suivant k_z et $-k_z$ avec l'effet miroir, on peut enregistrer la même OTF que celle d'une rotation d'illumination classique.

Un premier rayon $\mathbf{k}_i^{(1)}$ (rayon orange dans la figure 3.16(a)) diffracté par l'échantillon puis réfléchi est enregistré. En utilisant une rotation azimutale de l'illumination, on enregistre la partie supérieure de l'OTF du MTD en rotation d'illumination (partie supérieure de la fonction de transfert dans la figure 3.16(b)). Le second rayon, $\mathbf{k}_i^{(2)}$ (en vert), est quant à lui d'abord réfléchi puis diffracté par l'objet, permettant ainsi de remplir la moitié inférieure de l'espace de Fourier. Enregistrer ces deux types de composantes permet ainsi d'obtenir l'intégralité de l'OTF théorique en rotation d'illumination complète. L'avantage de cette méthode d'enregistrement est donc la réduction du temps d'acquisition.

3.2.2 Simulations

Étant donné que les fréquences enregistrées correspondent à des orientations opposées de l'illumination sur l'objet, et puisque ces informations ne sont pas mélangées dans l'espace de Fourier grâce à la rotation azimutale, l'image finale peut être divisée en deux parties, supérieure et inférieure, chacune présentant des informations différentes du spécimen.

Afin de valider la technique proposée, j'ai appliqué cette technique tout d'abord à un objet

synthétique. J'ai simulé un objet 2D de $10\ \mu\text{m}$ dont les propriétés optiques sont comparables à celles d'une cellule classique. Les indices optiques complexes (réfraction et absorption) considérés sont ceux utilisés par Barrer [142] et Krauze [136] :

- milieu d'immersion (eau) à $n_0 = 1,333 + i0,001$;
- membrane cellulaire à $n_1 = 1,370 + i0,0018$;
- noyau à $n_2 = 1,370 + i0,002$;
- cytoplasme à $n_3 = 1,360 + i0,0012$;
- vacuole à $n_4 = 1,333 + i0,001$.

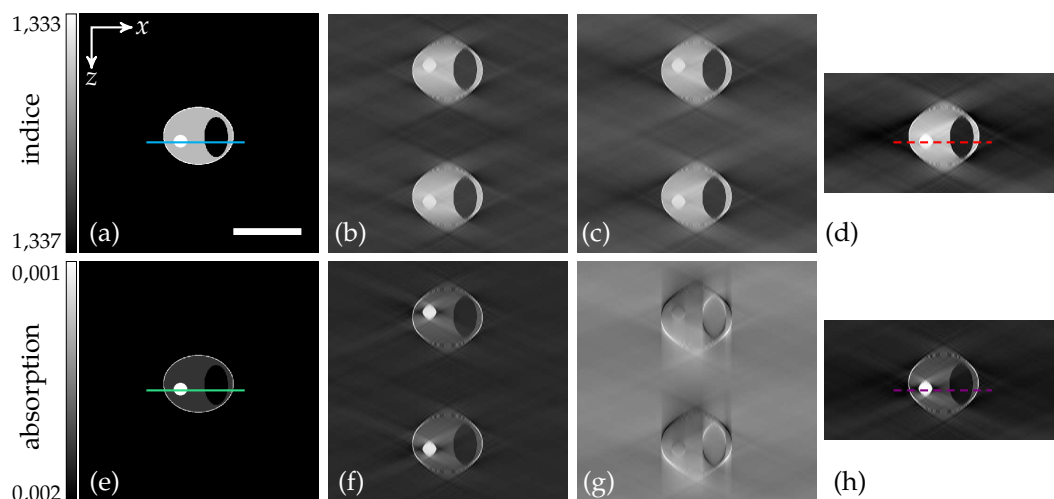


FIGURE 3.17 Résultats de la simulation. (a),(e) Objet simulé. (b),(f) Reconstructions avec rotation complète de l'illumination. (c),(g) Reconstructions non démodulées avec rotation azimutale de l'illumination. (d),(h) Reconstructions avec démodulation. Barre d'échelle : $10\ \mu\text{m}$.

La longueur d'onde utilisée est de $532\ \text{nm}$ et l'ouverture numérique de l'objectif est de $1,4$. Les différentes reconstructions en MTD avec et sans démodulation sont présentées figure 3.17. Les figures 3.17(a) et (e) montrent respectivement les parties réelle et imaginaire de l'échantillon simulé. L'indice optique complexe des images reconstruites en MTD avec rotation complète de l'illumination, c'est-à-dire avec la méthode de reconstruction classique, est visible dans les figures 3.17(b) et (f) est exposé l'indice optique complexe. On observe bien la duplication de l'objet issue de l'effet miroir, en plus du manque de résolution suivant l'axe z dû au *missing cone* de l'OTF. Les figures 3.17(c),(g) montrent les reconstructions obtenues après une rotation azimutale de l'illumination. En plus de l'effet miroir toujours présent, on observe un mélange de l'information entre parties réelle et imaginaire, non visible avec la rotation d'illumination complète. Ceci est dû à l'asymétrie de la fonction de transfert dans l'espace de Fourier (hâchures vertes et oranges sur la figure 3.15(b)). Il est donc nécessaire de démoduler ces images. La méthode de reconstruction que je propose est présentée figure 3.18.

À partir du champ complexe reconstruit non démodulé en MTD avec rotation azimutale (figures 3.17(c),(g)), j'ai séparé les parties supérieure et inférieure, m'amenant à traiter quatre images différentes. Une FFT 2D est réalisée, suivie d'un retournement d'une des deux images (« ret » sur la partie supérieure du diagramme 3.18) afin d'annuler l'effet miroir. Ensuite, les parties supérieure et inférieure sont additionnées. Enfin, une FFT 2D inverse sur le spectre résultant est appliquée pour obtenir la reconstruction finale.

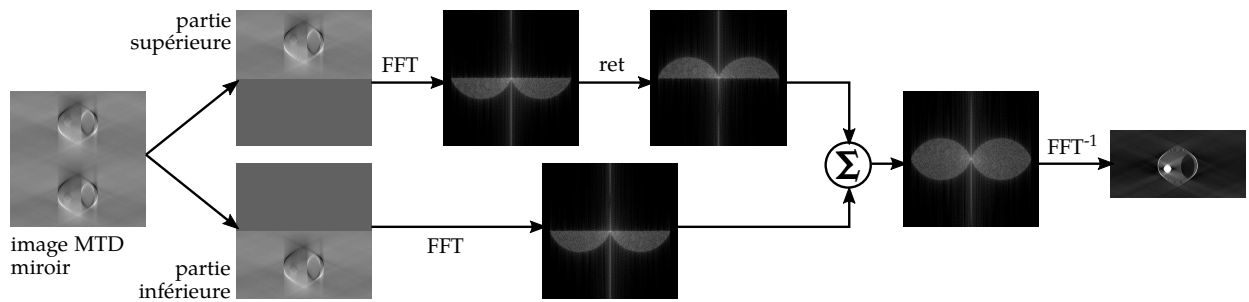


FIGURE 3.18 Schéma de la méthode de démodulation proposée appliquée aux parties réelle et imaginaire de l'image complexe.

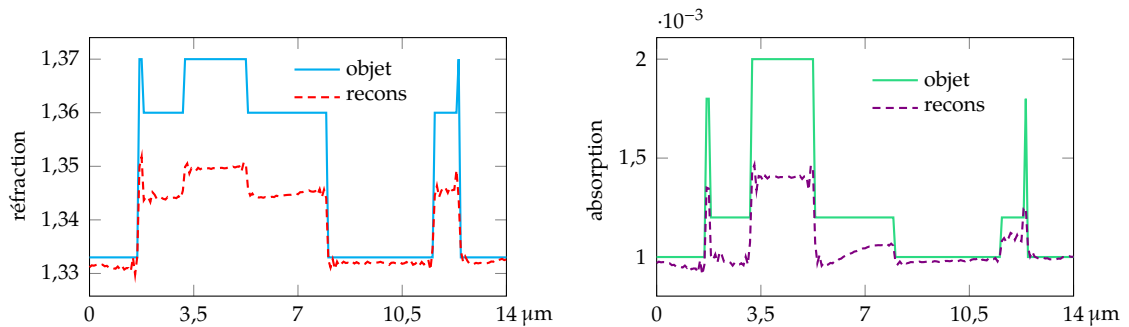


FIGURE 3.19 Profils de réfraction (à gauche) et d'absorption (à droite) comparant la simulation avec la reconstruction démodulée obtenus figure 3.17.

Les figures 3.17(d) et (h) montrent les résultats des reconstructions après la démodulation avec rotation azimutale de l'illumination. Nous voyons que l'effet miroir a bien été annulé, en plus de bien avoir séparé les deux parties réelle et imaginaire. Notons aussi un contraste d'indice plus proche de celui de l'objet simulé.

Les profils respectifs comparant objet et reconstruction démodulée sont présentés figure 3.19. On peut noter qu'il existe une différence de valeur entre les deux courbes. Cela peut provenir du *missing cone* impliquant une perte de l'information (discuté dans le chapitre précédent), mais aussi du découpage en parties supérieure et inférieure de l'image : en la séparant de façon abrupte en deux parties distinctes, j'ai supposé que l'objet et la réplique ne mélangeaient pas leurs informations respectives. Cependant, ces courbes confirment la validité de la méthode proposée, ainsi que l'amélioration de la dynamique observée par rapport aux reconstructions non démodulées, indépendamment du type de balayage réalisé.

3.3 Validation expérimentale

Pour obtenir les images expérimentales en tomographie assistée par miroir, j'ai utilisé le système monté en décalage de phase (voir partie 1.3 de l'état de l'art). Contrairement à la configuration hors axe, ce montage conserve une taille de champ importante puisqu'aucun filtrage spatial n'est effectué, avantage essentiel afin de séparer suffisamment l'objet reconstruit de sa réplique.

3.3.1 Montage expérimental

La figure 3.20 décrit le montage utilisé, basé sur un montage holographique [29], et permettant un contrôle de l'angle d'illumination. Une source laser à 532 nm (Oxxius® DPSS LCX-532S) est

divisée en deux faisceaux via un cube séparateur. L'onde d'illumination (en vert dans la figure 3.20) est filtrée à travers F_1 composé de deux lentilles et d'un pinhole placé dans le plan focal commun à ces lentilles. L'angle d'illumination sur l'échantillon est contrôlé par un miroir tip/tilt (Newport[®] FSM-300) et un objectif ($\times 100$ NA = 1,40 à immersion à huile Olympus[®]), placé à l'intérieur d'un bâti de microscope (Olympus[®] IX71). Ce faisceau est alors diffracté par l'objet, renvoyé et collecté par l'objectif de microscope (hâchures rouges).

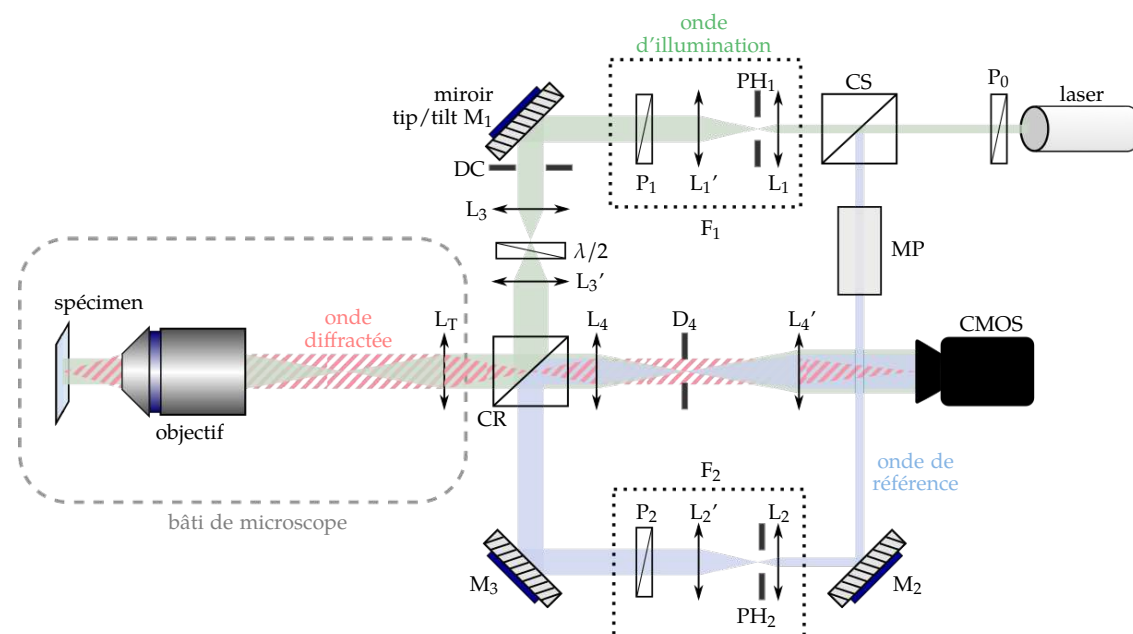


FIGURE 3.20 Représentation schématique du montage de MTD. CS : cube séparateur. P_0 , P_1 et P_2 : polariseurs. PH_1 et PH_2 : pinholes. F_1 et F_2 : systèmes de filtrage. MP : modulateur de phase. DC : diaphragme de champ. CR : cube recombineur. L_T : lentille de tube.

L'onde de référence passe quant à elle dans le modulateur de phase électro-optique (Newport[®] 4002), permettant ainsi de générer les différents retards de phase nécessaires à la démodulation temporelle des interférogrammes. Cette onde est filtrée via F_2 et mélangée aux ondes d'illumination et diffractée à l'aide du cube recombineur. Les interférences sont finalement enregistrées sur une caméra CMOS (Photonfocus[®] MV1-D1312-100-GB-12). L'échantillon observé est placé sur un polymère d'épaisseur connue $5 \mu\text{m}$ (afin de séparer convenablement l'objet reconstruit et son image double), lui-même placé sur un dépôt réfléchissant, permettant la réflexion des ondes et ainsi permettre la double illumination.

3.3.2 Calibrage du déphasage

Pour pouvoir appliquer les différents déphasages à l'onde de référence, on doit appliquer une tension calibrée au modulateur de phase. Cette tension est commandée par ordinateur à l'aide d'un convertisseur analogique-numérique LabJack[®] U3. Étant donné que les déphasages successifs sont équidistants, la tension appliquée au modulateur doit être incrémentée d'une valeur constante ΔV permettant un déphasage de $\pi/2$ entre chaque interférogramme. Pour trouver ce pas en tension, il faut pouvoir minimiser la différence d'intensité entre les interférences enregistrées. À

À l'aide des équations (1.10) de la partie 1.3, on en déduit l'égalité suivante :

$$I_1 + I_3 = I_2 + I_4 . \quad (3.17)$$

Expérimentalement, cette équation ne peut jamais être vérifiée strictement, c'est pourquoi le critère d'erreur ε la minimisant a été proposé par Simon [35] :

$$\varepsilon = \min \left\{ \sum_{\text{pixels}} [(I_1 + I_3) - (I_2 + I_4)]^2 \right\} . \quad (3.18)$$

À ce critère d'erreur correspond donc un incrément de tension ΔV optimal. Dans mon cas, ce saut de tension, ajusté avant chaque acquisition, est d'environ 65 V.

3.3.3 Premiers résultats avec un miroir d'or

Les acquisitions sont réalisées sur des billes de polystyrène de $5 \mu\text{m}$ de diamètre et d'indice 1,59, avec un miroir d'or et une épaisseur de polymère de $6 \mu\text{m}$. Les résultats des reconstructions non démodulée et démodulée sont présentés figures 3.21(a) et 3.21(b) respectivement.

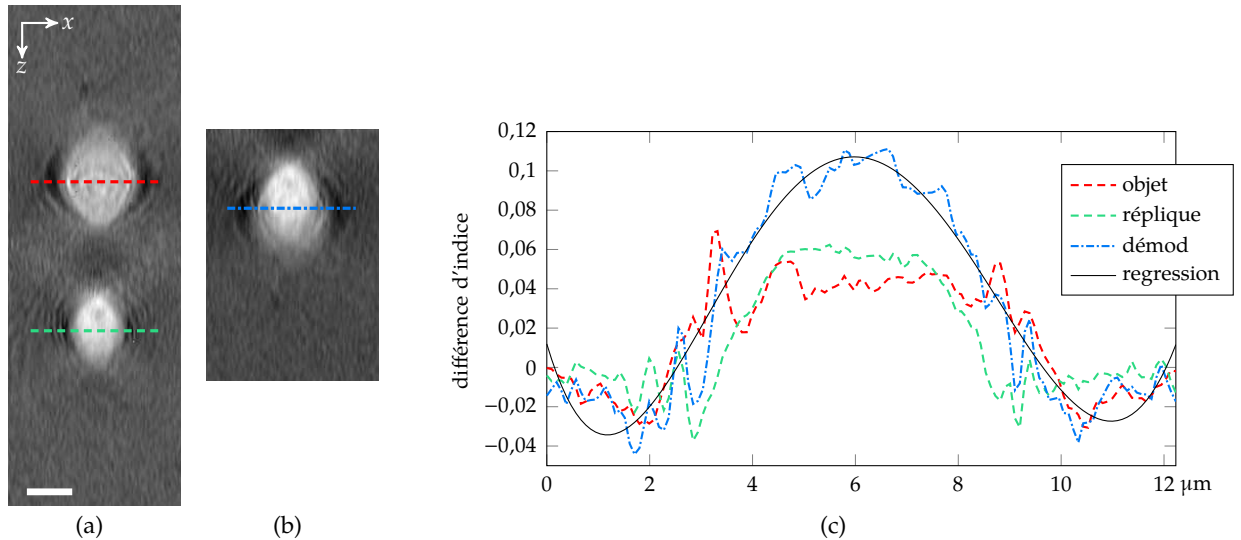


FIGURE 3.21 Bille reconstruite (a) avant démodulation et (b) après démodulation. (c) Profils respectifs. Barre d'échelle : $5 \mu\text{m}$.

Notons premièrement l'effet miroir permettant de distinguer l'objet de sa réplique. En nous aidant des profils tracés figure 3.21(c), on remarque que la reconstruction permet une amélioration quantitative de l'indice de réfraction, se rapprochant de la valeur attendue de 0,08.

Afin de déterminer le diamètre de la bille après démodulation, j'ai appliqué une régression polynomiale d'ordre 4 via la méthode des moindres carrés à la courbe en tirets-pointillés bleus. Le critère choisi pour la mesure du diamètre de la bille est la largeur à mi-hauteur de la courbe (trait plein noir). J'obtiens un diamètre de $5,5 \mu\text{m}$, soit une erreur de 10% par rapport à la valeur attendue. À partir de ce diamètre mesuré, j'ai pu en déduire l'épaisseur de polymère : la distance centre à centre mesurée séparant l'objet de sa réplique étant d'environ $14 \mu\text{m}$, j'obtiens une épaisseur de polymère d'environ $4,25 \mu\text{m}$. La différence d'épaisseur entre celle mesurée et celle attendue peut provenir des variations d'épaisseur de surface lors de l'opération de dépôt

de polymère. En effet, celui-ci est déposé à l'aide de la technique d'enduction centrifuge (*spin coating*), consistant à placer une goutte de polymère liquide au centre de la surface voulue, tout en faisant tourner cette surface à grande vitesse afin d'étaler le dépôt de façon uniforme par force centrifuge. Un solvant est enfin utilisé comme évaporateur afin d'obtenir une couche finale solide. Malheureusement, il peut arriver que le dépôt ne présente pas une surface uniforme ou à l'inverse des variations sensibles d'épaisseur [143].

Finalement, on observe que la réplique présente un diamètre et des variations d'indices différents de l'objet. Cela pourrait provenir de l'effet de lentille de la bille, induit par une différence d'indice trop importante entre l'échantillon et le milieu d'immersion. Cet effet de lentille est clairement visible sur la figure 3.21(a) en comparant la taille de l'objet et celle de sa réplique. Ainsi, la condition de diffusion simple de Born n'est plus respectée. De plus, l'algorithme de reconstruction étant uniquement basé sur des champs scalaires, je n'ai pas pris en compte les effets de polarisation pouvant intervenir, que ce soit à cause du polymère ou du miroir d'or. Ces aspects sont détaillés à la fin du manuscrit dans les perspectives p. 101. Nous pouvons également observer l'effet du *missing cone*, qui pourrait être atténué grâce à différents traitements numériques tels que des approches itératives (Gerchberg-Saxton, déconvolution de Lucy-Richardson) ou des problèmes inverses (Gerchberg-Papoulis, variation totale).

3.3.4 Effet de la focalisation

Comme dans tout montage de microscopie, l'éclairage du spécimen se fait dans la configuration de Köhler, dont le principe est décrit figure 3.22 : l'image du diaphragme de champ (DC), contrôlant l'ouverture angulaire du faisceau incident combiné au balayage du miroir M, doit apparaître nette sur la caméra, correspondant ainsi à une illumination uniforme et homogène de l'échantillon (rayon plein en vert sur la figure). Cependant, à chaque fois que l'on refocalise l'objectif-condenseur sur l'objet que l'on veut imager, on doit réajuster la netteté du diaphragme, s'agissant d'un système en réflexion. Pour cela, le doublet de lentilles L_1-L_2 , considéré comme un seul bloc (encadré en bleu sur la figure), doit pouvoir être translaté dans la direction de l'axe optique, permettant de compenser la défocalisation par l'objectif et d'obtenir ainsi un point source dans l'image du plan focal arrière du système objectif- L_T située au niveau du DC (pointillés rouges).

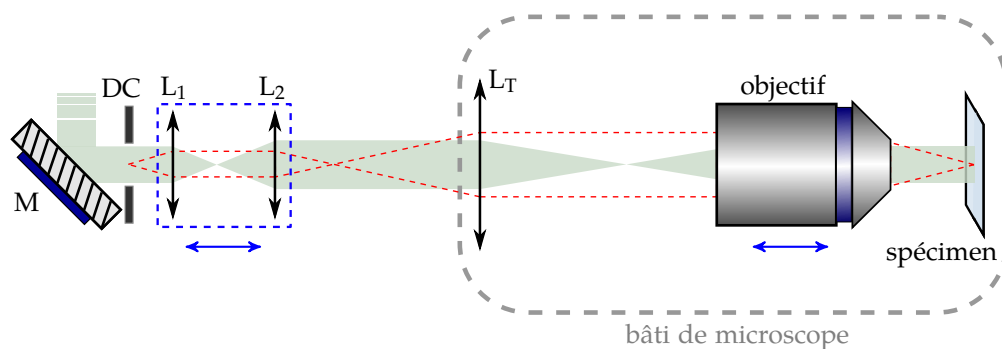


FIGURE 3.22 Principe de l'illumination de Köhler dans un dispositif en réflexion en fonction de la focalisation de l'objectif-condenseur et du déplacement du doublet L_1-L_2 modélisés par la double flèche bleue. DC : diaphragme de champ. L_T : lentille de Telan.

En tenant compte de cette particularité du système en réflexion, j'ai réalisé plusieurs acquisitions

à trois plans de focalisation différents : sur la bille, entre la bille et sa réplique et sur la réplique. Les conditions expérimentales sont inchangées, excepté que j'ai effectué une rotation complète de l'illumination. Les reconstructions sont présentées figure 3.23, où la ligne en tirets verts représente le plan de focalisation.

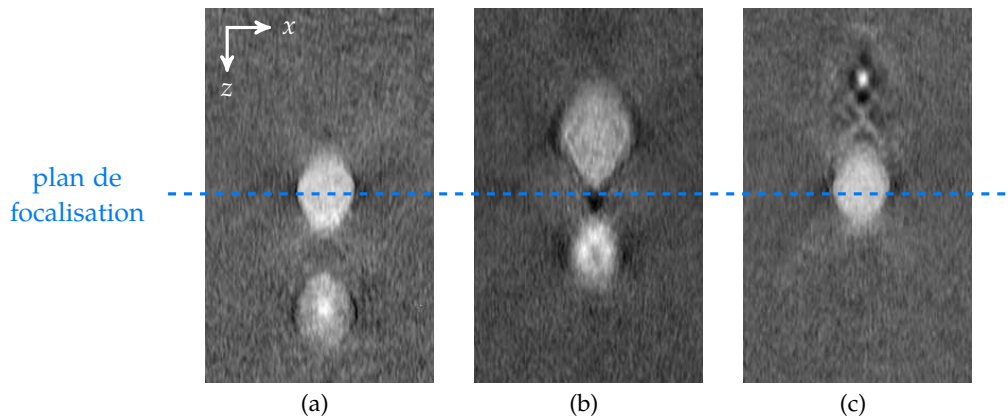


FIGURE 3.23 Reconstructions suivant différents plans de focalisation (a) sur la bille, (b) entre la bille et sa réplique ou (c) sur la réplique.

La figure 3.23(a) montre la reconstruction avec une focalisation sur la bille. On observe d'une part une bonne qualité de reconstruction de la bille, et un bon contraste de la réplique d'autre part. Noter l'effet du *missing cone* selon l'axe z , visible aussi sur les deux autres images. On remarque cependant que la réplique ne présente pas un indice uniforme mais plutôt un pic au milieu.

Pour une focalisation entre la bille et sa réplique (figure 3.23(b)), on remarque tout d'abord un déplacement de l'information dans l'image selon z (en compensation du déplacement du doublet de lentilles L_1-L_2 du schéma 3.22) ainsi qu'une augmentation sensible de la taille de la bille. Par ailleurs, en plus d'une baisse notable de contraste de la bille, on peut noter une inversion de l'indice au milieu de la réplique par rapport à une focalisation sur la bille.

La figure 3.23(c) montre la reconstruction avec une focalisation sur la réplique : alors que sa reconstruction est très proche de celle de la bille de la figure 3.23(a), cette dernière apparaît ici très faiblement, avec seulement un pic d'indice en son centre.

Bien que ces images mettent en avant un problème expérimental critique de ce montage, il faut aussi mettre en avant le choix de l'échantillon. En effet, pour les trois focalisations, un effet de lentille est visible (figure 3.23(c)) et des aberrations figure 3.23(b), très probablement à cause de la bille elle-même, dont la forme et le saut d'indice trop important par rapport au milieu d'immersion induisent une convergence des faisceau. Par conséquent, des expériences complémentaires avec des spécimens moins symétriques et présentant une plus faible différence d'indice avec le milieu d'immersion est à envisager.

3.3.5 Rotation d'illumination complète

Comme évoqué auparavant (cf. 3.1.1), l'utilisation de l'effet miroir permet de transformer un microscope en réflexion en microscope en transmission. En 2012, Hui Liu avait obtenu les premières images en MTD assisté par miroir d'un microcristal à l'aide d'un dépôt d'argent, en appliquant une rotation complète de l'illumination. Les résultats, présentés figure 3.24, montrent un effet miroir très net avec une réplique quasi-identique à l'objet étudié. Dans ce cas, une simple

découpe de l'image selon le plan de symétrie (flèches rouges sur la figure) permet d'obtenir une reconstruction identique à celle obtenue en MTD en transmission classique du fait du recouvrement de l'information.



FIGURE 3.24 Microcristaux obtenus avec une rotation complète de l'illumination à différents angles d'observation. Barre d'échelle : 5 μm .

Afin de confirmer ce résultat, j'ai comparé les reconstructions obtenues avec cette méthode à ceux obtenus sur un MTD en transmission classique que nous avons au laboratoire. Les résultats associés sont présentés figure 3.25. La figure 3.25(a) obtenue avec une rotation complète de l'illumination montre une reconstruction de la bille de bonne qualité, malgré le saut d'indice au centre de la réplique (expliqué dans la partie précédente). La figure 3.25(b) montre la reconstruction d'une bille à l'aide d'un MTD en transmission classique. On remarque dans la figure 3.25(c) que la reconstruction en miroir présente un diamètre plus proche de celui attendu qu'en tomographie standard, mais les valeurs d'indice mesurées sont assez éloignées de celles attendues.

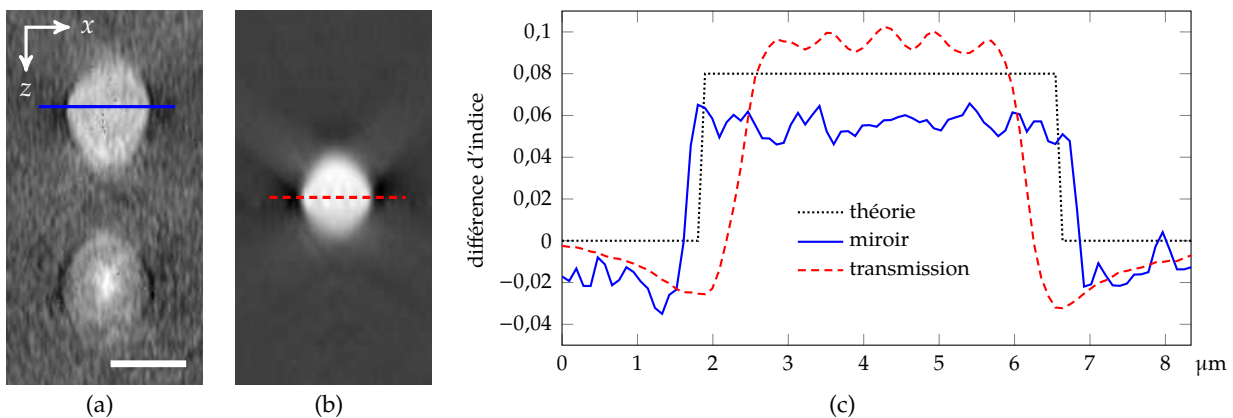


FIGURE 3.25 Comparaison des reconstruction entre un dispositif de MTD (a) assisté par miroir et (b) en transmission classique. (c) Profils respectifs. Barre d'échelle : 5 μm .

Comme évoqué précédemment, ces écarts de valeur sont probablement dus aux hypothèses assez fortes appliquées aux reconstructions : pas de rétrodiffraction et non prise en compte de la polarisation par exemple. Néanmoins, il est tout à fait envisageable d'obtenir une reconstruction tomographique d'un objet similaire à celle d'un MTD en transmission classique à l'aide d'une rotation complète d'illumination.

4 Conclusion

Bien qu'augmentant la résolution par rapport au DHM, la contrepartie inhérente à la mise en place d'un MTD est la nécessité de réaliser une synthèse d'ouverture, soit avec une rotation d'illumination, de spécimen ou une combinaison des deux. Ces processus sont assez complexes à mettre en place, mais peuvent être allégés si l'on tient compte des particularités de l'échantillon.

Après un état de l'art évoquant les différents moyens d'optimisation de remplissage de la fonction de transfert optique, j'ai commencé par appliquer une méthode numérique de reconstruction considérant des spécimens non absorbants. Pour cela, j'ai appliqué la propriété de symétrie hermitienne, permettant de reconstruire le spectre de Fourier à partir d'une acquisition partielle. En effectuant une illumination azimutale au lieu d'une rotation complète, j'ai ainsi pu démontrer, à l'aide de simulations puis de données expérimentales, la faisabilité de la méthode sans perte d'information.

Dans la seconde partie du chapitre, j'ai développé expérimentalement la théorie du MTD assisté par miroir mis en place par Mudry *et al.* en 2010. Pour cela, j'ai considéré l'échantillon peu rétrodiffractant. Il est déposé sur un polymère transparent, lui-même placé sur un dépôt réfléchissant. Une acquisition tomographique des hologrammes en rotation azimutale de l'illumination permet alors de remplir l'espace de Fourier tout en séparant les informations diffractées en avant et rétrodiffractées par le spécimen. Afin de démoduler les images, j'ai proposé une méthode annulant la symétrie introduite par le miroir et basée uniquement sur des transformées de Fourier, permettant notamment de séparer parties réelle et imaginaire du champ. Bien que certains phénomènes physique ne sont pas pris en compte, j'ai tout de même réussi à reconstruire la bille comme avec un MTD en transmission classique. Cette partie du chapitre a fait l'objet d'une publication à *Journal of the Optical Society of America A*, ajoutée à la fin de ce manuscrit [144].

Les suites à donner à ces travaux sont nombreuses : du fait des problèmes rencontrés lors de la reconstruction (modification de la taille, effet de lentille, aberrations), des expériences complémentaires sont à mener avec des spécimens moins symétriques que des billes et présentant un plus faible écart d'indice avec le milieu d'immersion. Les effets de polarisation et de choix de matériaux réfléchissant sont aussi à prendre en compte. Ces points sont détaillés dans les perspectives. Finalement, de telles hypothèses sur les conditions expérimentales que j'ai faites sur le MTD assisté par miroir n'ont pour l'instant pas encore été traitées dans la littérature à ma connaissance, mais les travaux de Godavarty *et al.* [145] sur un MTD en réflexion pourraient être une base intéressante pour son développement.

Références

- [127] K. Kim, H. Yoon, M. Diez-Silva, M. Dao, R. R. Dasari et Y. Park, « High-resolution three-dimensional imaging of red blood cells parasitized by *Plasmodium falciparum* and in situ hemozoin crystals using optical diffraction tomography », *Journal of Biomedical Optics* **19**(1), p. 011005, 2013.
- [128] Y. Sung et R. R. Dasari, « Deterministic regularization of three-dimensional optical diffraction tomography », *Journal of the Optical Society of America A* **28**(8), p. 1554–1561, 2011.
- [129] S. J. LaRoque, E. Y. Sidky et X. Pan, « Accurate image reconstruction from few-view and limited-angle data in diffraction tomography », *Journal of the Optical Society of America A* **25**(7), p. 1772–1782, 2008.
- [130] A. Papoulis, « A new algorithm in spectral analysis and band-limited extrapolation », *IEEE Transactions on Circuits and Systems* **22**(9), p. 735–742, 1975.
- [131] N. K. Kamila, *Handbook of Research on Emerging Perspectives in Intelligent Pattern Recognition, Analysis, and Image Processing*, Advances in Computational Intelligence and Robotics, IGI

Global, 2016.

- [132] P. Chatterjee, S. Mukherjee, S. Chaudhuri et G. Seetharaman, « Application Of Papoulis-Gerchberg Method In Image Super-Resolution and Inpainting », *The Computer Journal* **52**(1), p. 80–89, 2008.
- [133] R. Fiolka, K. Wicker, R. Heintzmann et A. Stemmer, « Simplified approach to diffraction tomography in optical microscopy », *Optics Express* **17**(15), p. 12407–12417, 2009.
- [134] J. B. Pawley, *Handbook of biological confocal microscopy*, Springer, 3^e édition, 2006.
- [135] W. Krauze, P. Makowski, M. Kujawińska et A. Kuś, « Generalized total variation iterative constraint strategy in limited angle optical diffraction tomography », *Optics Express* **24**(5), p. 4924–4936, 2016.
- [136] Y. Cotte, F. M. Toy, C. Arfire, S. S. Kou, D. Boss, I. Bergoënd et C. Depeursinge, « Realistic 3d coherent transfer function inverse filtering of complex fields », *Biomedical Optics Express* **2**(8), p. 2216–2230, 2011.
- [137] C. Park, S. Shin et Y. Park, « Generalized quantification of three-dimensional resolution in optical diffraction tomography using the projection of maximal spatial bandwidths », *Journal of the Optical Society of America A* **35**(11), p. 1891–1898, 2018.
- [138] S. Kawata, O. Nakamura et S. Minami, « Optical microscope tomography I Support constraint », *Journal of the Optical Society of America A* **4**(1), p. 292–297, 1987.
- [139] S. Hell et E. H. K. Stelzer, « Properties of a 4pi confocal fluorescence microscope », *Journal of the Optical Society of America A* **9**(12), p. 2159–2166, 1992.
- [140] P. C. Chaumet, K. Belkebir et A. Sentenac, « Experimental microwave imaging of three-dimensional targets with different inversion procedures », *Journal of Applied Physics* **106**(3), p. 034901, 2009.
- [141] V. Britanak, P. C. Yip et K. R. Rao, *Discrete cosine and sine transforms : general properties, fast algorithms and integer approximations*, Elsevier, 2007.
- [142] R. Barrer et S. Joseph, « Refractometry of Living Cells », *Journal of Cell Science* **s3-95**(32), p. 399–432, 1954.
- [143] L. E. Scriven, « Physics and Applications of DIP Coating and Spin Coating », *MRS Proceedings* **121**, p. 717, 1988.
- [144] L. Foucault, N. Verrier, M. Debailleul, J.-B. Courbot, B. Colicchio, B. Simon, L. Vonna et O. Haeberlé, « Versatile transmission/reflection tomographic diffractive microscopy approach », *Journal of the Optical Society of America A* **36**(11), p. C18–C27, 2019.
- [145] C. Godavarthi, T. Zhang, G. Maire, P. C. Chaumet, H. Giovannini, A. Talneau, K. Belkebir et A. Sentenac, « Superresolution with full-polarized tomographic diffractive microscopy », *Journal of the Optical Society of America A* **32**(2), p. 287–292, 2015.

SIMPLIFICATION DE LA MESURE DE PHASE

Sommaire

1 Motivations	89
2 Généralités sur les analyseurs de front d'onde	90
2.1 Masque de Hartmann	90
2.2 Analyseur de courbure	90
2.3 Analyseur à pyramide	91
2.4 Analyseur de Shack-Hartmann	92
2.5 Analyseur interférométrique	92
3 Interférométrie à décalage multilatéral à quatre ondes	94
3.1 Obtention des interférences	94
3.2 Démodulation	95
4 Application expérimentale	97
4.1 Montage	97
4.2 Premiers résultats	97
4.3 Conclusion	98

1 Motivations

L'une des principales raisons pour laquelle j'ai souhaité simplifier le dispositif actuel de MTD est la volonté de le proposer à la communauté des biologistes en la rendant plus facile d'utilisation. Pour cela, certains inconvénients doivent être corrigés. Parmi eux, la complexité de mise en place, d'acquisition ou son encombrement peuvent être des freins à son utilisation. Notamment, le dispositif actuel requiert l'utilisation d'un bras de référence pour générer les interférences. C'est pourquoi je propose une voie de simplification sur le montage : elle consiste à remplacer la détection holographique par un analyseur de front d'onde. Cet appareil permet d'obtenir instantanément l'amplitude et la phase de l'onde mesurée, permettant ainsi de supprimer l'utilisation de potentiels algorithmes de déroulement de phase ou de refocalisation par exemple. Il permet aussi une meilleure tenue en stabilité (la référence et l'objet sont perturbés de la même manière) et une limitation de la cohérence de la source (réduisant le bruit de speckle). Ce dispositif simplifié pourrait *in fine* être utilisé par exemple par des biologistes souhaitant réaliser plusieurs analyses à l'aide de différentes modalités de microscopie.

Dans la suite de cette section, je présente les différents types d'analyseurs de front d'onde, avant d'aborder le cas particulier de l'analyseur de front d'onde à décalage multilatéral que j'ai utilisé. Je décris ensuite la mise en place de l'appareil ainsi que les différentes procédures expérimentales pour l'acquisition des images d'intensité et de phase.

2 Généralités sur les analyseurs de front d'onde

Un analyseur de front d'onde est un dispositif permettant l'obtention du champ complexe d'une onde (intensité et phase) à partir de l'acquisition d'au moins deux images. Puisque le capteur électronique n'est sensible qu'aux variations d'intensité, il est nécessaire de trouver différents moyens pour diviser l'onde incidente et observer les variations d'intensité relatives, afin d'en extraire la phase.

2.1 Masque de Hartmann

Inventé en 1900, l'analyseur de Hartmann a été mis au point dans le but d'analyser les déformations du champ induites par les éléments optiques utilisés en astronomie grâce à la décomposition du front d'onde et l'analyse locale de ses déformations. Il s'agit d'un masque de trous carrés disposés en grille à deux dimensions. Si les trous sont de la taille de la longueur d'onde, ils diffractent le faisceau incident qui est observable à différentes distances du masque, multiples de la distance de Talbot définie par $D_T = 2p^2/\lambda$ où p est le pas du réseau et λ la longueur d'onde d'observation (figure 4.1). La pente du front d'onde local est reliée à la position des motifs lumineux observables aux multiples de D_T et à la distance entre le masque et le plan d'observation.

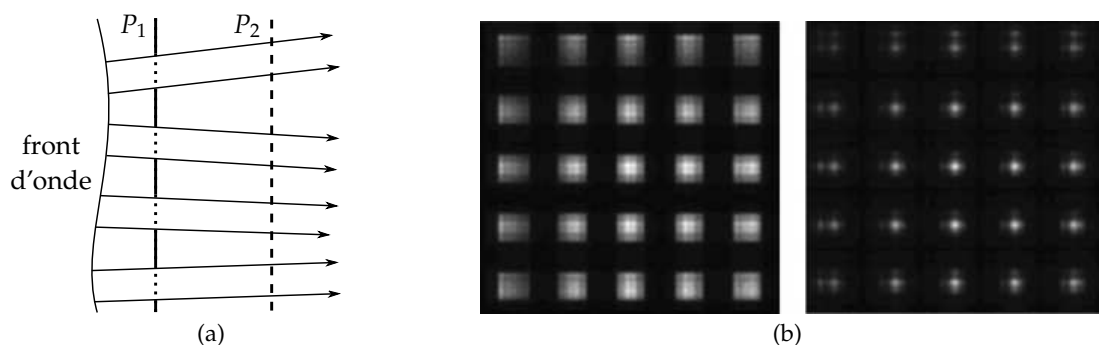


FIGURE 4.1 (a) Principe de l'analyseur de Hartmann. L'onde incidente est diffractée par le masque de trous situé sur le plan P_1 . Les déformations locales observées sur le plan P_2 sont différentes de celles observées sur P_1 . (b) Images obtenues avec une onde plane (à gauche) et une onde sphérique (à droite) [146].

La sensibilité d'un tel dispositif peut donc être ajustée par simple translation du plan d'observation, la seule contrainte étant la distance maximale limitée entre le masque et le plan d'observation à cause de la diffraction.

2.2 Analyseur de courbure

Développé en 1988 par Roddier [147], l'analyseur de courbure est destiné à l'astronomie dans le but de mesurer les déformations induites par l'atmosphère sur le front d'onde. Contrairement

aux analyseurs de front d'onde mesurant le front local suivant deux directions orthogonales x et y [148], l'analyseur de courbure mesure la courbe locale de ce front d'onde, qui correspond au Laplacien de la surface du front d'onde $z(x,y)$.

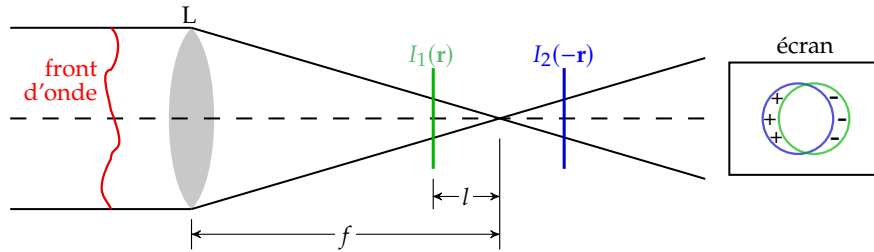


FIGURE 4.2 Schéma de principe de l'analyseur de courbure.

Le front d'onde, modifié par les altérations atmosphériques par exemple, est focalisé par une lentille L de distance focale f (figure 4.2). Deux mesures d'irradiance sont effectuées : la première $I_1(\mathbf{r})$ à une distance l précédant le plan focal (plan intrafocal), la seconde $I_2(-\mathbf{r})$ dans le plan opposé (extrafocal), c'est-à-dire à la même distance l après le plan focal. Étant donné que les modifications apportées par les altérations modifient l'irradiance mesurée, une différence entre ces deux grandeurs permet de retrouver les courbures locales du front d'onde [147] :

$$I_1(\mathbf{r}) - I_2(-\mathbf{r}) = C \left[\frac{\partial z(\mathbf{r})}{\partial \mathbf{n}} + \nabla^2 z(\mathbf{r}) \right], \quad (4.1)$$

où C est une constante de proportionnalité et \mathbf{n} est la normale au front d'onde. La figure 4.3 montre les images de l'atmosphère obtenues à l'aide d'un télescope pour quatre distances différentes.

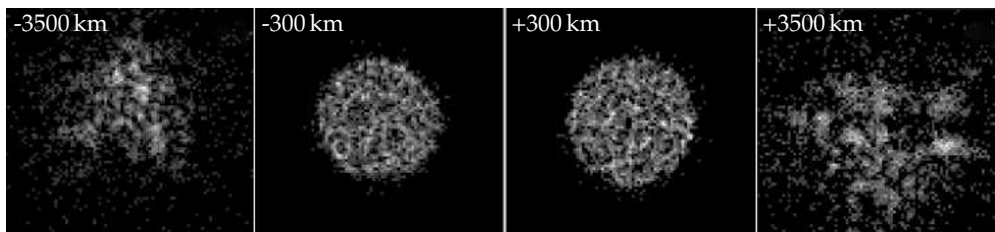


FIGURE 4.3 Images de l'atmosphère obtenues à l'aide d'un télescope à quatre distances du plan focal de la lentille : -3500, -300, +300 et +3500 km [149].

Étant donné qu'à chaque déformation locale de la courbure du front d'onde correspond une différence d'irradiance, et donc un pixel caméra, ce dispositif présente une meilleure résolution que le masque de Hartmann. L'avantage principal d'une telle méthode de mesure est sa modularité en résolution : un éloignement des plans intrafocal et extrafocal de celui de la lentille augmentera la résolution du dispositif, mais au dépend de sa sensibilité. Cette technique est aujourd'hui davantage utilisée en astronomie ou en ingénierie de composants optiques qu'en imagerie microscopique.

2.3 Analyseur à pyramide

Inventé par Ragazzoni en 1996, l'analyseur à pyramide a été développé pour répondre à des problématiques en astronomie [150] (comme l'analyseur de courbure ou le Shack-Hartmann). Son principe est illustré figure 4.4.

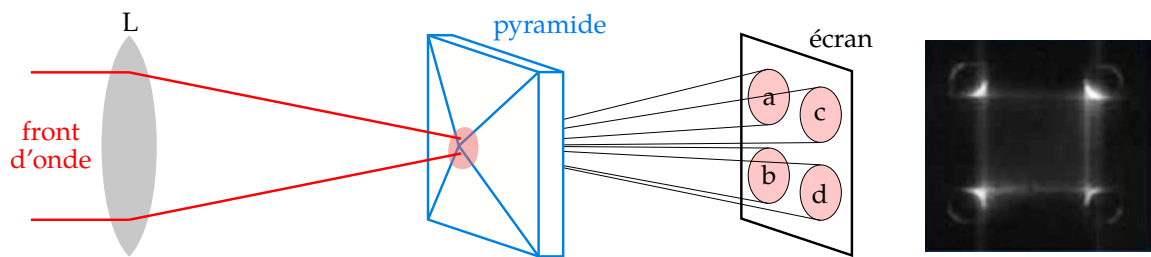


FIGURE 4.4 À gauche : schéma de principe de l'analyseur à pyramide. À droite : imagettes de l'atmosphère obtenue à l'aide d'un télescope [151].

Dans ce système, l'onde sortant de la lentille L du télescope traverse la pyramide qui sépare le faisceau en quatre, pour être enregistré en autant d'images sur un capteur. Les déformations locales du front d'onde suivant les axes orthogonaux x et y s'écrivent alors comme une combinaison linéaire des images obtenues :

$$S_x = \frac{(I_a + I_b) - (I_c + I_d)}{I_a + I_b + I_c + I_d} \quad \text{et} \quad S_y = \frac{(I_a + I_c) - (I_b + I_d)}{I_a + I_b + I_c + I_d}. \quad (4.2)$$

Là encore, chaque pixel de la caméra permettant d'enregistrer une information d'intensité, la résolution du système est plus importante que celle d'un masque de Hartmann.

2.4 Analyseur de Shack-Hartmann

En 1971, Shack propose un dérivé du masque de Hartmann [152]. Ce dispositif consiste en un analyseur de Hartmann auquel a été ajouté une matrice de micro-lentilles de focale commune f , comme montré figure 4.5. Cette matrice a pour but de faire converger la lumière sur le plan image commun des lentilles, fixant ainsi la position du plan d'observation, ce qui le rend non modulable en sensibilité, bien qu'elle soit élevée (jusqu'à $\lambda/200$ pour des systèmes commerciaux^f). Dans le cas d'une onde plane (en bleu sur le schéma), les lentilles focalisent les rayons sortant sur les pixels du capteur parallèlement à leur axe optique. Mais lorsqu'un front d'onde déformé est utilisé (rouge), la lumière renvoyée par les lentilles n'est pas focalisée au même endroit de la pupille d'analyse, indiquant une variation de la pente locale. Une intégration des images obtenues, associée à une correction des aberrations (par exemple à l'aide de polynômes de Zernike), permet de reconstruire la carte de phase correspondante.

Le principal inconvénient de ce système est sa résolution spatiale liée à la taille de la matrice de micro-lentilles, typiquement ne dépassant pas 128×128 lentilles^f, facteur limitant en imagerie microscopique. C'est pourquoi ce dispositif est principalement utilisé en optique adaptative [153] ou en ophtalmologie [154].

2.5 Analyseur interférométrique

Dans le cas du masque de Hartmann seul, la lumière incidente est diffractée par le motif (si les trous ont une taille proche de la longueur d'onde), divisant ainsi le front d'onde en plus petites entités. L'analyseur interférométrique utilise un tel masque, mais fait intervenir les ordres supérieurs de diffraction.

f. Imagine Optic, « HASO3 128 GE2 », <https://www.imagine-optic.com/product/haso3-128-ge2/>

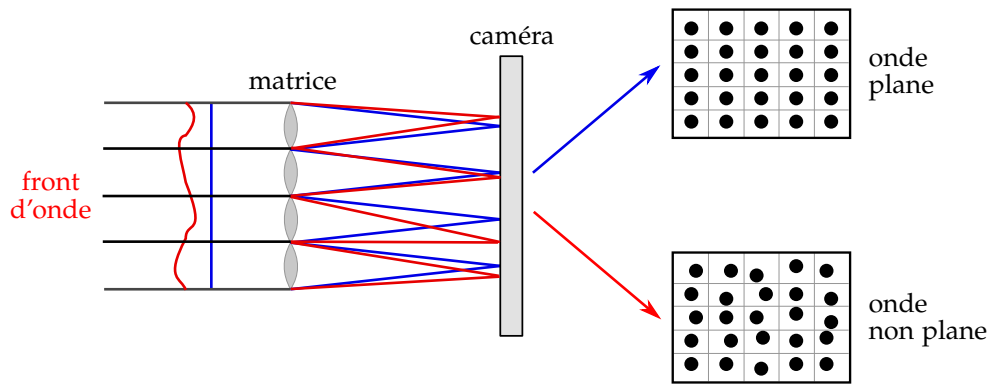


FIGURE 4.5 Schéma de principe de l'analyseur de Shack-Hartmann.

Pour un réseau de pas p et de taille de trous a , la transmittance à une dimension en sortie du réseau s'écrit mathématiquement [155] :

$$t(x) = \Pi_a(x) * \text{III}_d(x) , \quad (4.3)$$

où Π_a est la fonction porte, égale à 1 entre $-a/2$ et $a/2$, 0 ailleurs, III_d est le peigne de Dirac de pas d et $*$ le produit de convolution. La fonction de transfert du système s'écrit alors :

$$\mathcal{F}\{t\}(v) = \text{sinc}(\pi va) \cdot \text{III}_{1/d}(v) , \quad (4.4)$$

où sinc désigne le sinus cardinal. D'après l'équation (4.4) nous avons donc en sortie du réseau principalement un ordre central 0 et deux ordres voisins -1 et +1 (figure 4.6(a)). Pour pouvoir analyser les variations locales du front d'onde, contrairement au masque de Hartmann simple, on fait interférer les ordres de diffraction voisins. Par exemple, les ordres -1 et 0 interfèrent d'une part, et 0 et +1 d'autre part, comme indiqué sur la figure 4.6(b).

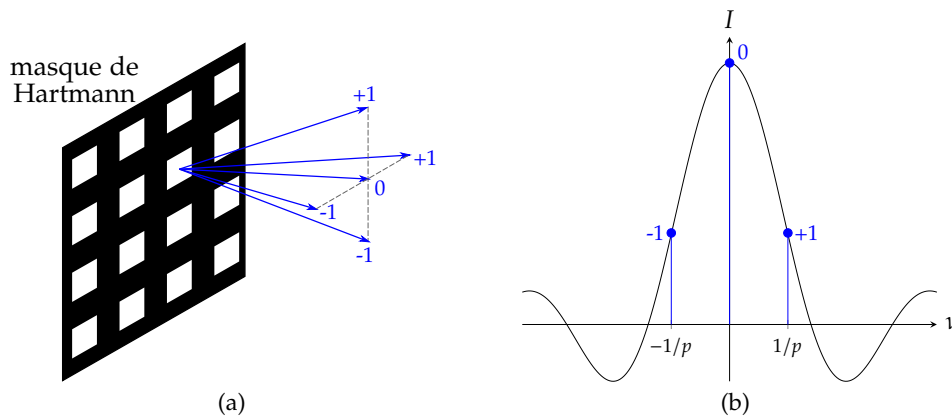


FIGURE 4.6 (a) L'analyseur interférométrique diffracte l'onde incidente suivant principalement trois ordres. (b) Graphe représentant la dispersion des ordres.

Ainsi, le système est autoréférencé, et une démodulation des franges d'interférence permet de retrouver la carte de phase. Les inconvénients de ce dispositif sont multiples : tout d'abord, étant donné l'écartement important entre les ordres -1 et +1, ils ne peuvent interférer, limitant alors le système à un mélange à deux ondes. De plus, la perte en énergie due à la diffraction sur les trois ordres principaux induit une forte diminution des franges d'interférence à l'enregistrement.

3 Interférométrie à décalage multilatéral à quatre ondes

Afin de simplifier l'obtention de la carte de phase du MTD, je me suis intéressé à un autre type d'analyseur de front d'onde, basé sur l'analyseur interférométrique. Il s'agit de l'interféromètre à décalage multilatéral à quatre ondes (*quadri-wave lateral shearing interferometer, QWLSI*), principalement développé et commercialisé par l'entreprise française Phasics®, ayant fait l'objet de plusieurs publications [155–159] ^g. Dans la suite du manuscrit, j'explique le fonctionnement et l'utilisation de l'analyseur de front d'onde SID4Bio.

3.1 Obtention des interférences

Nous avons vu dans la partie précédente qu'il était possible d'obtenir des franges d'interférence à l'aide de l'autoréférence du faisceau incident grâce à un mélange à deux ondes. Au système précédent, Primot et Guérineau [155] ont proposé d'ajouter un masque de phase, représenté figure 4.7.

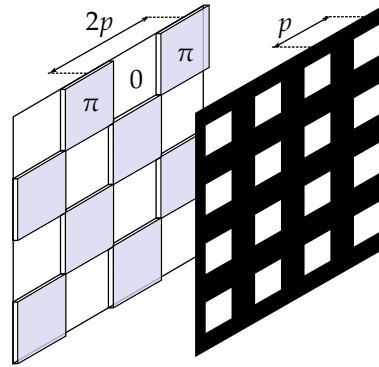


FIGURE 4.7 Ajout du masque de phase (de pas $2p$) au réseau carré à deux dimensions (de pas p).

L'ajout de ce masque a pour but d'introduire un déphasage de 0 ou π à la longueur d'onde centrale de la bande spectrale de l'onde incidente (dans le cas d'une lumière polychromatique). De cette manière, on définit une nouvelle transmittance prenant en compte ce déphasage :

$$t(x) = \Pi_a(x) * [\text{III}_d(x) \cdot \exp(2i\pi x/2p)] , \quad (4.5)$$

ce qui s'écrit dans l'espace de Fourier :

$$T(v) = \mathcal{F}\{t\}(v) = \text{sinc}_c(\pi va) \cdot [\text{III}_{1/d}(v) * \delta(v - 1/2p)] , \quad (4.6)$$

où $\delta(v)$ est la distribution de Dirac. Dans cet espace, l'onde est donc décalée d'un facteur $1/2d$, ce qui a pour conséquence de répartir l'énergie de l'onde diffractée principalement sur deux ordres (figure 4.8(a)), ce qui est un avantage par rapport au cas sans masque. En deux dimensions, ce sont quatre répliques du faisceau incident qui sont générées, notées $\mathbf{k}_{i,j}$ avec $i,j = \{-1,1\}$, chaque onde diffractée interférant alors avec ses voisines, comme illustré dans la zone commune grisée sur la figure 4.8(b).

En conclusion, en ajoutant un masque à deux dimensions, on obtient des interférences provenant d'un mélange à quatre ondes, dont l'énergie enregistrée est supérieure au cas sans masque. Notons que les systèmes d'interférométrie à décalage multilatéral à quatre ondes font toujours l'objet de

g. Phasics, <https://www.phasicscorp.com>

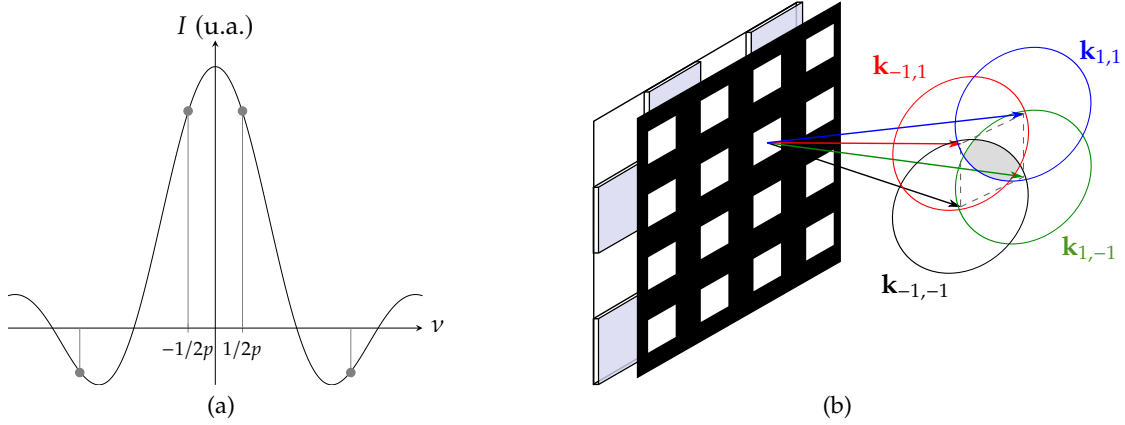


FIGURE 4.8 (a) Spectre à une dimension obtenu grâce à l'ajout du masque de phase. (b) Principe d'obtention des franges d'interférences (zone commune grisée) générées par les quatre ondes diffractées.

recherches : l'ensemble masque de phase – masque de Hartmann peut être par exemple remplacé par un SLM en réflexion (*spatial light modulator*) pour de l'imagerie profilométrique [160], ou bien par un réseau holographique dans un système en transmission pour l'étude d'écoulement de gaz [161].

3.2 Démodulation

En se plaçant dans l'approximation paraxiale, en négligeant la diffraction dans l'espace libre et en ne tenant compte que des deux premiers ordres de diffraction dans les deux directions orthogonales x et y , l'équation (4.5) de la transmittance en amplitude peut être réécrite en deux dimensions sous la forme :

$$t(x,y) = \cos\left(\frac{\pi x}{p}\right) \cos\left(\frac{\pi y}{p}\right), \quad (4.7)$$

d'où la transmittance en intensité :

$$\begin{aligned} T(x,y) &= |t(x,y)|^2 \\ &= \frac{1}{4} \left\{ 1 + \left[\cos\left(\frac{2\pi x}{p}\right) + \cos\left(\frac{2\pi y}{p}\right) \right] + \frac{1}{2} \left[\cos\left(\frac{2\pi}{p}(x+y)\right) + \cos\left(\frac{2\pi}{p}(x-y)\right) \right] \right\}. \end{aligned} \quad (4.8)$$

L'intensité de l'interférogramme en sortie de l'analyseur s'écrit donc d'après [158] :

$$\begin{aligned} I &= I_0 \left\{ 4 + 2 \cos\left(\frac{2\pi}{p}x + \frac{2\pi}{p} \frac{\partial \text{OPD}}{\partial x} z\right) + 2 \cos\left(\frac{2\pi}{p}y + \frac{2\pi}{p} \frac{\partial \text{OPD}}{\partial y} z\right) \right. \\ &\quad \left. + \cos\left(\frac{2\pi}{p}(x+y) + \frac{2\pi}{p} \frac{\partial \text{OPD}}{\partial(x+y)} z\right) + \cos\left(\frac{2\pi}{p}(x-y) + \frac{2\pi}{p} \frac{\partial \text{OPD}}{\partial(x-y)} z\right) \right\}, \end{aligned} \quad (4.9)$$

où z est la distance entre le réseau et la caméra, I_0 l'intensité maximale de l'interférogramme en $z = 0$ et OPD la différence de chemin optique (*optical path difference*) introduite par l'objet et définie par :

$$\text{OPD}(x,y) = \int_{\text{objet}} \Delta n(x,y,z) dz \quad (4.10)$$

avec $\Delta n(x,y,z)$ la différence d'indice en l'objet et le milieu d'immersion. Le rapport z/p de l'équation (4.9) détermine la sensibilité du système, modulable en ajustant le terme z . En sortie d'analyseur, les déformations locales δ sont proportionnelles au gradient de l'OPD, soit :

$$\delta = -z \cdot \nabla \text{OPD} , \quad (4.11)$$

ce qui correspond en réalité aux deux répliques orthogonales \tilde{H}_x et \tilde{H}_y observables dans l'espace de Fourier :

$$\begin{pmatrix} \tilde{H}_x \\ \tilde{H}_y \end{pmatrix} = \mathcal{F} \begin{pmatrix} H_x \\ H_y \end{pmatrix} = \frac{2\pi}{p} z \begin{pmatrix} \frac{\partial \text{OPD}}{\partial x} \\ \frac{\partial \text{OPD}}{\partial y} \end{pmatrix} . \quad (4.12)$$

Donc les déformations locales contenues dans l'interférogramme permettent d'obtenir la phase spatiale locale. Afin d'obtenir la carte de phase, une transformée de Fourier est effectuée dans les deux directions orthogonales, suivie d'une intégration (figure 4.9) [162,163]. L'intensité de l'image est, quant à elle, obtenue en filtrant l'ordre central à l'aide d'un filtre passe-bas dans l'espace de Fourier.

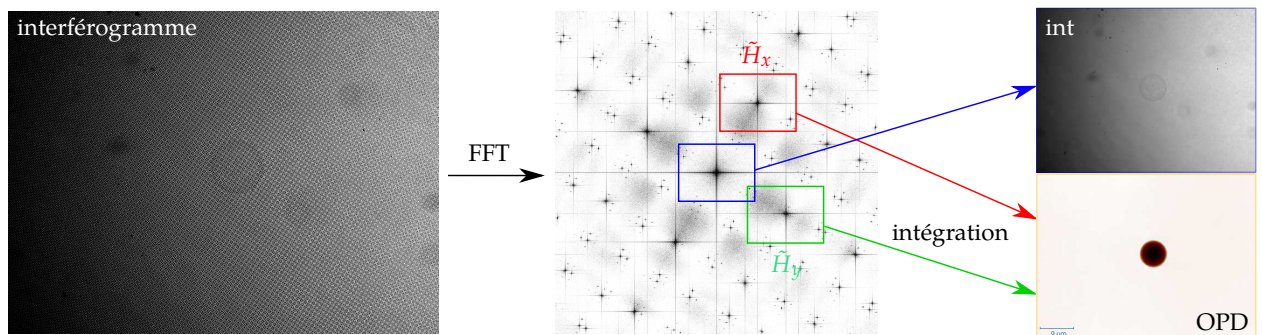


FIGURE 4.9 Principe de reconstruction des images du Phasics® SID4Bio. L'intensité est obtenue en appliquant un filtre passe-bas à l'ordre central tandis que la différence de chemin optique (OPD) est obtenue par intégration des composantes orthogonales. Notez la diminution de la taille de l'image finale due à la découpe dans l'espace de Fourier.

Il est important de remarquer la réduction de la taille de l'image finale. Partant d'un interférogramme en 1600×1200 pixels, le fait de découper les ordres de diffraction dans l'espace fréquentiel correspondant à H_x et H_y ne permet pas de dépasser une taille de 400×300 pixels, dû au pas double du masque de phase par rapport à celui du masque de Hartmann.

Finalement, l'obtention de la phase s'effectue en deux temps : la première mesure, réalisée sans échantillon, servira de référence de phase. La seconde mesure est réalisée avec l'échantillon. Une simple différence entre les deux images permet d'obtenir l'OPD introduite par le spécimen. Par conséquent, le dispositif est robuste aux vibrations sous réserve qu'il n'y ait pas de perturbation entre les deux mesures. Il faut aussi noter qu'à l'instar d'un microscope classique en transmission, un défaut de mise au point ne permet pas de collecter toutes les fréquences accessibles, et que la mesure de phase peut s'en trouver faussée.

4 Application expérimentale

4.1 Montage

Comme évoqué précédemment, la caméra CMOS est remplacée par l'analyseur de front d'onde, ici sur un montage de MTD en transmission, comme montré sur la figure 4.10.

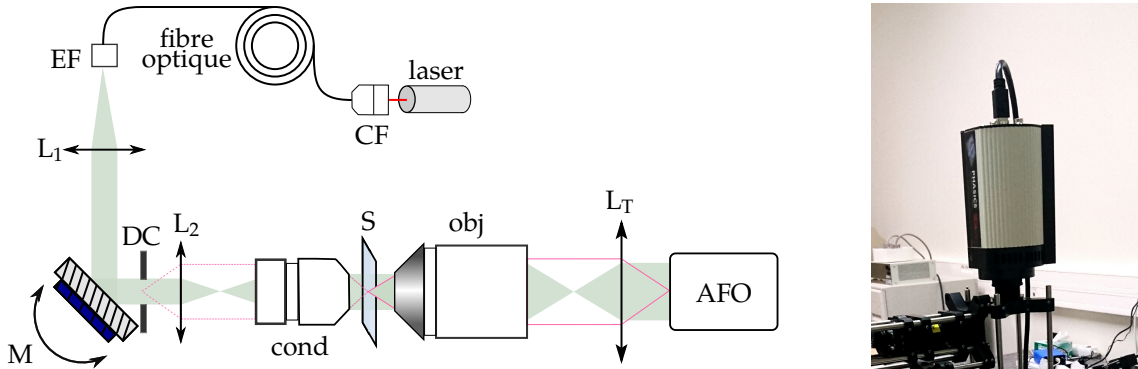


FIGURE 4.10 Montage de MTD (à gauche) avec analyseur de front d'onde Phasics® SID4Bio (à droite). CF : collimateur fibré. EF : extenseur de faisceau. L : lentilles. M : miroir tip/tilt. DC : diaphragme de champ. cond : condenseur. S : spécimen. obj : objectif.

L'analyseur est placé dans l'image du plan focal arrière de l'objectif. Le montage est alors simplifié puisque l'on supprime le bras de référence, le reste du montage étant identique au montage de MTD en transmission (cf. section 2.1). Les procédures d'acquisition tomographique des hologrammes et de reconstruction sont les mêmes qu'avec une caméra standard (cf. section 2.6). Cependant, étant donné que l'automatisation de la caméra n'est pas encore implémentée, à chaque angle d'illumination j'ai dû réaliser manuellement une acquisition.

4.2 Premiers résultats

Les reconstructions d'une bille polystyrène de $8\ \mu\text{m}$ de diamètre à l'aide de l'analyseur de front d'onde sont présentées figure 4.11. La figure 4.11(a) montre les résultats obtenus avec une seule vue (similaire à une reconstruction holographique) avec absorption en haut et indice de réfraction en bas, tous les deux normalisés. Bien que dans le plan $(x-y)$ la bille a la forme circulaire attendue, on remarque dans le plan $(x-z)$ une résolution quasi nulle due à l'absence de fréquences selon l'axe z en holographie (cf. partie 2.3).

La figure 4.11(b) montre quant à elle la reconstruction de la même bille en MTD avec rotation d'illumination avec 32 angles de vue. La première remarque que l'on peut faire est concernant la forme de la bille dans le plan $(x-z)$: contrairement à la reconstruction à une seule vue, on observe une nette amélioration de la résolution, ainsi que l'effet du *missing cone*, caractéristique de la tomographie en balayage d'illumination, comme expliqué dans la partie 2.3.1 de ce manuscrit. Aussi, les profils d'indice (en unité arbitraire) tracés figure 4.11(c) montrent des valeurs de diamètre proches de celles attendues, à la fois en holographie et en MTD. Pour ces mesures, j'ai appliqué une régression sur une gaussienne et mesuré le diamètre à la hauteur $1/e^2$. J'obtiens alors un diamètre de $7,7\ \mu\text{m}$ en holographie et $6,8\ \mu\text{m}$ en tomographie.

Cependant, la reconstruction en MTD montre un problème majeur : on remarque que la bille présente une absorption à la fois relativement forte par rapport au milieu d'immersion et une

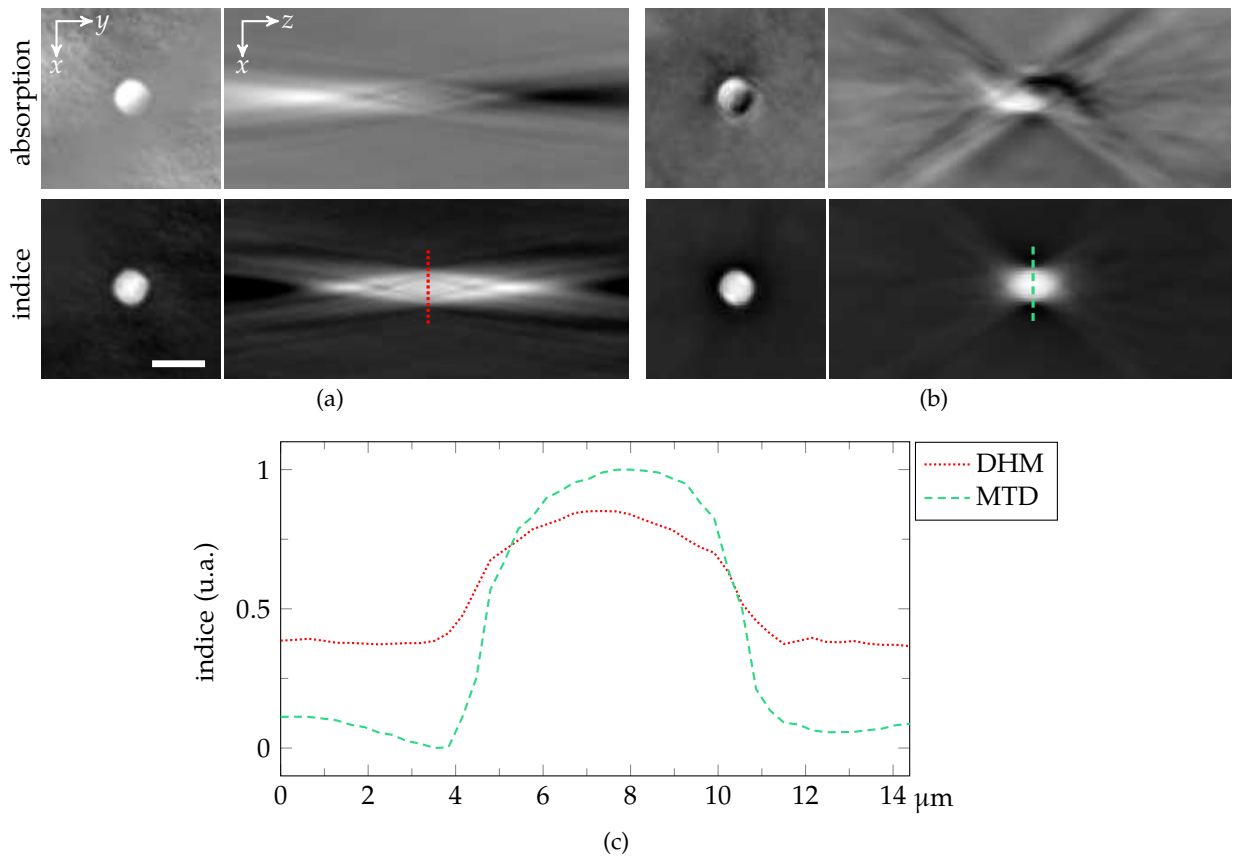


FIGURE 4.11 (a) Reconstruction holographique d’une bille de 8 μm de diamètre. (b) Reconstruction en MTD avec rotation d’illumination. (c) Profils d’indice normalisé correspondant. Barre d’échelle : 10 μm .

dissymétrie, très visible dans le plan ($x-z$). Ceci peut provenir du recalage des spectres dû au balayage d’illumination non centré, pouvant s’expliquer par le plan de détection de la caméra qui n’est pas exactement perpendiculaire à l’axe optique. Il peut aussi provenir des approximations lors du recalage des spectres : l’analyseur de front d’onde étant autoréférencé, il m’a été impossible de retrouver expérimentalement la position des spéculaires, et donc des portions de sphère d’Ewald correspondantes. Le seul moyen de repositionner les fréquences a été d’utiliser les tensions appliquées au miroir, calibré avant l’acquisition. Une solution possible à ce problème serait de déterminer cette position à l’aide d’une minimisation de critère par exemple [164].

Par ailleurs, ayant dû réaliser les acquisitions manuellement, j’ai choisi de limiter l’acquisition à 32 angles d’illumination. Bien que les résultats montrent une reconstruction de meilleure qualité, le peu d’angles utilisés impliquent un mauvais remplissage de l’espace de Fourier, pouvant expliquer la dissymétrie de l’absorption. Un approfondissement des méthodes d’acquisition et de reconstruction est donc à envisager pour les travaux futurs, comme il a déjà été fait en réflexion [165].

4.3 Conclusion

Dans ce chapitre, j’ai introduit les principaux analyseurs de front d’onde existant, en mettant en avant leurs avantages et inconvénients. Dans le cas de l’analyseur à décalage multilatéral, l’avantage réside dans l’utilisation d’un réseau de Hartmann, associé à un masque de phase,

permettant de générer des interférences à quatre ondes. Ainsi, son implémentation dans un dispositif de MTD permet de s'affranchir du bras de référence et d'alléger le montage, tout en augmentant la stabilité aux vibrations et en maintenant une sensibilité nanométrique. Grâce à des reconstructions de bille, j'ai pu montrer la faisabilité de la méthode proposée, que ce soit en holographie ou en tomographie.

Des corrections sont cependant à apporter, notamment concernant le centrage des spéculaires et la symétrie du balayage, déjà évoqué précédemment. De plus, l'acquisition des hologrammes ayant été réalisée manuellement, une amélioration permettant d'accélérer ce processus serait de synchroniser numériquement le balayage d'illumination avec l'enregistrement des interférogrammes. Ces travaux préliminaires permettent aussi d'envisager d'autres possibilités d'acquisition tomographique comme la rotation de spécimen, seule ou en combinaison de la rotation d'illumination [26].

Références

- [146] D. Podanchuk, A. Kovalenko, V. Kurashov, M. Kotov, A. Goloborodko et V. Danko, « Bottlenecks of the wavefront sensor based on the Talbot effect », *Applied Optics* **53**(10), p. B223–B230, 2014.
- [147] F. Roddier, « Curvature sensing and compensation: a new concept in adaptive optics », *Applied Optics* **27**(7), p. 1223, 1988.
- [148] A. D. Fisher et C. Warde, « Technique for real-time high-resolution adaptive phase compensation », *Optics Letters* **8**(7), p. 353–355, 1983.
- [149] O. Guyon, « High Sensitivity Wavefront Sensing with a Nonlinear Curvature Wavefront Sensor », *Publications of the Astronomical Society of the Pacific* **122**(887), p. 49–62, 2010.
- [150] R. Ragazzoni, « Pupil plane wavefront sensing with an oscillating prism », *Journal of Modern Optics* **43**(2), p. 289–293, 1996.
- [151] K. El Hadi, M. Vignaux et T. Fusco, « Development of a Pyramid Wave-front Sensor », dans *Proceedings of the Third AO4ELT Conference*, p. 99, Florence, 2013.
- [152] R. V. Shack, « Production and use of a lenticular hartmann screen », *Journal of the Optical Society of America* **20**(61), p. 656–660, 1971.
- [153] F. Rigaut, B. L. Ellerbroek et M. J. Northcott, « Comparison of curvature-based and Shack-Hartmann-based adaptive optics for the Gemini telescope », *Applied Optics* **36**(13), p. 2856–2868, 1997.
- [154] E. Moreno-Barriuso et R. Navarro, « Laser Ray Tracing versus Hartmann-Shack sensor for measuring optical aberrations in the human eye », *Journal of the Optical Society of America A* **17**(6), p. 974–985, 2000.
- [155] J. Primot et N. Guérineau, « Extended Hartmann Test Based on the Pseudoguiding Property of a Hartmann Mask Completed by a Phase Chessboard », *Applied Optics* **39**(31), p. 5715–5720, 2000.
- [156] J.-C. F. Chanteloup et M. Cohen, « Compact high resolution four wave lateral shearing interferometer », dans *Optical Fabrication, Testing, and Metrology*, tome 5252, p. 282, St. Etienne, France, 2004.
- [157] J.-C. Chanteloup, « Multiple-wave lateral shearing interferometry for wave-front sensing », *Applied Optics* **44**(9), p. 1559–1571, 2005.

- [158] S. Velghe, J. Primot, N. Guérineau, R. Haïdar, S. Demoustier, M. Cohen et B. Wattellier, « Advanced wave-front sensing by quadri-wave lateral shearing interferometry », dans *Interferometry XIII: Techniques and Analysis*, tome 6292, SPIE, San Diego, 2006.
- [159] P. Bon, G. Maucort, B. Wattellier et S. Monneret, « Quadriwave lateral shearing interferometry for quantitative phase microscopy of living cells », *Optics Express* **17**(15), p. 13 080–13 094, 2009.
- [160] P. Picart et M. Malek, « Complex field recovering from in-line digital holography », *Optics Letters* **38**(17), p. 3230–3232, 2013.
- [161] J.-M. Desse, P. Picart et F. Olchewsky, « Quantitative phase imaging in flows with high resolution holographic diffraction grating », *Optics Express* **23**(18), p. 23 726–23 737, 2015.
- [162] V. V. Volkov et Y. Zhu, « Deterministic phase unwrapping in the presence of noise », *Optics Letters* **28**(22), p. 2156–2158, 2003.
- [163] P. Bon, S. Monneret et B. Wattellier, « Noniterative boundary-artifact-free wavefront reconstruction from its derivatives », *Applied Optics* **51**(23), p. 5698–5704, 2012.
- [164] S. Li, Y. Zhao et Y. Ye, « Self-calibrated and SNR-enhanced particle holography », *Journal of the Optical Society of America A* **36**(8), p. 1395–1401, 2019.
- [165] Y. Ruan, P. Bon, E. Mudry, G. Maire, P. C. Chaumet, H. Giovannini, K. Belkebir, A. Talneau, B. Wattellier, S. Monneret et A. Sentenac, « Tomographic diffractive microscopy with a wavefront sensor », *Optics Letters* **37**(10), p. 1631–1633, 2012.

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

LA microscopie tomographique diffractive étant un outil important dans l'observation de spécimens non marqués, il est essentiel de proposer des solutions afin de simplifier son fonctionnement, tant à l'acquisition des données qu'à la reconstruction des images.

Après avoir fait un état de l'art de l'holographie et de la tomographie diffractive, et en ayant rappelé certaines limitations, j'ai tout d'abord proposé une première simplification du MTD, basée sur une rotation numérique des données, appliquée à des échantillons axisymétriques. Pour cela, une première acquisition, holographique ou tomographique, est nécessaire, permettant d'obtenir une partie des fréquences spatiales présentes dans l'objet. Grâce à la symétrie de ce dernier, la rotation des données permet un remplissage plus important de l'espace de Fourier et une amélioration de la qualité des reconstructions. Ce chapitre a fait l'objet d'une publication, consultable en annexes [114].

Dans ce troisième chapitre, j'ai proposé deux améliorations : la première consiste à travailler avec des échantillons non absorbants. Pour de tels objets, j'ai appliqué la symétrie hermitienne au spectre, et démontré à l'aide de simulations et de données expérimentales la validité de la méthode. Combinée à une rotation azimutale de l'illumination, cette propriété permet en outre de réduire de manière significative les temps d'acquisition.

Une seconde amélioration proposée est la MTD assistée par miroir. Partant des travaux de Mudry *et al.*, j'ai simplifié ce problème en me limitant aux échantillons faiblement rétro-diffractant. Là encore, en combinant cette propriété à une rotation azimutale de l'illumination, il est possible de limiter les temps d'acquisition grâce à l'effet miroir d'un dépôt réfléchissant à la surface d'une lame de microscope. J'ai proposé une méthode de démodulation, uniquement basée sur des transformées de Fourier, permettant de séparer parties réelle et imaginaire du spécimen tout en « annulant » l'effet miroir. Cependant, la technique de reconstruction reste à améliorer, par exemple en tenant compte des effets de polarisation et de focalisation. J'ai ainsi proposé un dispositif polyvalent, basé sur un montage en réflexion, et permettant d'obtenir des images à la fois en transmission et en réflexion, à la manière d'un microscope 4π . Bien entendu, de nombreuses perspectives sont à prévoir.

Tout d'abord, la question de l'épaisseur optimale de polymère se pose : en effet, suivant la taille du spécimen observé, cette épaisseur ne doit ni être trop fine afin de bien séparer l'objet de sa

réplique, ni trop épaisse, sinon l'échantillon est rejeté en dehors du champ observable.

De plus, dans cette expérience, j'ai fait l'hypothèse simplificatrice de l'étude des champs purement scalaires. Or, une réflexion sur un matériau implique inévitablement des effets de polarisation dont il faudrait tenir compte. C'est d'ailleurs le cas dans les travaux de Mudry *et al.*, où seule la polarisation *s* avait été prise en compte.

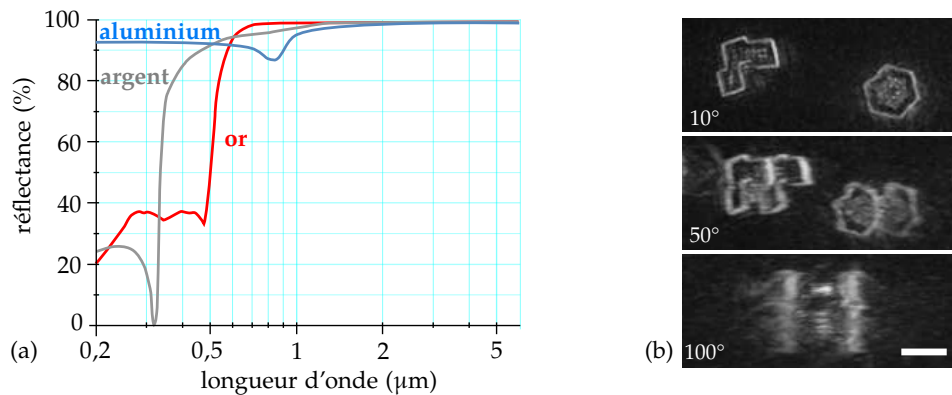


FIGURE 5.1 (a) Graphique de réflectance des éléments or et argent en fonction de la longueur d'onde [166].
(b) Images de microcristaux en MTD assistée par miroir.

De ce fait, se pose aussi la question de la réflectance du matériau choisi pour le miroir. En effet, en regardant la figure 5.1(a), on remarque que la réflectance est beaucoup plus faible pour l'or à la longueur d'onde d'illumination de notre source (moins de 70 % à 532 nm), alors qu'elle est au-delà de 90 % pour l'argent et l'aluminium [166]. C'est d'ailleurs un dépôt d'argent qui avait été utilisé par Hui Liu, lui permettant d'obtenir un effet miroir ainsi qu'un contraste plus prononcés sur des images de microcristaux (figure 5.1(b)) [83]. Inversement, au lieu de changer le miroir, il est plus simple d'utiliser une autre longueur d'onde d'illumination, comme un laser rouge à 633 nm ; le miroir d'or pourrait alors être utilisé.

De plus, nous avons pu observer un effet de lentille dans la figure 3.23. Cet effet est dû à l'objet que l'on souhaite imager. En utilisant une bille, nous avons créé un système focalisant les rayons incidents en un point, brisant ainsi la planéité de l'onde d'illumination (figure 5.2). Sur le capteur on obtient donc une image déformée de la bille.

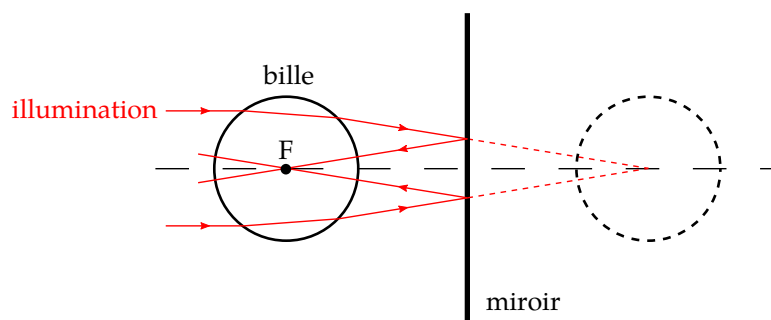


FIGURE 5.2 Effet de lentille dû à la symétrie de la bille. Les rayons traversant la bille sont focalisés autour du point F.

Par conséquent, une bille n'est pas un objet facilement reconstructible dans ce dispositif : il est nécessaire d'apporter des corrections numériques permettant de compenser cet effet [167]. Par ailleurs, la localisation du meilleur plan pour réaliser l'acquisition pourrait se faire numériquement : à partir d'une reconstruction à une distance focale donnée, une propagation de

l'hologramme suivant l'axe optique permettrait de trouver la distance optimale afin d'obtenir le meilleur contraste pour l'objet et sa réplique [168].

Finalement, la dernière amélioration que j'ai proposée durant ma thèse est la simplification du dispositif en utilisant un analyseur de front d'onde à la place de la caméra standard, permettant d'enregistrer simultanément l'amplitude et la phase de l'onde. Malgré les problèmes de recalage des spéculaires, les expériences ont montré la faisabilité et l'avantage d'un tel système, notamment sa robustesse au bruit et sa faible sensibilité aux vibrations due au chemin commun entre illumination et référence. En plus de la partie enregistrement, il peut aussi être intéressant de travailler sur la partie illumination. Je propose ainsi de remplacer l'ensemble laser-miroir de balayage par une matrice de LED. Ainsi, l'activation successive des LED permet de générer automatiquement les différents angles d'illumination. Son utilisation facilite aussi la mesure de position des spéculaires, directement liée à celle des LED sur la matrice.

L'utilisation des matrices de LED a déjà été proposée en ptychographie [169, 170] et en microscopie de phase [171] notamment. Le laboratoire a récemment fait l'acquisition de la matrice de LED μ Light développée par Leida Technologies® (France). Il s'agit d'un anneau de LED RGB pilotable électroniquement grâce à un boîtier de commande externe, via un ordinateur. Avec ce type d'illumination, contrairement au système laser-miroir, la position des calottes de sphère dans l'espace de Fourier 3D n'est pas donnée par celle des spéculaires à cause de l'analyseur de front d'onde, démodulant lui-même les interférences (cf. section 3.2). Malgré la faible cohérence spatio-temporelle intrinsèque à ce genre d'illumination, il est important de noter qu'elle ont des effets négligeables sur les mesures de phase, spécifiquement avec cet analyseur de front d'onde, que ce soit spatialement [159] ou temporellement [155].

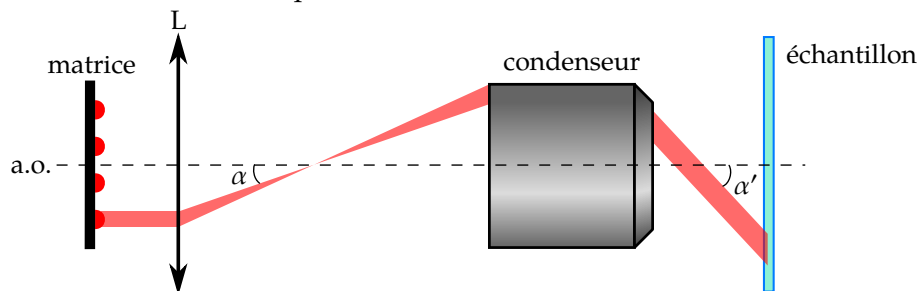


FIGURE 5.3 Géométrie représentative du lien entre l'angle d'arrivée α et de sortie α' du condensateur (a.o. : axe optique).

Bien que la matrice de LED soit en deux dimensions, nous pouvons retrouver la position angulaire des points sources dans le plan $(x-y)$ facilement grâce à un facteur d'échelle reliant l'angle d'entrée α et celui en sortie du condensateur α' (figure 5.3). Nous utilisons la relation (1.47) vue précédemment pour finalement calculer la fréquence axiale w et pouvoir ainsi placer le spectre dans la troisième dimension de l'espace de Fourier.

Une alternative à l'anneau de LED consiste à utiliser un dôme de LED, comme ont pu le faire Phillips *et al.* [172] et Alotaibi *et al.* [173]. Ceci permet de retrouver facilement la position en w des calottes des sphère dans l'espace de Fourier, limitant les calculs de positionnement au seul facteur d'échelle reliant α et α' . Le but de l'utilisation d'une matrice de LED combinée à l'analyseur de front d'onde est de les implémenter sur un bâti de microscope. Le montage de ces éléments sur un bâti de microscope commercial permettrait de proposer *in fine* un dispositif stable et simple d'utilisation afin d'automatiser certaines tâches quotidiennes de mesure et d'analyse quantitatives

d'objets non marqués, par exemple en biologie pour des spécimens vivants.

D'autres perspectives sont envisageables. Le MTD a pour but de reconstruire l'indice complexe du spécimen étudié, qui varie selon la longueur d'onde, et tout particulièrement en absorption. Une amélioration possible permettant de distinguer les échantillons vis à vis de cette grandeur serait de réaliser des acquisitions multispectrales voire hyperspectrales. Dans la littérature, nombre d'expériences sont réalisées aux longueurs d'onde 405, 450, 532 et 633 nm, mais aucune ne propose de MTD en transmission avec variation de longueur d'onde. Ainsi, l'utilisation d'un dispositif RVB (405-532-633 nm) est envisagée. Par ailleurs, l'utilisation d'une source blanche laser, permettant d'obtenir un microscope hyperspectral, peut être une solution envisageable [174, 175].

D'autre part, une autre amélioration du MTD en transmission peut être développée : la tomographie en polarisation. Des travaux précédents dans un dispositif en réflexion ont déjà été réalisés et sont encourageants. Contrairement au MTD multispectral, cette modalité d'imagerie nécessite le développement d'un système de détection haute sensibilité afin de mesurer les termes de polarisation croisée de faible intensité (illumination P/détection S et illumination S/détection P), en comparaison des termes PP et SS de forte intensité. Un MTD polarisé est indispensable pour pouvoir étudier des matériaux biréfringents comme des cristaux, mais aussi des organismes biologiques à base de fibres de collagène, d'actine ou de tubuline ainsi que des structures plus spécifiques (quasi-périodiques par exemple), induisant des effets de polarisation partielle.

Nous avons vu que le MTD pouvait être agencé en transmission ou en réflexion. En 2012, Hui Liu avait mis en place durant sa thèse un dispositif de profilométrie multi-angle, qui avait permis de déterminer la hauteur et la rugosité de plots de dimension latérale micrométrique et d'environ 100 nm de hauteur [22]. Il s'agit d'une méthode numérique basée sur des reconstruction d'indice complexe en réflexion avec deux longueurs d'onde distinctes, et d'en déduire la hauteur des objets étudiés grâce à une longueur d'onde synthétique calculée. Une perspective au MTD serait donc de continuer ces travaux.

En 1991, Wombell et DeSanto [176] ont proposé une méthode de reconstruction d'une surface rugueuse à une dimension à partir du champ diffracté par cette surface. Grâce à une collaboration avec Samya Ayadi, du laboratoire d'électronique quantique d'Alger, l'extension de la théorie à une surface à deux dimensions a pu être développée. Un schéma du problème est présenté figure 5.4.

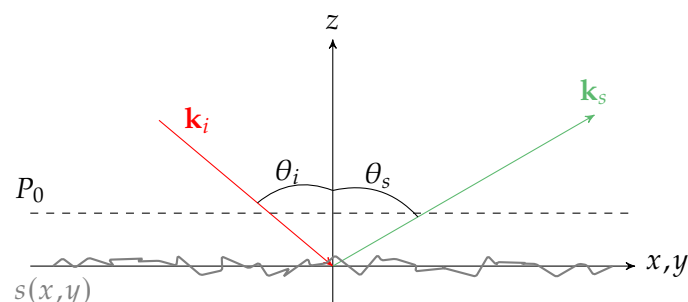


FIGURE 5.4 Schéma simplifié de la réflexion d'un faisceau incident par une surface rugueuse.

Soit une onde incidente définie par son vecteur d'onde \mathbf{k}_i , faisant un angle θ_i avec la normale à la surface, réfléchi en une onde définie par son vecteur \mathbf{k}_s faisant un angle θ_s avec la normale. Dans l'approximation de Kirchhoff, c'est-à-dire à un point d'observation P_0 éloigné de la surface

$s(x,y)$, l'amplitude du spectre de l'onde diffractée s'écrit :

$$F_K(\alpha,\mu) = -\frac{p^2 + q^2}{q} D(\theta_i, \theta_s) , \quad (5.1)$$

où $k = 2\pi/\lambda$ est le nombre d'onde incident et :

$$\alpha = \sin \theta_i \quad \mu = \sin \theta_s \quad (5.2)$$

$$p = \sin \theta_s \cos \phi_s - \sin \theta_i \cos \phi_i \quad (5.3)$$

$$q = \cos \theta_s + \cos \theta_i . \quad (5.4)$$

$D(\theta_i, \theta_s)$ est le champ complexe mesuré défini par :

$$D(\theta_i, \theta_s) = \int_{\mathbb{R}} \exp(-ikxp) \exp(-iks(x,y)q) dx . \quad (5.5)$$

C'est à partir de l'équation (5.1) que nous devons reconstruire le profil $s(x,y)$. En jouant sur θ_i et θ_s nous changeons p et q . Cependant, si nous pouvons modifier ces angles de manière à faire varier p en ayant q constant, alors D correspond à une transformée de Fourier entre les données à l'angle (θ_i, θ_s) et l'exponentielle contenant le terme de surface $s(x,y)$. En effet, d'après (5.5), si q est constant alors :

$$D(\theta_i, \theta_s) = \int_{\mathbb{R}} S_q(x,y) \exp(-ikpx) dx \quad \text{avec} \quad S_q(x,y) = \exp(-ikqs(x,y)) , \quad (5.6)$$

soit :

$$D(\theta_i, \theta_s) = \mathcal{F}\{S_q(x,y)\} \Rightarrow S_q(x,y) = \mathcal{F}^{-1}\{D(\theta_i, \theta_s)\} . \quad (5.7)$$

Grâce à l'équation (5.6), nous pouvons en déduire la reconstruction de la surface :

$$s_q(x,y) = \frac{1}{kq} \arctan\left(\frac{-\text{Im}\{S_q(x,y)\}}{\text{Re}\{S_q(x,y)\}}\right) \quad \text{avec} \quad q = \text{cste} . \quad (5.8)$$

Nous savons qu'en tomographie diffractive, pour une onde incidente à l'angle θ_i , il existe une infinité d'ondes diffractées, c'est-à-dire une multitude de θ_s . Par conséquent, la condition $q = \text{cste}$ équivaut à venir découper en tranches l'OTF obtenue en MTD en réflexion perpendiculairement à l'axe optique (figure 5.5(a)), après rétropropagation sur les calottes de sphère. Ensuite, sur chaque plan q_i est appliquée une FFT inverse à deux dimensions. La surface reconstruite finale est alors calculée à partir de toutes les images intermédiaires d'après l'équation (5.8).

Les résultats préliminaires de reconstruction d'une mire USAF simulée sont présentés figure 5.5. L'image finale 5.5(c) a été obtenue à partir de la moyenne de tous les plans reconstruits après transformée de Fourier 2D inverse, et montre des résultats encourageants pour la suite des travaux. Comme attendu, on voit aussi une diminution de la résolution par rapport à l'image d'origine, provenant du support limité de l'OTF. Ce travail est à poursuivre, tant d'un point de vue quantitatif que de sa mise en place expérimentale sur le MTD.

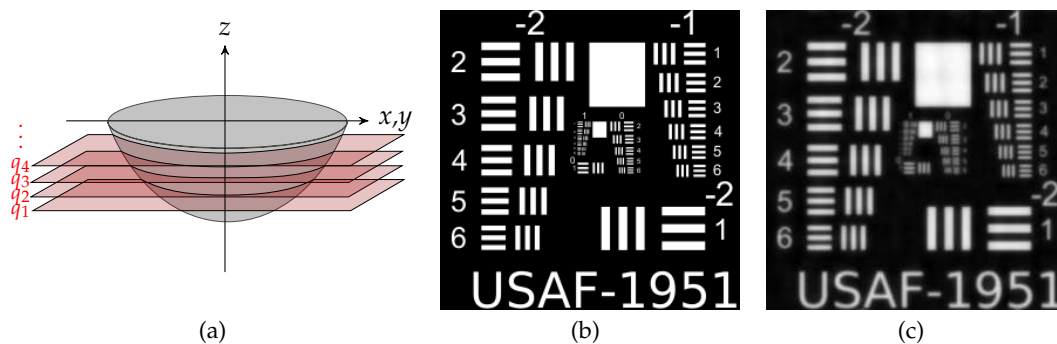


FIGURE 5.5 Reconstruction d'une mire USAF réfléchissante en profilométrie multiangle. (a) Après construction de l'OTE, elle est découpée en plans équidistants suivant l'axe optique, correspondant aux valeurs de q . (b) Simulation d'une mire USAF. (c) Reconstruction en profilométrie.

Références

- [166] E. Fearon, T. Sato, D. Wellburn, K. Watkins et G. Dearden, « Thermal effects of substrate materials used in the laser curing of particulate silver inks », *Laser Assisted Net Shape Engineering* 5, tome 5, p. 379–390, Meisenbach, Bamberg, 2007.
- [167] T. Colomb, F. Montfort, J. Kühn, N. Aspert, E. Cucho, A. Marian, F. Charrière, S. Bourquin, P. Marquet et C. Depeursinge, « Numerical parametric lens for shifting, magnification, and complete aberration compensation in digital holographic microscopy », *Journal of the Optical Society of America A* 23(12), p. 3177–3190, 2006.
- [168] N. Verrier et M. Atlan, « Off-axis digital hologram reconstruction : some practical considerations », *Applied Optics* 50(34), p. H136–H146, 2011.
- [169] L. Tian, X. Li, K. Ramchandran et L. Waller, « Multiplexed coded illumination for Fourier Ptychography with an LED array microscope », *Biomedical Optics Express* 5(7), p. 2376–2389, 2014.
- [170] R. Horstmeyer, J. Chung, X. Ou, G. Zheng et C. Yang, « Diffraction tomography with Fourier ptychography », *Optica* 3(8), p. 827–835, 2016.
- [171] J. Li, Q. Chen, J. Zhang, Y. Zhang, L. Lu et C. Zuo, « Efficient quantitative phase microscopy using programmable annular LED illumination », *Biomedical Optics Express* 8(10), p. 4687, 2017.
- [172] Z. F. Phillips, M. V. D'Ambrosio, L. Tian, J. J. Rulison, H. S. Patel, N. Sadras, A. V. Gande, N. A. Switz, D. A. Fletcher et L. Waller, « Multi-Contrast Imaging and Digital Refocusing on a Mobile Microscope with a Domed LED Array », *PLOS ONE* 10(5), p. e0124938, 2015.
- [173] M. Alotaibi, S. Skinner-Ramos, A. Alamri, B. Alharbi, M. Alfarraj et L. Grave de Peralta, « Illumination-direction multiplexing Fourier ptychographic microscopy using hemispherical digital condensers », *Applied Optics* 56(14), p. 4052–4057, 2017.
- [174] J. Jung, K. Kim, J. Yoon et Y. Park, « Hyperspectral optical diffraction tomography », *Optics Express* 24(3), p. 2006–2012, 2016.
- [175] Y. Sung, « Spectroscopic Microtomography in the Visible Wavelength Range », *Physical Review Applied* 10(5), p. 054041, 2018.
- [176] R. J. Wombell et J. A. DeSanto, « Reconstruction of rough-surface profiles with the Kirchhoff approximation », *Journal of the Optical Society of America A* 8(12), p. 1892–1897, 1991.

A Approximation de Rytov

Nous avons vu dans la partie 2.1 que la reconstruction était réalisée dans l'approximation de Born, c'est-à-dire en considérant l'amplitude de l'onde diffractée négligeable devant celle de l'onde incidente. Afin de se trouver dans l'approximation de Rytov, considérons maintenant l'onde incidente u_i et l'onde totale u_t comme des ondes de phase complexe φ_i et φ_t décrites par :

$$u_i(\mathbf{r}) = \exp(\varphi_i(\mathbf{r})) \quad \text{avec} \quad \varphi_i(\mathbf{r}) = \ln(a_i(\mathbf{r})) + i\phi_i(\mathbf{r}), \quad (5.9)$$

$$u_t(\mathbf{r}) = \exp(\varphi_t(\mathbf{r})) \quad \text{avec} \quad \varphi_t(\mathbf{r}) = \ln(a_t(\mathbf{r})) + i\phi_t(\mathbf{r}) = \varphi_i(\mathbf{r}) + \varphi_d(\mathbf{r}), \quad (5.10)$$

où (a_i, ϕ_i) et (a_t, ϕ_t) sont les amplitudes et phases des ondes respectivement incidente et diffractée mesurées après traversée de l'échantillon. L'onde répondant à l'équation de Helmholtz inhomogène (équation (1.23)), on obtient après simplification une équation différentielle en φ_t [177] :

$$\nabla^2 \varphi_t(\mathbf{r}) + (\nabla \varphi_t(\mathbf{r}))^2 + k_0^2 = O(\mathbf{r}). \quad (5.11)$$

De la même manière, l'onde incidente répond à l'équation de Helmholtz homogène (équation (1.20)) :

$$\nabla^2 \varphi_i(\mathbf{r}) + (\nabla \varphi_i(\mathbf{r}))^2 + k_0^2 = 0. \quad (5.12)$$

En injectant l'équation (5.12) dans (5.11) et après simplification, on obtient la relation suivante en fonction de la phase diffractée φ_d [178] :

$$(\nabla^2 + k_0^2)u_i(\mathbf{r}) \cdot \varphi_d(\mathbf{r}) = \left[(\nabla \varphi_d(\mathbf{r}))^2 + O(\mathbf{r}) \right] u_i(\mathbf{r}). \quad (5.13)$$

Dans l'approximation de Rytov, on considère le gradient de la phase négligeable devant le potentiel de diffusion, c'est-à-dire $\nabla \varphi_d(\mathbf{r}) \ll O(\mathbf{r})$, d'où :

$$(\nabla^2 + k_0^2)u_i(\mathbf{r}) \cdot \varphi_R(\mathbf{r}) = O(\mathbf{r})u_i(\mathbf{r}), \quad (5.14)$$

où φ_R est la phase sous la condition de Rytov. Comme dans l'approximation de Born, une solution particulière étant la fonction de Green, on obtient l'expression de la phase locale diffractée en fonction de l'amplitude du champ incident :

$$\varphi_R(\mathbf{r}) = \frac{\int O(\mathbf{r}')u_i(\mathbf{r}')G(\mathbf{r}-\mathbf{r}')d^3r'}{u_i(\mathbf{r})} = \frac{u_B(\mathbf{r})}{u_i(\mathbf{r})}, \quad (5.15)$$

où u_B est le champ de Born défini dans l'équation (1.34). À partir de cette relation et des équations (5.9) et (5.10), on en déduit l'expression du champ de Rytov :

$$u_R(\mathbf{r}) = u_t(\mathbf{r}) - u_i(\mathbf{r}) = \ln \left[\frac{a_t(\mathbf{r})}{a_i(\mathbf{r})} \right] + i(\phi_t(\mathbf{r}) - \phi_i(\mathbf{r})) . \quad (5.16)$$

Cette dernière équation met en avant l'un des problèmes sous-jacent à l'approximation de Rytov : puisque la différence de phase $\phi_t(\mathbf{r}) - \phi_i(\mathbf{r})$ est modulo 2π , il est nécessaire de faire appel à un algorithme de déroulement de phase lors de la reconstruction.

Nous avons vu que l'approximation de Rytov suppose que le gradient de la phase est négligeable devant le potentiel objet $\nabla\varphi_d(\mathbf{r}) \ll O(\mathbf{r})$, ce qui peut être réécrit en terme de gradient d'indice :

$$|\nabla n(\mathbf{r})| \ll \frac{\sqrt{2n_0|n(\mathbf{r}) - n_0|}}{D} , \quad (5.17)$$

avec $n(\mathbf{r})$ l'indice de réfraction de l'échantillon observé et D son épaisseur. Par conséquent, la seule restriction imposée par l'approximation de Rytov concerne le gradient d'indice de réfraction au sein de l'objet, beaucoup moins restrictive que celle de Born [108]. Une comparaison des deux approximations est présentée figure 5.6, où l'on remarque la limite de l'approximation de Born pour une bille de $10\ \mu\text{m}$ induisant une variation d'indice optique de 0,03 [179].

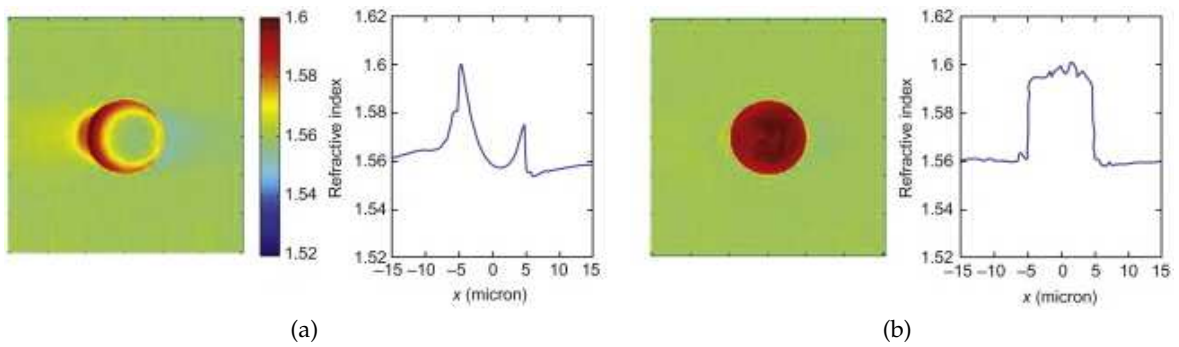


FIGURE 5.6 Comparaison des reconstructions d'une bille de $10\ \mu\text{m}$ avec les approximations (a) de Born et (b) de Rytov [179].

B Rétroprojection

En microscopie optique, la diffraction de la lumière par l'échantillon joue un rôle essentiel dans la qualité de la reconstruction des images. C'est pourquoi la méthode de rétropropagation du champ diffracté est utilisée dans ce type d'imagerie. Cependant, pour des objets bien plus grands que la longueur d'onde d'illumination, il n'est pas nécessaire de tenir compte du phénomène de diffraction (par exemple en imagerie médicale). On utilise alors une technique ne considérant que l'intensité mesurée : la rétroprojection. La figure 5.7 explique le principe.

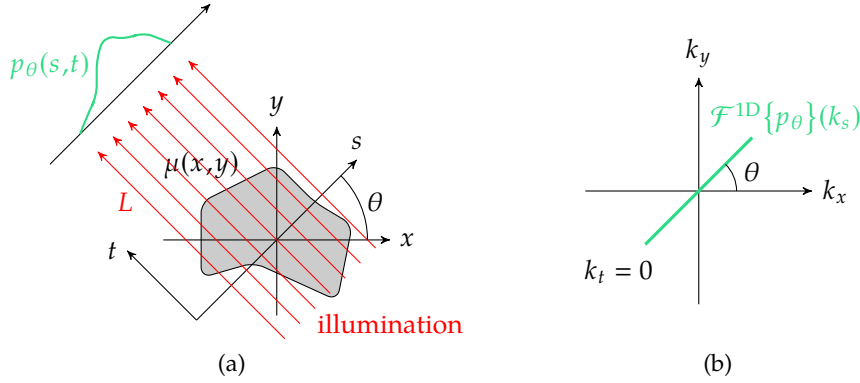


FIGURE 5.7 (a) Schéma de principe de la projection : p_θ correspond à la somme des intégrales en ligne suivant une orientation θ . (b) Pour chaque orientation, la transformée de Fourier est calculée et tournée de l'angle opposé.

Soit un objet défini par son coefficient d'atténuation $\mu(x,y)$. La projection $p_\theta(s,t)$ de l'objet sur le plan de mesure est l'intégrale en ligne du coefficient d'atténuation le long de la droite L , et s'écrit :

$$p_\theta(s,t) = \int_L \mu(x,y) dt \quad (5.18)$$

où θ est l'angle auquel la mesure du champ est réalisée. De manière triviale on détermine par projection que $s = x \cos \theta + y \sin \theta$ et on en déduit alors l'expression de l'intégrale en ligne à la coordonnée s en fonction de θ :

$$p_\theta(s,t) = \iint \mu(x,y) \delta(x \cos \theta + y \sin \theta - s) dx dy , \quad (5.19)$$

appelée transformée de Radon de μ . Une fois toutes des projections enregistrées, il faut pouvoir reconstruire l'objet à partir de cet ensemble de données. Pour cela, en supposant que l'information ait été enregistrée dans l'espace de Fourier, on définit l'objet par sa transformée de Fourier inverse :

$$\mu(x,y) = \frac{1}{2\pi} \iint \mathcal{F}^{2D}\{p_\theta\}(k_x,k_y) \exp[i(k_x x + k_y y)] dk_x dk_y . \quad (5.20)$$

Étant donné que les projections ont été enregistrées à différents positions et angles (s,θ) , il est préférable de transformer les coordonnées dans ce formalisme. Pour cela, on calcule le déterminant du Jacobien. D'après la figure 5.7(a), on trouve $k_x = k_s \cos \theta - k_t \sin \theta$ et $k_y = k_s \sin \theta + k_t \cos \theta$, d'où :

$$J(k_s,\theta) = \begin{vmatrix} \frac{\partial k_x}{\partial k_s} & \frac{\partial k_x}{\partial \theta} \\ \frac{\partial k_y}{\partial k_s} & \frac{\partial k_y}{\partial \theta} \end{vmatrix} = |k_s| . \quad (5.21)$$

Ainsi, l'intégrale en ligne étant constante par définition sur la droite D et qu'il s'agit d'un repère tournant, on peut imposer $k_t = 0$ (figure 5.7(b)). L'équation (5.20) devient alors [49,178] :

$$\mu(x,y) = \frac{1}{2\pi} \int_0^\pi \int_{\mathbb{R}} |k_s| \frac{\mathcal{F}^{1D}\{p_\theta\}(k_s)}{\sqrt{2\pi}} \exp[ik_s(x \cos \theta + y \sin \theta)] dk_s d\theta \quad (5.22)$$

Le terme $|k_s|$ correspond en fait à un filtrage de la transformée de Fourier de type passe-haut, d'où le nom complet de rétroprojection *filtrée*. En résumé, l'algorithme de rétroprojection peut être décomposé comme suit :

1. transformée de Fourier de la projection pour un angle θ ;
2. filtrage par $|k_s|$;
3. transformée de Fourier inverse ;
4. rotation de l'angle $-\theta$ inverse ;
5. somme sur la totalité des angles d'acquisition.

Des reconstructions du fantôme de Shepp-Logan en rétroprojection utilisant 50, 100 et 180 angles sont présentées figure 5.8.

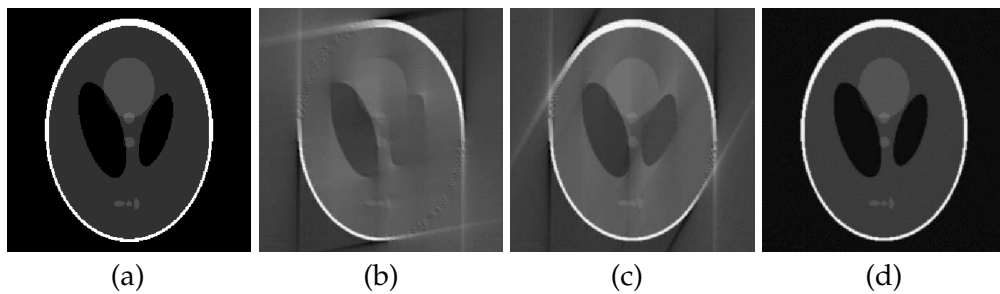


FIGURE 5.8 (a) Fantôme de Shepp-Logan. Rétroprojections avec (b) 50, (c) 100 et (d) 180 angles.

C Liste des publications

Publications dans des revues scientifiques à comité de lecture

- J. Bailleul, B. Simon, M. Debailleul, L. Foucault, N. Verrier et O. Haeberlé, « Tomographic diffractive microscopy : Towards high-resolution 3-D real-time data acquisition, image reconstruction and display of unlabeled samples », *Optics Communications* **422**, p. 28–37, 2018.
- L. Foucault, N. Verrier, M. Debailleul, B. Simon et O. Haeberlé, « Simplified tomographic diffractive microscopy for axisymmetric samples », *OSA Continuum* **2**(4), p. 1039–1055, 2019.
- L. Foucault, N. Verrier, M. Debailleul, J.-B. Courbot, B. Colicchio, B. Simon, L. Vonna et O. Haeberlé, « Versatile transmission/reflection tomographic diffractive microscopy approach », *Journal of the Optical Society of America A* **36**(11), p C18-C27, 2019.

Communications dans des congrès internationaux avec actes et comité de lecture

- L. Foucault, N. Verrier, M. Debailleul, B. Simon et O. Haeberlé, « Multiview profilometry from tomographic diffractive microscopy », poster, *Focus On Microscopy (Bordeaux)*, 2017.
- L. Foucault, N. Verrier, M. Debailleul, B. Simon et O. Haeberlé, « Simplified approach for tomographic diffractive microscopy of axisymmetric samples », *SPIE Photonics Europe (Strasbourg)*, 2018.
- L. Foucault, N. Verrier, M. Debailleul, B. Simon et O. Haeberlé, « A simplified approach for tomographic diffractive microscopy », *QCAV (Mulhouse)*, 2019.
- L. Foucault, N. Verrier, M. Debailleul, B. Simon et O. Haeberlé, « Simplified Reconstruction For Mirror-Assited Tomographic Diffractive Microscopy », *OSA Digital Holography and 3-D Imaging (Bordeaux)*, 2019.

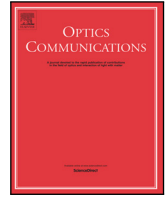
Communications dans des congrès nationaux avec actes et comité de lecture

- L. Foucault, S. Ayadi, M. Debailleul, B. Simon et O. Haeberlé, « De la microscopie tomographique diffractive à la profilométrie multivue », poster, *Journées d’Imagerie Optique Non Conventionnelle (Paris)*, 2017.
- L. Foucault, N. Verrier, M. Debailleul, B. Simon et O. Haeberlé, « Reconstruction de spécimens axisymétriques en microscopie tomographique diffractive », *Journées d’Imagerie Optique Non Conventionnelle (Paris)*, 2018.
- L. Foucault, N. Verrier, M. Debailleul, B. Simon et O. Haeberlé, « Reconstruction de spécimens axisymétriques en microscopie tomographique diffractive », *HoloPhi 5 (Montpellier)*, 2018.
- L. Foucault, N. Verrier, M. Debailleul, B. Simon et O. Haeberlé, « Microscopie tomographique diffractive assistée par miroir », *Journées d’Imagerie Optique Non Conventionnelle (Paris)*, 2019.



Contents lists available at ScienceDirect

Optics Communications

journal homepage: www.elsevier.com/locate/optcom

Tomographic diffractive microscopy: Towards high-resolution 3-D real-time data acquisition, image reconstruction and display of unlabeled samples



Jonathan Bailleul, Bertrand Simon, Matthieu Debailleul, Ludovic Foucault, Nicolas Verrier, Olivier Haeberlé *

Laboratoire Modélisation Intelligence Processus et Systèmes MIPS EA-2332, Université de Haute-Alsace, 61 rue Albert Camus 68093 Mulhouse Cedex, France

A B S T R A C T

Tomographic diffractive microscopy allows for imaging unlabeled specimens, with a better resolution than conventional microscopes, giving access to the index of refraction distribution within the specimen, and possibly at high speed. Principles of image formation and reconstruction are presented, and progresses towards real-time, three-dimensional acquisition, image reconstruction and final display, are discussed.

© 2017 Elsevier B.V. All rights reserved.

1. Introduction

In recent years, microscopy techniques permitting to observe unlabeled samples, thus avoiding specimen preparation, have known a regain of interest [1–4]. For imaging samples not producing auto-fluorescence, possible microscopy techniques fall into two categories. Those based on non-linear optics [5], like second or third harmonic generation (SHG, THG), coherent anti-Stokes Raman scattering (CARS) or stimulated Raman scattering (SRS) have the advantage of structural or of chemical specificity, but, using femtosecond lasers, these techniques have the drawback of being more complex and expensive than linear imaging techniques. Furthermore, they deliver chemical information about certain molecules, but not global biophysical information for 3-D imaging, such as tissue/cell density refractive index, dry mass or birefringence properties.

On the contrary, techniques, which allow for recording both the amplitude and phase of the light diffracted by the specimen (by use of digital holographic recording [6], wavefront sensors [7], light-field cameras [8], via numerical reconstruction from the transport of intensity equation [9], or by DIC microscopy integration [10]), have the advantage of being more cost-saving and easier to implement. Digital Holographic Microscopy (DHM), or wavefront sensors for example are now established techniques, even commercially available [11].

The main drawback of DHM is its poor resolution along the optical axis. While the *precision* of measurement of interferometric approaches is unsurpassed [12,13], the *resolution* when reconstructing 3-D transparent specimens is plagued by the small quantity of information, which is recorded, because of the use of only a single illumination direction [14]. In order to increase the recorded quantity of information, a rotation

of the specimen [15–22], or a variation of the illumination wave inclination [23–28] can be used, and the set of recorded interferograms represents a diffractive tomographic acquisition [29,30]. This allows for a numerical 3-D reconstruction of the observed specimen. Recently, effective combination of sample rotation with illumination wave inclination tomography, as proposed in Ref. [31] has been performed [32], demonstrating for the first time isotropic- and high-resolution imaging in a complete Ewald sphere acquisition configuration. These various approaches are known under several names: tomographic phase microscopy, synthetic aperture microscopy, optical diffraction tomography, digital holographic microscopy, scanning holography microscopy, tomographic diffractive microscopy.

TDM being a numerically-based imaging technique, which computes reconstructed images from several interferograms, a real-time display of the observed sample images is difficult to achieve. This may trigger unease of use, for example when performing microscope adjustments (even for such simple tasks as sample positioning), or when observing moving, leaving samples. Two bottlenecks arise: first, one must acquire and transfer to the computer enough interferograms to perform the reconstruction, then, the image reconstruction itself creates a supplemental delay before displaying the image.

In this work, we first briefly recall the theoretical basis of TDM. Then, we present new developments and perspectives for image computation, which should allow for real-time reconstructions and display, which, combined with fast acquisitions, could allow for high-speed, high-resolution, 3-D imaging, opening new perspectives for experimentalists working on living samples, or studying dynamic phenomena.

* Corresponding author.

E-mail address: olivier.haeberle@uha.fr (O. Haeberlé).

2. Basics of tomographic diffractive microscopy

Tomographic diffractive microscopy (TDM) is a numerical imaging technique, which therefore relies on inversion methods to reconstruct an image of the observed sample. We here only give the basic equations to explain the main steps of the sample reconstruction [33]. One starts from the Helmholtz equation in an inhomogeneous medium:

$$(\nabla^2 + k(\vec{r})^2) \psi(\vec{r}) = 0 \quad \text{with } k(\vec{r}) = 2\pi n(\vec{r})/\lambda \quad (1)$$

where n is the complex refractive index of refraction and λ is the wavelength in vacuum. Such an equation cannot be solved analytically in the general case, but can be simplified. The simplest approach applies for weakly diffractive specimens, considering that the first Born approximation is valid (which is often the case for transparent biological samples at the cellular level), so that the diffracted field amplitude is small compared to the incident field, so that the field inside the specimen can be approximated to the incident field. In that case, one shows that Eq. (1) can be rewritten as:

$$\psi_s(\vec{r}) = \int G(\vec{r} - \vec{r}') O(\vec{r}') \psi_i(\vec{r}') d\vec{r}' \quad (2)$$

with the Green function $G(\vec{r}) = \exp(jk_i |\vec{r}|) / (4\pi |\vec{r}|)$ and the object function $O(\vec{r}) = k_i^2 (n^2(\vec{r}) - n_0^2) / n_0^2$. Rewriting Eq. (2) in Fourier space, leads then to :

$$\widetilde{\psi}_s(\vec{k}_d) = \frac{1}{4\pi k_i} \delta(|\vec{k}_d| - |\vec{k}_i|) \widetilde{O}(\vec{k}_d - \vec{k}_i). \quad (3)$$

Eq. (3) links the object function's Fourier transform to the Fourier transform of the complex amplitude of the scattered field. So, under Born assumption, the diffracted field simply depicts a subset of the 3-D Fourier transform of the observed specimen permittivity distribution. The interested reader is referred for more details to classical textbooks on electromagnetism, for example Refs. [34,35]. More elaborated approaches have been developed (see e.g. Ref. [29] and references therein), when the sample under investigation is thicker, and/or presents stronger permittivity contrasts.

Taking into account the elasticity condition in linear optics one therefore has:

$$|\vec{k}_d| = |\vec{k}_i| \quad (4)$$

$$\vec{k}_o = \vec{k}_d - \vec{k}_i. \quad (5)$$

Eqs. (4) and (5) now explain the construction of the object frequency support, therefore the entire image reconstruction procedure. So, in Fourier space (see Fig. 1), the diffracted wave is represented by a set of wavevectors, which depict the so-called Ewald sphere, from Eq. (4) (a circle in 2-D, for the sake of simplicity). Because of the microscope objective's limited numerical aperture, the actually recorded wavevectors belong to a cap of sphere only. Then, considering elastic scattering Eq. (5), these diffracted wavevectors are translated, in order to represent the object wavevectors (Fig. 1(a)).

In digital holographic microscopy, one uses a single illumination, and one can therefore record only very limited information about the specimen. In practice, one obtains a good lateral resolution, but the longitudinal resolution within the specimen is very poor [14]. Such a configuration in fact corresponds to a transmission microscope, which condenser numerical aperture would be null, while the resolution in transmission microscopy is indeed related to both the objective numerical aperture NA_{obj} and the condenser numerical aperture NA_{cond} [36].

In order to take benefit of the condenser numerical aperture to improve the lateral and longitudinal resolution, TDM in transmission also uses tilted illumination (Fig. 1(b)). In that case, and under the same elastic scattering approach, one records a shifted, complementary subset of information. For a large number of successive illuminations, a numerical synthetic aperture approach permits to accumulate information in the Fourier space, and an enlarged and filled frequency support is

obtained (Fig. 1(c)). A final 3-D Fourier transform, from Eq. (3), permits to obtain the observed specimen reconstruction.

Fig. 1(d) depicts a sketch of the principles of a typical TDM setup, and a picture of the actual setup we developed, highlighting the specific elements to perform TDM. It is based on a classical Mach-Zehnder interferometer, with a coherence source (633 nm HeNe laser) being split into a reference beam, and an object beam, with the specific addition that a fast tip-tilt mirror (FSM 300 Newport) allows for precise controlling of the sample beam illumination angle, via a 60x NA=1.4 objective (Zeiss).

Object beam is collected by a 100x NA=1.4 objective (Olympus), and is recombined with reference beam before the camera (Photon-focus MV1-D1312(I/IE)-100-GB), visible on the upper-right corner of Fig. 1(d), in off-axis configuration (camera is running at 85 fps). Alternately, phase-shifting acquisition is also possible with an electro-optical modulator (Newport 4002, not represented here). The system is built using from-the-shelf prototyping opto-mechanical elements (Thorlabs), and installed onto an anti-vibration benchtop (Newport M-BT-2024-OPT02). A remotely controlled (Thorlabs MT1-Z8) $x - y$ sample holder allows for fine adjusting of the sample, z -focusing being performed manually. The use of two high-NA objectives, as condenser, and for detection, implies small working distances, so samples are prepared between two 170 μm -thick cover glass. A special sample stage has been designed to handle such fragile preparations (appears in gray between both objectives on picture 1(d)). The camera finally records three contributions, the reference beam, for holographic acquisitions, the beam diffracted by the sample, which carries information about it (the cap of sphere Eq. (4)), and the non-diffracted part of the illumination beam, which allows for precise repositioning of the sphere cap in Fourier space (Eq. (5)) [14].

The advantages of TDM, compared to classical transmission microscopy, are the following.

-A true 3-D imaging is possible for transparent samples, contrary to phase microscopy, which delivers surface reconstruction only, or integrated profiles.

-A better resolution is obtained, thanks to the use of coherent imaging, which permits to acquire specimen information, without the high frequency attenuation characteristic of the use of incoherent light. Note that the frequency support has the same shape than for a conventional transmission microscope, but thanks to the better frequency transmission, the lateral resolution can theoretically be doubled [25], in transmission [37,38], as well as in reflection [39,40]. In transmission, a resolution of 130 nm using a HeNe laser, or $\lambda/3.5NA$ has been obtained [37]. More recently, using a 405 nm source, Cotte et al. demonstrated a 90 nm resolution [41] (or $\lambda/3.2NA$), compared to $\lambda/2NA$ in incoherent microscopy (and considering that $NA_{\text{obj}} = NA_{\text{cond}}$).

-TDM and its variants give access to the index of refraction distribution within the observed specimen, at the microscopic scale, and the interest of this non-labeling imaging modality has been widely demonstrated for biological investigations as well as for studying artificial structures [15–28,32,37,38,41–45]. Note that the index of refraction is a complex quantity, related to the refraction and to the absorption. This dual imaging capability has not yet found applications for biological studies, but could used to distinguish organelles from their refraction/absorption properties [14,25,26,32,37,38,46,47], and not from their refraction only, as usually performed.

Fig. 2 shows a *Betula pendula* pollen grain, attached to a photopolymer tip for manipulation, displaying refraction and absorption images. Note the very different aspect of the pollen on both images, and the photopolymer tip, visible on the refraction image, but not on the absorption one (see Ref. [32] for acquisition details). These images highlight the inner structure of the pollen grain. The knowledge of the photopolymer tip and immersion medium indices of refraction allows for calibration. The pollen walls appear composed of high refraction index components. The inner part is globally made out of lower refractive index components. The absorption image shows that

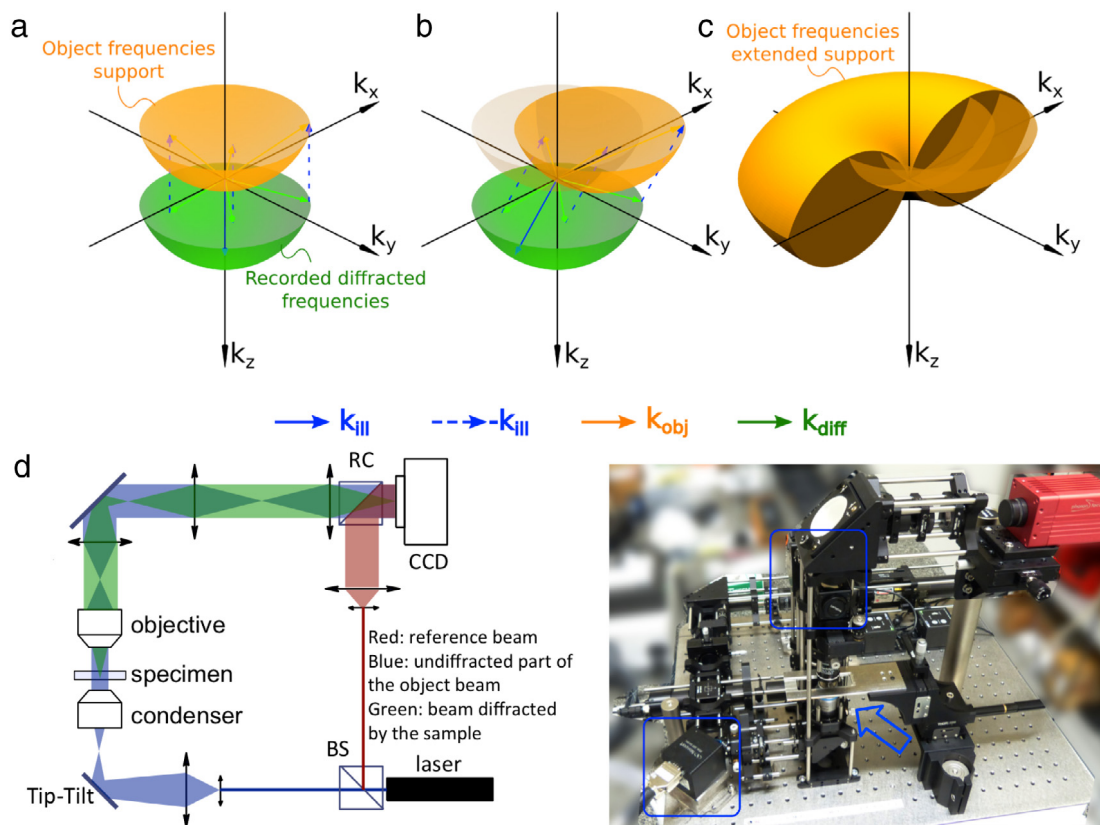


Fig. 1. Construction in Fourier space (k_x, k_y, k_z) of tomographic diffractive microscopy optical transfer function with illumination rotation. (a): normal illumination. (b): inclined illumination. (c): final OTF with many illuminations. Vector k_{ill} represents the varying angle of incidence illumination wavevector. According to the elastic scattering condition $k_{diff} = k_{obj} + k_{ill}$, recorded diffracted wavevectors k_{diff} are back-translated to form the object wavevectors k_{obj} support. (d): sketch of a typical TDM setup (BS: beam splitter RC: recombination cube) and picture of the system we developed, highlighting the tip-tilt mirror and recombination cube (blue squares), and the two-objectives used as condenser and for detection (blue arrow). (For interpretation of the references to color in this figure legend, the reader is referred to the web version of this article.)

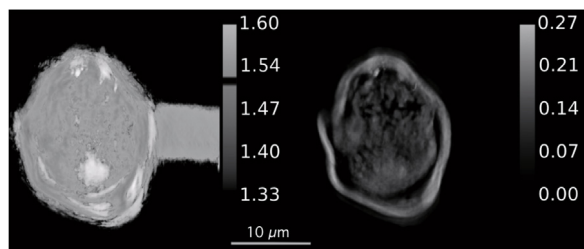


Fig. 2. *Betula pendula* pollen grain observed with TDM. Left: refraction image. Right: absorption image.

the absorptive components are mostly concentrated in the pollen walls, which appear as a bright structure surrounding the pollen nucleus (which is also slightly absorptive, but separated from the pollen walls by a non-absorptive layer ((Fig. 2, right).

Other approaches to fill the Fourier space exist, by rotating the specimen [15–22], changing the illumination wavelength [48,49], recording the reflected wave [39,40], or combining transmission and reflection [25]. Rotating the specimen requires a large number of sample rotations (typically one per degree [19,50]), which may be difficult to perform at microscopic scale. Furthermore, the ultimate possible resolution is lower than with illumination rotation [29], and Fourier space filling is not complete, leaving missing frequencies along the rotation axis [51,52]. Changing the illumination wavelength has also proven to be a successful approach [48,49], and the development of white-light illumination approaches [53,54] has suppressed the need for wide spectrum coherent sources, but anisotropic resolution is obtained,

because of the peculiar shape of the Optical Transfer Function (OTF) in this configuration [29,43].

However, tomographic diffractive microscopy up-to-now suffers from a major limitation. In terms of information processing, incoherent microscopes (transmission, phase contrast, DIC. . .) make the best use of their condenser, and are parallel systems of information processing, as the specimen is illuminated over many incidences simultaneously. The price to be paid is a lower resolution and a loss of information (intensity-only images are obtained), but very high-speed imaging is possible, limited in practice only by the acquisition camera performances. For tomographic diffractive microscopy, the data acquisition process must be sequential, one illumination angle at a time, which limits the speed, a possible drawback for studying living specimens of fast phenomena, and the necessary computer-based image reconstruction further delays the display.

In the next sections, we present a GPU (Graphics Processing Unit)-based image reconstruction method, which can deliver several 3-D reconstructions per second, so may help for a wider adoption of this new microscopy technique.

3. Real-time image reconstruction strategy

Tomographic diffractive microscopy in transmission is usually performed by first acquiring numerous interferograms (n : typically a few tens to a few hundreds), then by computing and displaying the image reconstruction of the sample. For typical configurations of our setup (output: real and imaginary volumes of 512^3 voxels in single-float precision, input: $n \times 1024^2$ 8 bits interferograms with off-axis acquisition and $4n \times 512^2$ with phase shifting acquisition), we already managed to reduce acquisition and reconstruction time below one

minute each [26,34,55]. Provided one can accelerate and parallelize both processes, real-time acquisitions and reconstructions could be achieved. This would allow for user supervision of specimens during acquisition, which, for example, could be very relevant for routine acquisitions.

A high-speed tomographic configuration has been proposed in Ref. [56], data are acquired and stored by a fast camera, which allows for imaging a live sample at several 3-D frames per second. Though, only off-line reconstruction is possible, due to insufficient transfer rates to a computer, and reconstruction speed. Indeed, on-line 4-D visualization is very challenging due to the amount of data to be transferred from camera to computer, and to be processed for real-time reconstruction. A scheme optimizing the reconstruction sequence in order to match high acquisition speed would allow for live imaging and display.

The method presented in [56] was amended in [57] in order to achieve such a live imaging, but due to the limited camera transfer rate, the size of both 2-D interferograms and 3-D reconstructions is drastically reduced. A fast live 3-D reconstruction method was presented in [58], which also demonstrates that increasing the size of interferograms and reconstructions volumes decreases the reconstruction speed due to the volume of data to process. Though, the tomographic setup providing input interferograms does not match the speed of the setups shown in [56,57], so the live reconstruction is actually simulated from recorded data.

In this paper, we use the TDM setup presented in [32] (without the specimen rotation stage) to perform fast and real-time imaging of a static specimen with maximum size of interferograms and reconstruction, which should extend to real-time imaging of live specimen via scaling both acquisition and reconstruction hardware and possibly decreasing the size of the reconstructed volume.

For a CPU (Central Processing Unit) setup, the high-performance computing techniques we have considered [59–61] propose acceleration factors ranging from 10 to 100 depending on the hardware architecture and the algorithm profile. In our case, this would allow for computing several full 3-D image reconstructions during the acquisition sequence, which represents a view with increasing level of details of the specimen. This, for example, would allow for detecting positioning mistakes or other flaws in sample preparation. As detailed in the following, computation is indeed incremental, due to the accumulation of sphere caps during angular scanning [14]. As a consequence, it becomes possible to compute 3-D reconstructions of increasing level of detail at regular time intervals, while increasing the number of angles used for the reconstruction (so the synthetic numerical aperture at illumination) as seen in Fig. 3 (see also Media 1). Dynamic synthesis of an increasing numerical aperture condenser at illumination would for example allow the user for stopping the acquisition upon a visual observation with satisfactory reconstruction level of details instead of running a static scheme until completion, or using a priori guess.

We first present a hardware–software system implementing progressive image reconstruction, which will allow for identifying bottlenecks of the reconstruction process. We then present CPU code acceleration, able to deliver a 3-D image every second on a high-end Desktop PC. Changing the hardware architecture to GPU, we finally present a hybrid GPU/CPU scheme able to provide several 3-D frames per second thanks to an additional scientific computation board.

3.1. CPU-based progressive reconstruction computing

The image reconstruction procedure is depicted in Fig. 4, which described the implementation of the process described in Section 2. A hologram acquisition is performed for each illumination angle (with phase shifting holography, 4 interferograms are acquired in order to compute one hologram, off-axis holography can also be used). Each hologram is 2-D Fourier transformed, then projected onto a cap of sphere, which position in Fourier space is given by the current illumination angle (cf Fig. 1(c)). Sphere caps are accumulated in a 3-D Fourier

volume. As they often overlap, normalization is applied to preserve consistency of frequency values.

Mapping of the 2-D holograms onto the 3-D cap of sphere is an important step not to overlook, because it implies projecting a rectilinear grid (2-D holograms) onto a discretized cap of sphere embedded in a 3-D volume used for Fourier transforms. For coarse discretization, this may imply phase and amplitude errors when projecting the Fourier coefficients. For our experiments, we use a basic projection, with simple interpolation of the data. This procedure proved to be sufficient in practice [14,26,32,37–40], as we use fine discretization of the field of view, and because fast illumination angular scanning is made, which permits to record many holograms. It has to fortunate consequences: averaging the inevitable noise, because we have data redundancy, and also averaging the residual interpolation errors. For speeding acquisition, one could use a lower number of illuminations, but more accurate reconstruction procedure would have then to be implemented.

An inverse 3-D FFT then raises a complex 3-D image of the specimen, the level of detail depending on the number and spreading of accumulated caps (Fig. 3). It can then be displayed to the user, showing either or both real and imaginary parts on an interactive 3-D slicer displaying 2D cuts in $xy/xz/yz$ planes.

We have implemented this reconstruction procedure on the same middle-range PC, which performs acquisition, and features a Core i7 860 (quad-core CPU) with 16GB of RAM (DDR3 1600 MHz in dual-channel). The PC is linked to the camera using a GigE interface for conveying snapshot orders and resulting images. All other devices (i.e. rotating mirror and phase modulator) are piloted by a DAC (Digital Analog Converter) system linked by USB and work fast enough to sustain acquisition at maximum camera rate for our interferogram sizes [55].

The choice of programming language for such a heterogeneous system is of importance. The pros and cons of different programming language in the various domains of instrumentation, scientific computing, data management are very diverse, and often contradictory, as some languages are better suited for easy programming of tasks like data acquisition from external devices (such as cameras), while others are more efficient in terms of pure computation power. Because we intend developing an integrated tool for data acquisition and management, as well as image reconstruction and display, and having to handle input/output buses, CPU and GPU computation, as well as final display, we choose to develop the system in C/C++ language. Our choice is motivated by the fact that C/C++ is a fast, compiled language, and a very universal language for CPUs as well as GPUs, and because manufacturers of the various subsystems we use (camera, tip-tilt mirror command, as well as GPU card) all offer C/C++ routines and/or precompiled drivers, which are then easier to assemble with our own code.

The software architecture for the progressive reconstruction program is the following. A single program controls the parallel execution of 3 threads (sub-processes), which collaborate in using common data in memory banks shared by all threads (See Fig. 5).

- The acquisition process produces interferograms as fast as possible, stacking these in shared memory.

- The reconstruction process starts by emptying the entire stack, then computes the corresponding new caps, and finally computes an updated 3-D reconstruction of the specimen, which is placed in shared memory. Then it goes on with the new interferograms, which were stacked during the former reconstruction update, until acquisition stops.

- The visualization process executes a 3-D slicer displaying the most recent 3-D reconstruction and listening for user interaction orders (slice navigation, zoom, etc.).

Such a 3-threaded program runs very smoothly on a quad-core CPU: visualization and acquisition are not intensive processes unlike the reconstruction one, which stresses only one CPU core under a standard programming architecture. This scheme automatically adapts to various computing capacities and acquisition speeds and provides the best 3-D reconstruction rate available in this case. With our reconstruction

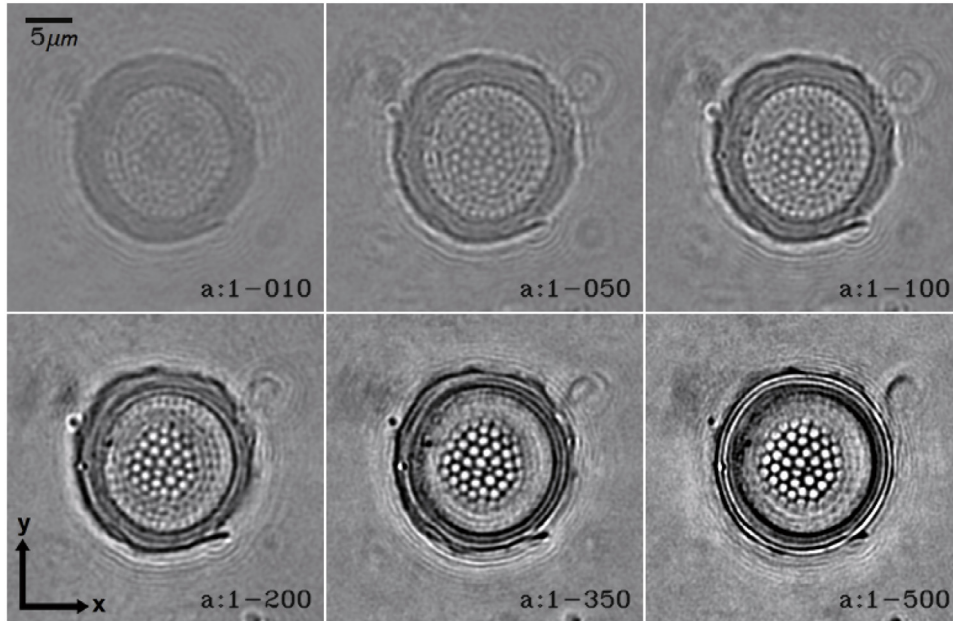


Fig. 3. Slice ($z = 240/512$) extracted from successive 512^3 3-D tomographic reconstructions of a diatom shell with increasing number of illuminations, synthesizing an increasing numerical aperture at illumination. Note the progressive apparition of smaller details (See also Media 1).

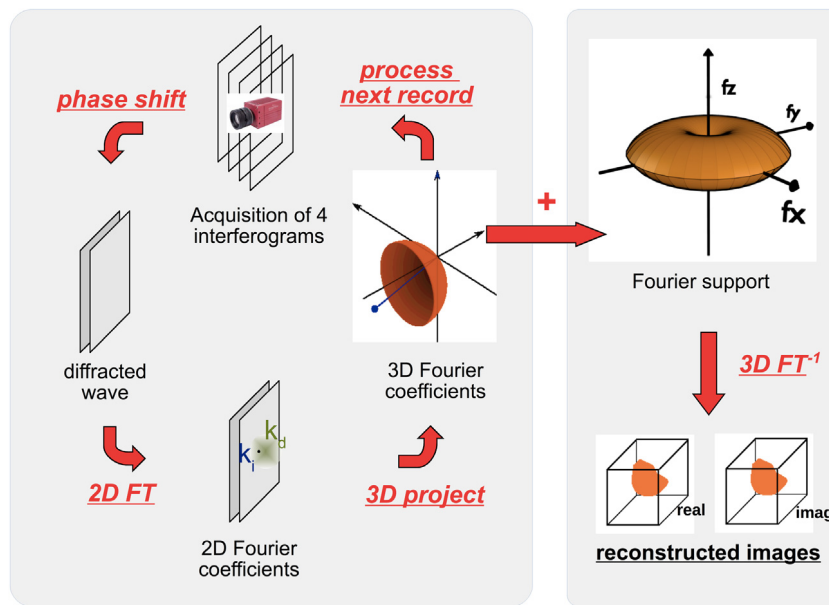


Fig. 4. Outline of 3-D image reconstruction in TDM. Left: computing of sphere caps of object frequencies from angular scanning holographic acquisition, 2-D FFTs and projections on cap of spheres. Right: 3-D image reconstruction update via a 3-D inverse FFT after normalization of accumulated coefficients.

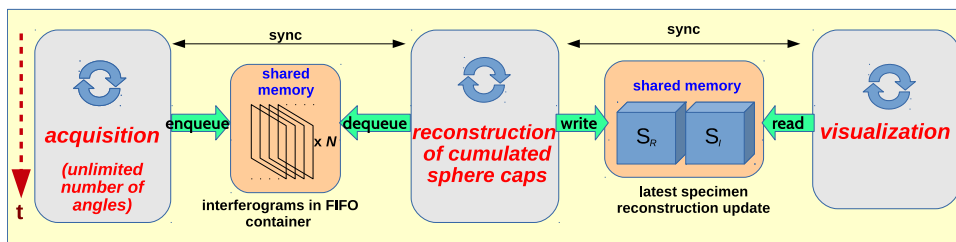


Fig. 5. Principle of the three-thread program for parallel execution of acquisition, reconstruction, and display of TDM images.

method, we may reduce the output volume size (zoom out) if we need a reconstruction speed boost (e.g 256^3 is 8 times smaller than 512^3).

With a straightforward implementation of CPU code [62], computing and accumulating a projected sphere cap takes 25 ms (Fig. 4, left).

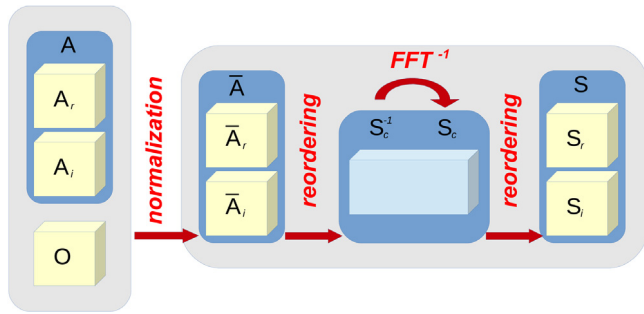


Fig. 6. Schematic for updating an image reconstruction in TDM (volume S, right) from the current state of a cap sphere accumulator volume (A left), which has to be normalized, reordered for efficient Fourier transform, the result of which being again reordered for display.

Computing a reconstruction update from an additive cap accumulation takes 3.5 s (Fig. 4 right), including 800 ms for FFT 3-D alone. It is clear that the latter part represents the bottleneck of our program. Since it requires in-depth optimization, we will first detail the computation steps it contains.

While Fig. 5 describes the reconstruction process in terms of computing tasks to be processed in parallel, Fig. 6 describes it in terms of memory volumes to be used. Volume A stands for the 3-D Fourier volume where successively acquired sphere caps are accumulated (see Figs. 4 and 5). When angularly scanning the illumination, successively acquired cap of spheres intersect (see Fig. 1), meaning that some pixels in Fourier space are acquired several time. Volume O counts voxel-wise overlaps between caps, used to average the corresponding measurements, which is very favorable in terms of improving final reconstructions signal-to-noise [37]. After each new acquisition, a new normalized volume \bar{A} is computed. Then, this volume must be converted to a memory organization S_c^{-1} compatible with the FFTW (“Fastest Fourier Transform in the West”) algorithm [63], here chosen for its speed and efficiency. After FFTW Fourier transform is performed, the obtained image S_c must again be converted into a volume S for standard image display.

Indeed, FFTW implements a 3-D Fourier volume with one array of complex values $(r_1, i_1, \dots, r_n, i_n)$, which is known to allow for faster arithmetics via vectorization [64,65]. On the contrary, visualization of either real or imaginary part requires consecutive scalar values (r_1, \dots, r_n) and (i_1, \dots, i_n) in video memory. Thus one needs to tangle, and then detangle components, so as to switch between both representations. Furthermore, because of FFTW frequency ordering conventions [65], one has to perform a circular permutation of data (8 sub-cubes in 3-D, or 4 sub-squares in 2-D) in order to be able displaying a new image after Fourier transformation. In the following, we will name *data reordering* the succession of tanglings/detanglings/permutations, required to switch from memory organization required by FFTW to memory organizations required for display.

One can note that using the correct memory scheme, as required by FFTW, for every computations before the Fourier transform is performed, would spare data movements. However, doing so has impact onto performances of these preliminary computations: we measured on further optimization steps that it would in fact increase overall computation time [55].

We timed the computation units involved in this update. Concerning the parts we coded in C++, normalization takes 320 ms, and each reordering takes 1.1 s [62,66] with maximum automatic optimizations inferred by the compiler (gcc 4.7).

The FFT part depends on the FFTW library: while default settings take 5 s of computation, activating multi-threading and other FFTW specific optimizations (i.e pre-computed “wisdom” parameter files [65]) permits to decrease this time to 850 ms. Such acceleration is drastic in comparison with the default setting, and it eventually turns out to be

faster than most of our own code. Indeed, FFTW (such as Intel MKL (Math Kernel Library)) is reputed for the excellent level of algorithmic and source code optimization [65], on top of which compiler and architecture optimizations apply too.

Upon this observation, we worked to produce optimized code that could benefit from such a drastic acceleration on the present CPU setting.

An important point to consider in the reconstruction procedures is the possible phase unwrapping procedure, which has to be implemented for larger samples, or when the index of refraction contrast between the sample and its preparation medium is important. The phase unwrapping procedure is unnecessary when imaging very small samples, or when the index of refraction of the preparation medium is carefully chosen, which we pay attention to when preparing our samples. For samples requiring phase unwrapping, we implemented and compared two methods [67,68]. Processing 256² pixels, 64 bits encoded holograms, requires about 20 ms with a FFT-only based algorithm [67] and 35 ms when using an algorithm based on a reliability function and a non continuous path [68]. At this time, such performances would slow down the data acquisition process (85 fps or 12 ms). A second point is time consumption of data storage. Images are recorded at full speed camera onto a 16 GB RamDisk, so this process does not slow down the reconstruction pipeline (only final results are stored on a Hard Disk or a Solid State Disk (SSD)). This is because we use a relatively slow camera. For high-speed cameras, more modern transfer protocols and buses should be used (see 3.3).

3.2. Accelerating CPU reconstruction

A wide array of CPU optimization techniques described in [53,60] has been tested on division and reordering codes, but did not prove efficient. On the contrary, thread parallelization and code vectorization proved very efficient in the FFTW implementation [63,65].

Parallel tasks allows for addressing all available CPU cores for intensive computations. All computation steps involved in reconstruction are performed in sequential order; though, within each step, computations can be performed in parallel since these consist in sequential iterations over long arrays of independent elements (streaming computations [61]). OpenMP (Open Multi-Processing) *parallel-for* directives [69] were used and managed to both share computations between threads and to improve the global memory bandwidth [61].

Vectorization relies on SSE (Streaming SIMD (Single Instruction, Multiple Data) Extensions) (AVX: Advanced Vector Extensions) instructions and registers present in all modern CPUs [64,70]. Vectorization is a single-instruction on multiple data (SIMD) execution scheme, which relies on data-oriented parallelism to compute some sequences of arithmetic operations, typically 4 times faster. Furthermore, SSE also introduce specific streaming-oriented instructions, which can bypass the CPU cache mechanism and address main memory directly, and doubles the writing speed in that case. Though, in order to benefit from such speedups, the inner loop code snippets must be rewritten entirely in SIMD paradigm, using for instance SSE/AVX compiler intrinsic instructions [64]. Such rewriting is well covered by specific High Performance Computing (HPC) literature, but is not trivial [64,70].

In applying successive layers of code optimization like parallelization, vectorization, streaming, plus a set of algorithmic optimizations derived from experimentation [55], we eventually reduced the 3-D reconstruction update time from to 850 ms per 3-D update in executing our program on a Core i7 3820K, quad-channel DDR3 1800 Hz CPU [66].

This CPU computation time is very competitive and supersedes the times reported for the CPU versions of the programs described in [57,58]. Comparing with [52], running with 73 interferograms of same size (1024² 8 bits), our program computes equally fast. Though, it provides a 512³ output volume, which is 512 times bigger than the 64³ one in [58], and the 4-core 3820K CPU used in this work is at least 2 times less efficient than the 8-core Core i7 5960X CPU used in [52].

This CPU program also runs faster than the GPU version presented in [57] for 256^3 outputs.

Our measurements show that memory bandwidth is the limiting factor: we managed to achieve an actual 18 GB/s bandwidth [55] (21 GB/s theoretical limit of our PC setup). We also tested a more powerful PC setup featuring 2 CPUs, each one equipped with dedicated memory, thus doubling the overall memory bandwidth. Even in this case, the 3-D FFT test still takes 375 ms on a high-end PC (9 threads run on 2 hexa-core Xeon 2630, each with quad-channel 1333 MHz DDR3 memory). Indeed it proves very difficult and expensive to scale further in speed using a CPU-only architecture [49].

A 1 Hz reconstruction rate is satisfactory for monitoring acquisitions, or adjusting the setup. Though, it is still too slow for 3-D video applications undertaken in [57,58]. We therefore also considered GPU optimization.

3.3. Real-time reconstruction on GPU

GPUs have been used for general-purpose programming for the last 10 years, becoming a standard in HPC [55,64] (alternatives like Intel MIC [71] now seem equally efficient). In the DHM field, GPUs have already been considered [56–58,62,66]. Since NVidia granted us a computing GPU suitable for our complete computation, we managed to improve on the seminal works presented in [62,66].

The NVidia Tesla C2075 (Fermi series) is historically the first scientific-class computing GPUs proposing enough on-board memory (6 GB) to fit all the data required for our progressive image reconstruction scheme (Fig. 6). With this card, the cuFFT library only takes 95 ms for computing our 3-D FFT, mostly thanks to the 144 GB/s peak bandwidth compared to the 21 GB/s on our CPU system. Though, we need to convert all our CPU C++ code to CUDA GPU code.

CPUs are perfectly suited for sequential programs with a high arithmetic to memory ratio [61]. Conversely, GPUs have been designed for fast data-access and the growing general-purpose use of the hundreds of dedicated shader units progressively made implementation of standard computations possible [64].

Memory accesses are a central part of the CUDA (Compute Unified Device Architecture) system. Focusing on hardware, CPUs use DDR3 memory, which balances bandwidth and latency, while GPUs use GDDR5 (Graphics Double Data Rate, version 5) memory with high bandwidth.

In CUDA, the programmer defines a computing grid covering all the data arrays to process, and the code to be executed by a single thread on a single array element at once and of unknown position in the array (a.k.a shader code). The CUDA subsystem instantiates all threads at once, and selects those for execution when their data is ready, allowing for maximum effective bandwidth, and making perfect use of the massive computation parallelism provided by the hundreds of shaders [72]. But this comes with huge restrictions in the GPU code, which must be largely rewritten [72], with GPU SIMD in mind.

Another constraint comes from the fact that GPU stands in an additional card. The PCIe bus it occupies has not been designed for data bandwidth, its 2.0 version barely reaching 6 Gb/s when a standard CPU accesses main memory at 21 GB/s. This makes copies of volumes very slow [62]. As a consequence, it was mandatory to migrate all computations to GPU: in input, we then only copy interferograms (1 Mb per angle). No output copy of the reconstructed volume is required since the Tesla C2075 is both a computing- and a video card.

Eventually, our CPU-to-GPU reconstruction code manages to compute a reconstruction update in only 230 ms [66], which allows for real-time 3-D update on the slower versions of our TDM setup [40,62] and still provides fast-paced 3-D monitoring of our latest TDM setup acquiring at 85 angles per second [32].

We then addressed the case of live 3-D use using our setup, which only supports a 85 fps 1024^2 interferograms stream. Provided we can copy such data to GPU and compute a whole new reconstruction in 1 s at

most, we would achieve a decent 4-D visualization with 1 Hz temporal resolution, and 1 s of delay regarding the current state of the specimen. With a unit projection time of 3 ms per interferogram [49], a 85-block copy time of 30 ms and a 3-D unit reconstruction time of 230 ms, we can reconstruct 85 interferograms in 550 ms only, idling 450 ms until the interferograms for the next 3-D frames start being recorded.

But with our setup, we usually need from 200 to 300 interferograms so as to obtain a full-resolution 3-D scene: so the bottleneck is now set on angular scanning and camera transfer to the PC memory.

In [56], the authors demonstrated acquisition speeds of 1000 fps (1024^2 , off-axis) for off-line imaging. But for live imaging in [57], the 100 MB transfer rate of their camera forces to drastically reduce the set of interferograms, so to use iterative 3-D interpolations to extrapolate missing data using a very time-consuming method. The method detailed in [58] is way more efficient, but scanning or transfer rates are not mentioned since the live reconstruction is simulated from recorded data.

We suggest to overcome the camera-to-PC bottleneck in using recent cameras, allowing for a continuous stream of 600 fps at 1024^2 8 bits [55]. With such configuration, one could address 2 Hz (300 interferograms per 3-D frame) or 3 Hz (200) live reconstruction rates for 2 volumes of 512^3 voxels at full resolution, which would be, to the best of our knowledge, unmatched so far. Our projections [49] show that our current GPU reconstruction method will follow this pace, using overlapping of 3-D loops already developed for the CPU version, CUDA-streaming for interleaving the copy and processing of interferograms like detailed in [72] and successfully applied in [58], and use of a Kepler [58] or Pascal Tesla GPU instead of the Fermi generation dating from 2011. We are now working towards such a 600 fps simulation. We have also adapted for transmission tomography the method of aberration compensation we developed for tomography in reflection [40]. Their GPU implementation is expected to be very efficient and could be used to fill the idle GPU time while waiting for acquisition of the next 3-D frame.

Note that GPU processing has also proven to be very effective for fast implementation of the phase unwrapping preprocessing of the holograms. In Ref. [73], Backoach et al. have demonstrated processing rate of almost 2000 fps for 256^2 holograms, showing that real-time phase unwrapping is possible even for high-speed cameras.

3.4. Real time 3-D display

At this point, we have a quasi real-time reconstruction system, capable of generating to-be-displayed 3-D data at a more than 3 images/s rate. Most of time, these data are then post-processed to produce visualizations on 2-D displays that are easily interpretable by the user. Then, conventional softwares, such as those usually employed for 3-D image synthesis, can be used (see, for example, the methods proposed in [74] and the volumetric renderings in [32]).

One has however to realize that the whole chain that we use for acquiring data is indeed symmetrical to 3-D holographic projection display devices, where a 3-D synthesis image serves as a basis for generating holograms (CGH), which are then projected thanks to various devices (DMD, SLM, AOM), in order to achieve a three-dimensional rendering. For example, systems presented in [75] highlight the similarities between holographic display systems and TDM, in particular in regards to the key points of these techniques:

- The ability to perform fast calculations on holographic data [62,76–78].

- The ability to sequentially address display devices (or acquisition devices for TDM) at high refreshing rates [60,62].

Moreover, the use of 3-D holographic projection in surgical applications [79,80], has shown that this type of interface allows for a more precise volumetric data understanding than the conventional displays on 2-D screens. Finally, augmented reality microscopy systems have been reported, allowing for combining the views coming from microscope with additional information [81].

Consequently, TDM could evolve through a combination of these different approaches.

-First, the ability of TDM to directly produce holographic data could permit to relieve the onerous process of hologram computation from synthetic objects and computation would be limited to the techniques that we have already implemented [32,40,62] They just would have to be adapted to specificities of hologram projection.

-Secondly, holographic projection permits to relax the time-consuming 3-D data reconstruction task and their post-processing allowing for volumetric rendering.

-Finally, holographic displays that implement reduced viewing window thanks to eye tracking drastically reduces the holographic projections to be computed, therefore the number of angles to acquire in TDM process implementing a holographic display.

As a consequence, the released computation power could be reallocated to real-time computation of holographic projections containing additional information. So, co-conception approaches, taking into account both TDM and holographic display, may allow for a real-time augmented holographic display for TDM.

4. Conclusion and perspectives

Developments in tomographic diffractive microscopy by several groups in the world attract the interest of more and more end-users, thanks to the improved resolution, and/or very high precision measurements, and/or possibility to work on unlabeled samples.

Among present limitations of the method are its sequential nature, which limits speed acquisition, and its computational nature, which limits image delivery.

A high-speed acquisition system has already been proposed [56], showing that acquisition can be performed at a very high rate if necessary. But data are post processed, for off-line display. We have studied improvement of tomographic diffractive microscopy, by making use of Graphical Processor Unit reconstruction of the images, and shown that several 3-D images per second can be reconstructed and displayed. Coupled with ultrafast acquisition, such a system would be useful to study in real-time living specimens, or dynamic phenomena, provided that data transfer from camera to computer is high enough. For example, photopolymerization micro- and nano-manufacturing processes could be monitored in situ, as the refraction index of resins varies when transformed from liquid to solid phase [82]. Presently, the control is performed after fabrication and rinsing of the liquid resin, to isolate the fabricated sample. In biology, cell tracking and sorting could be improved and accelerated, for example for non-fluorescence cytometry [83], which constitutes an interesting alternative for studies requiring to work on unlabeled cells. Having live 3-D views and precise measurements on oocytes and sperm cells [84,85] may also help for in-vitro fertilization studies. For example, morphological features of egg cells are up-to-now measured using 2-D only light microscopy images [84], and could benefit from the superior imaging capabilities TDM allows for.

Tomographic diffractive microscopy in reflection [39,40] could also benefit from fast GPU image reconstructions.

Then, a possible improvement for further accelerating acquisition would be to use advanced reconstruction methods, which require much less data for precise specimen reconstructions than direct Fourier transform [86–90]. The reconstruction speed may be lower, as in particular iterative methods are slower, but acquisition could be simplified and accelerated, and such approaches could also benefit from much faster GPU reconstructions.

Published work on TDM [17–19,27,41–44,53,54,86–91] have clearly demonstrated the usefulness of accessing the index of refraction distribution at microscopic scale, for biological research as well as work on artificial samples. But note that absorption is often not discussed, while it has been shown that refraction and absorption indeed provides complementary information [25,26,32,37,38,45–47]. This dual imaging

capability should be further investigated, as absorption measurements may probably also contribute to diagnostic tools.

Note that low coherence setups provide simplified hardware [91], or, alternately, simplified amplitude and phase detection approaches that do not require a separate reference beam for interferometry [7,92–95]. In some cases, one can benefit from the movements of the sample itself to perform tomographic reconstructions, which could also contribute to design simpler systems [96].

To conclude, we believe that combining rapid-acquisition, simplified setups, with fast GPU reconstruction and real-time 3-D display of the observed sample images could greatly accelerate for wide adoption of tomographic imaging by non-specialists. While such a real-time 3-D microscopy system has yet to be developed, all elementary bricks are now available, and we believe that such a real-time TDM could then constitute no less than a high-tech replacement of standard transmission microscopy, in which samples could be imaged, reconstructed and displayed in 3-D in live conditions (several 3-D images per seconds), even for large-scale images (512^3 voxels or more).

Acknowledgments

This work was funded by French National Research Agency (ANR) under JJC2011-OSIRIS (Optical Scanning, Isotropic Resolution Imaging System) grant. We thank the Nvidia Academic Research Program for granting a Tesla C2075 card.

Appendix A. Supplementary data

Supplementary material related to this article can be found online at <https://doi.org/10.1016/j.optcom.2017.11.008>.

References

- [1] G. Popescu, *Quantitative Phase Imaging of Cells and Tissues*, McGraw Hill, 2011.
- [2] Myung K. Kim, *Digital Holographic Microscopy: Principles, Techniques, and Applications*, in: Springer Series in Optical Science, vol. 162, Springer, 2011.
- [3] B. Kemper, *Digital holographic microscopy: Quantitative phase imaging and applications in live cell analysis*, in: V.V. Tuchin (Ed.), *Hand Book of Coherent-Domain Optical Methods*, Springer, 2013, pp. 215–257.
- [4] K. Lee, K. Kim, J. Jung, J. Heo, S. Cho, S. Lee, G. Chang, Y. Jo, H. Park, Y. Park, *Quantitative phase imaging techniques for the study of cell pathophysiology: From principles to applications*, *Sensors* 13 (2013) 4170–4191.
- [5] R. Carriles, D.N. Schafer, K.E. Sheetz, J.J. Field, R. Cisek, V. Barzda, A.W. Sylvester, J.A. Squier, *Invited review article: Imaging techniques for harmonic and multiphoton absorption fluorescence microscopy*, *Rev. Sci. Instrum.* 80 (2009) 081101.
- [6] E. Cuhe, P. Marquet, C. Depeursinge, *Simultaneous amplitude-contrast and quantitative phase-contrast microscopy by numerical reconstruction of fresnel off-axis holograms*, *Appl. Opt.* 38 (1999) 6994–7001.
- [7] P. Bon, G. Maucort, B. Wattellier, S. Monneret, *Quadriwave lateral shearing interferometry for quantitative phase microscopy of living cells*, *Opt. Express* 17 (2009) 13080–13094.
- [8] J. Kim, J.-H. Jung, Y. Jeong, K. Hong, B. Lee, *Real-time integral imaging system for light field microscopy*, *Opt. Express* 22 (2014) 10210–10220.
- [9] S.S. Kou, L. Waller, G. Barbastathis, C.J.R. Sheppard, *Transport-of-intensity approach to differential interference contrast (TI-DIC) microscopy for quantitative phase imaging*, *Opt. Lett.* 35 (2010) 447–449.
- [10] S.V. King, A. Libertun, R. Piestun, C.J. Cogswell, C. Preza, *Quantitative phase microscopy through differential interference imaging*, *J. Biomed. Opt.* 13 (2008) 024020.
- [11] See for example: <https://www.lynceetec.com>, <http://www.phiab.se>, <http://www.ovizio.com>, <http://phasicscorp.com>.
- [12] M.K. Kim, *Principles and techniques of digital holographic microscopy*, *SPIE Rev.* 1 (2010) 018005.
- [13] N.T. Shaked, Z. Zalevsky, L. Satterwhite (Eds.), *Biomedical Optical Phase Microscopy and Nanoscopy*, Elsevier, 2012.
- [14] M. Debailleul, B. Simon, V. Georges, O. Haeberlé, V. Lauer, *Holographic microscopy and diffractive microtomography of transparent samples*, *Meas. Sci. Technol.* 19 (2008) 074009.
- [15] A. Barty, K.A. Nugent, A. Roberts, D. Paganin, *Quantitative phase tomography*, *Opt. Commun.* 175 (2000) 329–336.
- [16] M. Fauver, E.J. Seibel, J.R. Rahn, M.G. Meyer, F.W. Patten, T. Neumann, A.C. Nelson, *Three-dimensional imaging of single isolated cell nuclei using optical projection tomography*, *Opt. Express* 13 (2005) 4210–4223.

- [17] F. Charrière, A. Marian, F. Montfort, J. Kuehn, T. Colomb, E. Cuche, P. Marquet, C. Depeursinge, Cell refractive index tomography by digital holographic microscopy, *Opt. Lett.* 31 (2006) 178–180.
- [18] F. Charrière, N. Pavillon, T. Colomb, T. Heger, E. Mitchell, P. Marquet, B. Rappaz, C. Depeursinge, Living specimen tomography by digital holographic microscopy: morphometry of testate amoeba, *Opt. Express* 14 (2006) 7005–7013.
- [19] A. Kuš, M. Dudek, B. Kemper, M. Kujawińska, A. Vollmer, Tomographic phase microscopy of living three-dimensional cell cultures, *J. Biomed. Opt.* 19 (2014) 046009.
- [20] M. Habaza, B. Gilboa, Y. Roichman, N. Shaked, Tomographic phase microscopy with 180° rotation of live cells in suspension by holographic optical tweezers, *Opt. Lett.* 40 (2015) 1881–1884.
- [21] M. Habaza, M. Kirschbaum, C. Guernth-Marschner, G. Dardikman, I. Barnea, R. Korenstein, C. Duschl, N.T. Shaked, Rapid 3D refractive-index imaging of live cells in suspension without labeling using dielectrophoretic cell rotation, *Adv. Sci.* (2016) 1600205.
- [22] Y.-C. Lin, H.-C. Chen, H.-Y. Tu, C.-Y. Liu, C.-J. Cheng, Optically driven full-angle sample rotation for tomographic imaging in digital holographic microscopy, *Opt. Lett.* 42 (2017) 1321–1324.
- [23] S. Kawata, O. Nakamura, T. Noda, H. Ooki, K. Ogino, Y. Kuroiwa, S. Minami, Laser computed-tomography microscope, *Appl. Opt.* 29 (1990) 3805–3809.
- [24] T. Noda, S. Kawata, S. Minami, Three-dimensional phase-contrast imaging by a computed-tomography microscope, *Appl. Opt.* 31 (1992) 670–674.
- [25] V. Lauer, New approach to optical diffraction tomography yielding a vector equation of diffraction tomography and a novel tomographic microscope, *J. Microsc.* 205 (2002) 165–176.
- [26] B. Simon, M. Debailleul, V. Georges, V. Lauer, O. Haeberlé, Tomographic diffractive microscopy of transparent samples, *Eur. Phys. J. Appl. Phys.* 44 (2008) 29–35.
- [27] R. Fiolka, K. Wicker, R. Heintzmann, A. Stemmer, Simplified approach to diffraction tomography in optical microscopy, *Opt. Express* 17 (2009) 12407–12417.
- [28] S. Chowdhury, W.J. Eldridge, A. Wax, J. Izatt, Refractive index tomography with structured illumination, *Optica* 4 (2017) 537–545.
- [29] O. Haeberlé, K. Belkebir, H. Giovannini, A. Sentenac, Tomographic diffractive microscopy: basics, techniques and perspectives, *J. Modern Opt.* 57 (2010) 686–699.
- [30] D. Jin, R. Zhou, Z. Yaqoob, P.T.C. So, Tomographic phase microscopy: principles and applications in bioimaging, *J. Opt. Soc. Amer. B* 34 (2017) B64.
- [31] S. Vertu, J. Flügge, J.-J. Delaunay, O. Haeberlé, Improved and isotropic resolution in tomographic diffractive microscopy combining sample and illumination rotation, *Cent. Eur. J. Phys.* 9 (2011) 969–974.
- [32] B. Simon, M. Debailleul, M. Houkal, C. Ecoffet, J. Bailleul, J. Lambert, A. Spangenberg, H. Liu, O. Soppera, O. Haeberlé, Tomographic diffractive microscopy with isotropic resolution, *Optica* 4 (2017) 460–463.
- [33] E. Wolf, Three-dimensional structure determination of semi-transparent objects from holographic data, *Opt. Commun.* 1 (1969) 153–156.
- [34] J. Goodman, *Introduction to Fourier Optics*, McGraw-Hill, 2008.
- [35] J.D. Jackson, *Classical Electrodynamics*, Wiley, New York, 1999.
- [36] S. Inoue, K.R. Spring, *Video Microscopy: The Fundamentals*, Plenum Press, New York, 1997.
- [37] M. Debailleul, V. Georges, B. Simon, R. Morin, O. Haeberlé, High-resolution three-dimensional tomographic diffractive microscopy of transparent inorganic and biological samples, *Opt. Lett.* 34 (2009) 79–81.
- [38] B. Simon, M. Debailleul, A. Beghin, Y. Tourneur, O. Haeberlé, High resolution tomographic diffractive microscopy of biological samples, *J. Biophotonics* 3 (2010) 462–467.
- [39] M. Sarmis, B. Simon, M. Debailleul, B. Colicchio, V. Georges, J.-J. Delaunay, O. Haeberlé, High resolution reflection tomographic diffractive microscopy, *J. Modern Opt.* 57 (2010) 740–745.
- [40] H. Liu, J. Bailleul, B. Simon, M. Debailleul, B. Colicchio, O. Haeberlé, Tomographic diffractive microscopy and multiview profilometry with flexible aberration correction, *Appl. Opt.* 53 (2014) 748–755.
- [41] Y. Cotte, F. Toy, P. Jourdain, N. Pavillon, D. Boss, P. Magistretti, P. Marquet, C. Depeursinge, Marker-free phase nanoscopy, *Nat. Photon.* 7 (2013) 113–117.
- [42] W. Choi, C. Fang-Yen, K. Badizadegan, S. Oh, N. Lue, R.R. Dasari, M.S. Feld, Tomographic phase microscopy, *Nat. Methods* 4 (2007) 717–719.
- [43] T. Kim, R. Zhou, M. Mir, S. Derin Babacan, P. Scott Carney, L.L. Goddard, G. Popescu, White-light diffraction tomography of unlabelled live cells, *Nat. Photon.* 8 (2014) 256–263.
- [44] B. Bhaduri, C. Edwards, H. Pham, R. Zhou, T.H. Nguyen, L.L. Goddard, G. Popescu, Diffraction phase microscopy: Principles and applications in materials and life sciences, *Adv. Opt. Photon.* 6 (2014) 57–119.
- [45] K. Kim, S. Lee, J. Yoon, J. Heo, C. Choi, Y. Park, Three-dimensional label-free imaging and quantification of lipid droplets in live hepatocytes, *Sci. Rep.* 6 (2016) 36815.
- [46] T.C. Wedberg, W.C. Wedberg, Tomographic reconstruction of the cross-sectional refractive index distribution in semi-transparent, birefringent fibres, *J. Microsc.* 177 (1995) 53–67.
- [47] K. Kim, H. Yoon, M. Diez-Silva, M. Dao, R.R. Dasari, Y. Park, High-resolution three-dimensional imaging of red blood cells parasitized by plasmodium falciparum and in situ hemozoin crystals using optical diffraction tomography, *J. Biomed. Opt.* 19 (2014) 011005.
- [48] F. Montfort, T. Colomb, F. Charrière, J. Kühn, P. Marquet, E. Cuche, S. Herminjard, C. Depeursinge, Submicrometer optical tomography by multiple-wavelength digital holographic microscopy, *Appl. Opt.* 45 (2006) 8209–8217.
- [49] J. Kühn, F. Montfort, T. Colomb, B. Rappaz, C. Moratal, N. Pavillon, P. Marquet, C. Depeursinge, Submicrometer tomography of cells by multiple-wavelength digital holographic microscopy in reflection, *Opt. Lett.* 34 (2009) 653–655.
- [50] S. Vertu, I. Yamada, J.-J. Delaunay, O. Haeberlé, Tomographic observation of transparent objects under coherent illumination and reconstruction by filtered backprojection and Fourier diffraction theorem, *Proc. SPIE* 6861 (2008) 686103.
- [51] S. Vertu, J.-J. Delaunay, I. Yamada, O. Haeberlé, Diffraction microtomography with sample rotation: Influence of a missing apple core in the recorded frequency space, *Cent. Eur. J. Phys.* 7 (2009) 22–31.
- [52] Y.-C. Lin, C.-J. Cheng, Sectional imaging of spatially refractive index distribution using coaxial rotation digital holographic microtomography, *J. Optics* 16 (2014) 065401.
- [53] B. Bhaduri, H. Pham, M. Mir, G. Popescu, Diffraction phase microscopy with white light, *Opt. Lett.* 37 (2012) 1094–1097.
- [54] Z. Wang, D.L. Marks, P. Scott Carney, L.J. Millet, M.U. Gillette, A. Mihi, P.V. Braun, Z. Shen, S.G. Prasanth, G. Popescu, Spatial light interference tomography (SLIT), *Opt. Express* 19 (2011) 19907–19918.
- [55] J. Bailleul, *Microscopie tomographique diffractive à résolution isotrope — Isotropic resolution tomographic diffractive microscopy*, Université de Haute-Alsace, 2016 (Ph.D. thesis), 23 September.
- [56] M. Kim, Y. Choi, C. Fang-Yen, Y. Sung, R.R. Dasari, M.S. Feld, W. Choi, High-speed synthetic aperture microscopy for live cell imaging, *Opt. Lett.* 36 (2011) 148–150.
- [57] K. Kim, K. Sang Kim, H.J. Park, J. Chul Ye, Y.K. Park, Real-time visualization of 3-D dynamic microscopic objects using optical diffraction tomography, *Opt. Express* 21 (2013) 32269–32278.
- [58] G. Dardikman, M. Habaza, L. Waller, N.T. Shaked, Video-rate processing in tomographic phase microscopy of biological cells using CUDA, *Opt. Express* 24 (2016) 11839–11854.
- [59] A. Fog, *Optimizing software in C++*, Online book, 2014. <http://www.agner.org/optimize>.
- [60] G. Hager, G. Wellein, *Introduction to High Performance Computing for Scientists and Engineers*, CRC Press, Inc., 2010.
- [61] V. Lee, C. Kim, J. Chhugani, M. Deisher, D. Kim, A. Nguyen, N. Satish, M. Smelyanskiy, S. Chennupati, P. Hammarlund, R. Singhal, P. Dubey, Debunking the 100X GPU vs CPU myth: An evaluation of throughput computing on CPU and GPU, *SIGARCH Comput. Archit. News* 38 (2010) 451–460.
- [62] J. Bailleul, B. Simon, M. Debailleul, H. Liu, O. Haeberlé, GPU acceleration towards real-time image reconstruction in 3D tomographic diffractive microscopy, *Proc. SPIE* 8437 (2012) Paper 8437-7. <http://www.ftw.org>.
- [63] C. Lomont, *Introduction to Intel Advanced Vector Extensions*, Intel, 2012. <https://software.intel.com/en-us/articles/introduction-to-intel-advanced-vector-extensions>.
- [64] M. Frigo, S. Johnson, The design and implementation of FFTW3, *Prog. Gener. Optim. Platf. Adapt.* 93 (2005) 216–231, Spec. Issue.
- [65] O. Haeberlé, J. Bailleul, H. Liu, B. Simon, M. Debailleul, Image acquisition, processing and reconstruction in holographic and tomographic diffractive microscopy, in: *Imaging and Applied Optics 2014*, in: OSA Technical Digest, Optical Society of America, 2014, paper DM3B.1 (online).
- [66] V.V. Volkov, Y. Zhu, Deterministic phase unwrapping in the presence of noise, *Opt. Lett.* 28 (2003) 2156–2158.
- [67] M. Herráez, D.R. Burton, M.J. Lalor, M.A. Gdeisat, Fast two-dimensional phase-unwrapping algorithm based on sorting by reliability following a noncontinuous path, *Appl. Opt.* 41 (2002) 7437–7444.
- [68] B. Chapman, G. Jost, R. Pas, *Using OpenMP: Portable Shared Memory Parallel Programming*, The MIT Press, 2007.
- [69] Intel Corporation, *Intel 64 and ia-32 architectures developer's manual: Vol. 1 Technical Report 253665-057US*, Intel, Inc, 2015 December.
- [70] Intel® Xeon Phi™ Coprocessor Instruction Set Architecture Reference Manual, Reference Number: 327364-001, Intel Corporation, 2012 September 7.
- [71] R. Farber, *CUDA Application Design and Development*, Morgan Kaufmann, 2012.
- [72] O. Backoach, S. Kariv, P. Girshovitz, N.T. Shaked, Fast phase processing in off-axis holography by CUDA including parallel phase unwrapping, *Opt. Express* 24 (2016) 3177–3188.
- [73] M. Pyka, M. Hertog, R. Fernandez, S. Hauke, D. Heider, U. Dannlowski, C. Konrad, FMRI data visualization with brainblend and blender, *Neuroinformatics* 8 (2010) 21–31.
- [74] Y. Pan, J. Liu, X. Li, Y. Wang, A review of dynamic holographic three-dimensional display: Algorithms, devices, and systems, *IEEE Trans. Indus. Inform.* 12 (2016) 599–1610.
- [75] R.H.-Y. Chen, T.D. Wilkinson, Computer generated hologram with geometric occlusion using GPU-accelerated depth buffer rasterization for three-dimensional display, *Appl. Opt.* 48 (2009) 4246–4255.
- [76] Y. Pan, X. Xu, S. Solanki, X. Liang, R. Tanjung, C. Tan, T. Chong, Fast CGH computation using s-LUT on GPU, *Opt. Express* 17 (2009) 18543–18555.
- [77] T. Shimobaba, T. Ito, N. Masuda, Y. Ichihashi, N. Takada, Fast calculation of computer-generated-hologram on AMD hd5000 series GPU and OpenCL, *Opt. Express* 18 (2010) 9955–9960.

- [79] E. Bruckheimer, C. Rotschild, T. Dagan, G. Amir, A. Kaufman, S. Gelman, E. Birk, Computer-generated real-time digital holography: First time use in clinical medical imaging, *Eur. Heart J. Cardiovasc. Imaging* 17 (2016) 845–849.
- [80] E. Bruckheimer, C. Rotschild, Holography for imaging in structural heart disease, *EuroIntervention* 12 (2016) X81–X84.
- [81] Y.-H. Huang, T.-C. Yu, P.-H. Tsai, Y.-X. Wang, W.-L. Yang, M. Ouhyoung, Scope +: A stereoscopic video see-through augmented reality microscope, in: *Adjunct Proceedings of the 28th Annual ACM Symposium on User Interface Software & Technology*, 2015, pp. 33–34.
- [82] X. Zhou, Y. Hou, J. Lin, A review on the processing accuracy of two-photon polymerization, *AIP Adv.* 5 (2015) 030701.
- [83] E. Luther, L.P. Mendes, J. Pan, D.F. Costa, V.P. Torchilin, Applications of label-free, quantitative phase holographic imaging cytometry to the development of multi-specific nanoscale pharmaceutical formulations, *Cytometry A* 91 (2017) 412–423.
- [84] E.S. Filho, J. Noble, D. Wells, A review on automatic analysis of human embryo microscope images, *Open Biomed. Eng. J.* 4 (2010) 170–177.
- [85] G. Di Caprio, M.A. Ferrara, L. Miccio, F. Merola, P. Memmolo, P. Ferraro, G. Coppola, Holographic imaging of unlabelled sperm cells for semen analysis: A review, *J. Biophoton.* 8 (2015) 779–789.
- [86] Y. Sung, W. Choi, C. Fang-Yen, K. Badizadegan, R.R. Dasari, M.S. Feld, Optical diffraction tomography for high resolution live cell imaging, *Opt. Express* 17 (2009) 266–277.
- [87] S.J. LaRoque, E.Y. Sidky, X. Pan, Accurate image reconstruction from few-view and limited-angle data in diffraction tomography, *J. Opt. Soc. Am. A* 25 (2008) 1772–1782.
- [88] J.-W. Su, W.-C. Hsu, C.-Y. Chou, C.-H. Chang, K.-B. Sung, Digital holographic microtomography for high-resolution refractive index mapping of live cells, *J. Biophoton.* 6 (2013) 416–424.
- [89] Y. Sung, R.R. Dasari, Deterministic regularization of three-dimensional optical diffraction tomography, *J. Opt. Soc. Am. A* 8 (2011) 1554–1561.
- [90] C. Ding, K. Yang, W. Li, W. Guo, X. Zhang, M. Xia, Application of diffraction tomography theory to determine size and shape of spheroidal particles from light scattering, *Opt. Laser Technol.* 62 (2014) 135–140.
- [91] J. Soto, J. Rodrigo, T. Alieva, Label-free quantitative 3D tomographic imaging for partially coherent light microscopy, *Opt. Express* 25 (2017) 15699–15712.
- [92] B. Kemper, A. Vollmer, C.E. Rommel, J. Schnekenburger, G. von Bally, Simplified approach for quantitative digital holographic phase contrast imaging of living cells, *J. Biomed. Opt.* 16 (2011) 026014.
- [93] P. Gao, B. Yao, J. Min, R. Guo, J. Zheng, T. Ye, I. Harder, V. Nercissian, K. Mantel, Parallel two-step phase-shifting point-diffraction interferometry for microscopy based on a pair of cube beamsplitters, *Opt. Express* 19 (2011) 1930–1935.
- [94] N.-I. Toto-Arellano, V.H. Flores-Muñoz, B. Lopez-Ortiz, Dynamic phase imaging of microscopic measurements using parallel interferograms generated from a cyclic shear interferometer, *Opt. Express* 22 (2014) 20185–20192.
- [95] Y. Ruan, P. Bon, E. Mudry, G. Maire, P.C. Chaumet, H. Giovannini, K. Belkebir, A. Talneau, B. Wattellier, S. Monneret, A. Sentenac, Tomographic diffractive microscopy with a wavefront sensor, *Opt. Lett.* 37 (2012) 1631–1633.
- [96] F. Merola, P. Memmolo, L. Miccio, R. Savoia, M. Mugnano, A. Fontana, G. D'Ippolito, A. Sardo, A. Iolascon, A. Gambale, P. Ferraro, Tomographic flow cytometry by digital holography, *Light Sci. Appl.* 6 (2017) e16241.



Simplified tomographic diffractive microscopy for axisymmetric samples

LUDOVIC FOUCAULT,¹ NICOLAS VERRIER,¹  MATTHIEU DEBAILLEUL,¹ BERTRAND SIMON,² AND OLIVIER HAEBERLÉ^{1,*}

¹*Institut de Recherche en Informatique, Mathématique, Automatique et Signal (IRIMAS EA7499), Université de Haute-Alsace, 61 rue Albert Camus, 68093 Mulhouse Cedex, France*

²*Laboratoire Photonique Numérique et Nanoscience (LP2N), CNRS UMR5298, Université de Bordeaux, Institut d'Optique Graduate School, Talence 33405, France*

*olivier.haerberle@uha.fr

Abstract: Tomographic diffractive microscopy exhibits intrinsic features making it a method of choice for 3D high-resolution label-free imaging. However, these results are achieved at the cost of a heavy data acquisition/reconstruction process. This drawback can be circumvented for certain classes of samples. For example, axisymmetric samples, like optical or textile fibers, present geometrical properties that can be advantageously used to speed-up the acquisition process. We propose to take benefit of these properties to allow for full reconstruction of axisymmetric samples' complex refractive index distribution, using four approaches, adapted to 3D samples. We applied the proposed reconstruction scheme, based on a numerical rotation of data, to both simulated and experimental data sets.

© 2019 Optical Society of America under the terms of the [OSA Open Access Publishing Agreement](#)

1. Introduction

For the last decades, several non-destructive techniques have been used for quality control purposes [1,2]. Among these procedures, optical techniques have been particularly useful to reconstruct natural and optical fibers [3–8]. For instance, interferometric techniques such as Digital Holographic Microscopy (DHM) have been used, with the benefit of recording the complex field, *i.e.* both amplitude and phase images [9,10].

In interferometric microscopy, information about the investigated medium is encoded in an interferogram allowing for extraction of either amplitude or phase contrast, in a three-dimensional volume, without the need of fluorescent dye [11–18]. This is namely the case of DHM, which, coupled with data processing, allows reconstruction of a 3D complex volume from only one recording [19,20]. However, due to the fact that the complex field is reconstructed using a single 2D image, resolution along the light propagation axis is very limited [21].

Full 3D reconstruction has been demonstrated in the framework of Tomographic Diffractive Microscopy (TDM), which is an extension of DHM. In transmission regime, lateral resolution down to $\lambda/3.5NA$ has been demonstrated [13]. To achieve full 3D reconstruction, the investigated object is observed from several illumination directions. This can be done either by sequentially varying the illumination angle or by rotating the imaged sample [22–25]. However, both methods exhibit a lack of spatial frequencies, resulting in a resolution loss. One way to alleviate this issue is to combine illumination angle sweeping with sample rotation [26], allowing for improved isotropic resolution without sample labelling [18].

When axisymmetric samples are considered, acquiring the full set of tomographic acquisition is not mandatory, and 3D refractive index distribution reconstruction can be performed through a single acquisition [27]. It is hereby demonstrated that, considering axial symmetry of the sample, inverse Abel transform [28] allows for reconstructing 3D refractive index distribution from a single acquisition. This might be a method of choice for reducing data acquisition load [29], while keeping a true 3D reconstructed information. However, this method can only be applied to

either pure phase or pure amplitude objects, and does not account for diffraction, which limits its accuracy.

Based on the intrinsic capabilities of TDM, we propose a reconstruction framework, accounting for diffraction and allowing for complete 3D reconstruction of refractive index distribution from a single holographic or tomographic acquisition. We will first describe our TDM acquisition scheme. Then the proposed reconstruction methods are applied to simulated data when axisymmetric samples are considered. Robustness of the proposed methods is then discussed. Finally, benefits of the proposed schemes is applied on experimental data.

2. Tomographic diffractive microscopy principles

DHM allows for extraction of both amplitude and phase information either through spatial [30] or temporal phase [31,32] modulation/demodulation. TDM can be considered as an extension of DHM [33–35], allowing for a full control of the object illumination angle. A schematic view of our TDM configuration is given by Fig. 1.

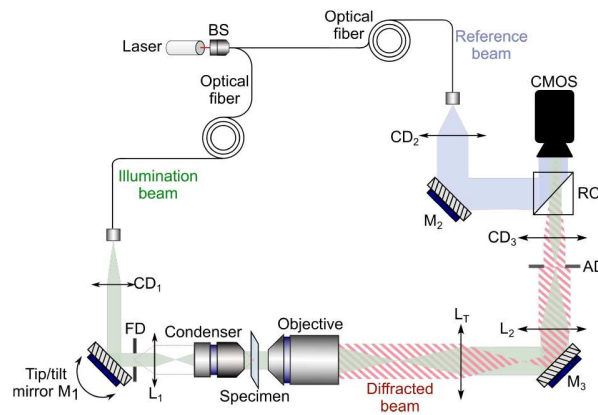


Fig. 1. Schematic representation of the TDM set-up. BS: beam splitter; CD₁, CD₂ and CD₃: collimating doublets; FD: field diaphragm; L₁: scanning lens; L_T: tube lens; AD: aperture diaphragm; RC: recombination cube; M₂ and M₃: mirrors. L₂ and CD₃ are used for sampling purposes.

The light source (475 nm DPSS B&W Tek BWB-475-10-OEM) is split into two beams with a fiber-based beam splitter. One beam is used as an interferometric reference (depicted in green in Fig. 1), while the other is used for the object illumination (in blue). Full control of the illumination beam is brought by the use of a fast tip/tilt mirror (Newport FSM-300). The illumination is then focalized using a $\times 100$ NA = 1.4 oil immersion Olympus objective as a condenser, and diffracted by the object (in red stripes). The diffracted wave is collected through the objective ($\times 100$ NA = 1.4 oil immersion Olympus), collimated using a tube lens, resized and filtered with a telecentric system. Finally, for each illumination angle, an interference pattern between the reference beam and the beam diffracted by the object is generated using a recombination cube and recorded onto a CMOS camera (PHF-MV1-D2048-96-G2 PhotonFocus). Typically, a tomographic acquisition consists in the recording of tens to hundreds of holograms, recorded at various illumination angles [13]. Then, amplitude and phase can be straightforwardly retrieved via spatial demodulation of the acquired hologram stack [30]. Under the first Born approximation, we have

$$\mathbf{k}_o = \mathbf{k}_d - \mathbf{k}_i \quad (1)$$

with \mathbf{k}_o the object vector potential, \mathbf{k}_i the illumination vector and \mathbf{k}_d the diffracted vector [34]. The light diffracted by the sample maps the Ewald sphere [35]. Light collection being realized

through a microscope objective with limited numerical aperture, only a cap of sphere is mapped, which radius is linked to the wavelength in the propagating medium. The aim of TDM is to collect a sufficient amount of caps so that the Fourier space is adequately filled [36].

Optical Transfer Functions (OTF) are presented Fig. 2 for DHM (Fig. 2(a)), TDM with illumination rotation (Fig. 2(b)), TDM with sample rotation (Fig. 2(c)) and TDM combining both approaches (Fig. 2(d)). For illumination rotation, spatial frequency extension along $k_{x,y}$ is doubled compared to classical holographic experiments. However, because of the so-called “missing cone”, no frequency along k_z can be captured [13,37]. In other words, axial resolution of TDM with illumination rotation is very limited. As noticed from Fig. 2(c), when sample rotation is considered, frequency content is degraded along the sample’s rotation axis (k_x frequency component in that case) [38]. Finally, by combining sample rotation with illumination rotation for each sample angular position, it is possible to obtain the OTF depicted Fig. 2(d). Here, 3D accessible resolution is isotropic [18,26]. From these constructed 3D spectra, the complex 3D information about the sample’s permittivity is obtained applying an inverse three-dimensional Fourier transform. Accuracy of the reconstruction and achievable resolution are therefore closely linked to the acquisition method (see Fig. 2). For instance, to obtain an accurate reconstruction considering illumination rotation tens to hundreds of acquisition are needed. Also, for sample rotation, several tens [24] to hundreds [39] rotation angles are needed. Moreover, quality of the reconstruction is highly dependent on the accuracy of the view to view registration. Combining both schemes leads to several hundreds of acquisition per sample angular position [18,40], which can become prohibitive for routine sample characterization.

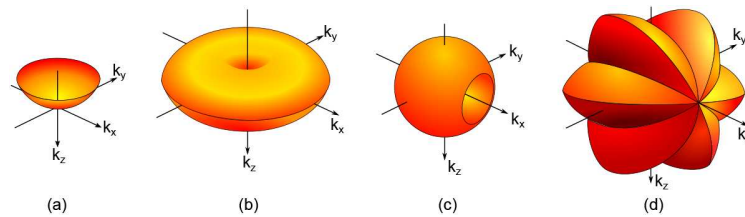


Fig. 2. (a) Optical Transfer Function (OTF) in a simple holographic transmission setup. (b) OTF in TDM with illumination rotation (note the “missing cone” along the optical axis). (c) OTF in TDM with sample rotation (note the “missing apple core” along k_x). (d) OTF for a combination of illumination and sample rotation approaches (0° , 60° and 120°).

This complicated characterization can be alleviated for certain classes of sample. In the next section, we consider the case of samples, which exhibit axial symmetry. Exploiting this symmetry permits to dramatically reduce the acquisition load.

3. Simplification of acquisition: application to axisymmetric samples

3.1. Limitation of the Abel inverse transform

As stated in Sec. 2, TDM can lead to an accurate reconstruction with an almost isotropic resolution. However, the higher the targeted image quality, the longer the acquisition time. In order to be able to use TDM for routine characterization, a trade-off between acquisition speed and resolution has to be considered. For certain classes of samples, we can reduce the amount of acquired holograms while maintaining the same resolution as for one complete TDM acquisition. For example, axial-symmetry coupled with an adapted reconstruction scheme allows for reconstructing 3D refractive index distribution from a unique holographic acquisition (for cylindrical samples) or a single tomographic acquisition (for axisymmetric samples but not invariant along their axis of symmetry).

Use of single shot interferometric techniques for reconstruction of 3D refractive index profiles have been discussed for example in [27]. The proposed method, based on the Abel transform and its inversion [28], has been successfully applied to the characterization of axisymmetric jets. It relies on the fact that, for a transparent sample with axial symmetry, and considering light propagation along z axis, the reconstructed phase $\varphi(x, y)$ is linked to the refractive index of the sample by the line integral

$$\varphi(x, y) = \int_{-z_0/2}^{z_0/2} \frac{2\pi}{\lambda} \Delta n(r, y) dz, \quad (2)$$

where $\Delta n(r, y)$ is the refractive index difference between the object index $n(r, y)$ and the immersion medium refractive index n_{im} , and z_0 is the thickness of the axisymmetric object. The radial coordinate r is defined by $r = \sqrt{x^2 + z^2}$. Integral presented Eq. (2) is the Abel transform linking the refractive index distribution $\Delta n(r, y)$ to the reconstructed phase $\varphi(x, y)$. From Eq. (2), it is possible to retrieve the 3D refractive index distribution calculating the inverse Abel transform of the reconstructed phase distribution $\varphi(x, y)$

$$n(r, y) = n_{\text{im}} + \frac{\lambda}{2\pi^2} \int_r^R \left[\frac{\partial \varphi(x, y)}{\partial x} \right] \frac{dx}{\sqrt{x^2 - r^2}}, \quad (3)$$

with R being an arbitrary maximal value for the radius r . Computing Eq. (3) makes it possible to retrieve 3D information about refractive index of the investigated sample. However, this method is limited to pure phase object, as absorption is not taken into account in the model. If one has to measure absorption only, an inverse transform based on the Beer-Lambert law can be used [41]. This approach has also been proven to be quite efficient with strongly refracting phase objects [42]. However, the main drawback is that these methods can only be used for either pure amplitude or pure phase phase objects, and do not account for diffraction, which prevents them for being used for microscopic samples presenting absorption and refraction properties.

3.2. Accounting for diffraction

In order to take benefit of axisymmetry while accounting for diffraction, we developed two alternative schemes, depicted in Fig. 3, which are based on a numerical rotation of data. For axisymmetric objects, spectral content of the acquired hologram (after spatial demodulation) maps a spherical cap in the 3D Fourier space (red cap in Fig. 3(a)). Therefore, only a limited portion of the object spectrum is acquired. Nevertheless, as in such case rotating the sample is mathematically equivalent to a rotation of its 3D Fourier spectrum, it is possible to retrieve a more complete information [43]. Doing so enables reconstruction of the spectrum that one would have obtained if a real physical sample rotation was realized (see Fig. 2(c)), with the main advantage of both simplifying acquisition process and reducing the acquisition time.

Based on the projection-slice theorem, the rotation equivalency can be mathematically written as (p. 37 in [44] and adapted to our 3D problem)

$$\text{FT}\{g(x', y', z')\} = G(f_x, f_y \cos \theta + f_z \sin \theta, -f_y \sin \theta + f_z \cos \theta), \quad (4)$$

where FT designates the Fourier Transform operation, g is the object function, G its Fourier transform, θ the rotation angle in relation to the x axis, (x', y', z') the rotated Cartesian coordinates and $(f_x, f_y, f_z) = (k_x, k_y, k_z)/2\pi$ the frequencies corresponding to the initial coordinates (x, y, z) . This equation corresponds to a rotation made in the Fourier space, hence we called this approach FINER (Fourier Image NumErical Rotation) method. It can be noticed that there exists a dual equation, which can be written as

$$G(f'_x, f'_y, f'_z) = \text{FT}\{g(x, y \cos \theta + z \sin \theta, -y \sin \theta + z \cos \theta)\}, \quad (5)$$

where (f'_x, f'_y, f'_z) are the frequencies rotated by the θ angle. It corresponds to a rotation made in the image space; we called this approach DINER (DHM Image NumErical Rotation) method.

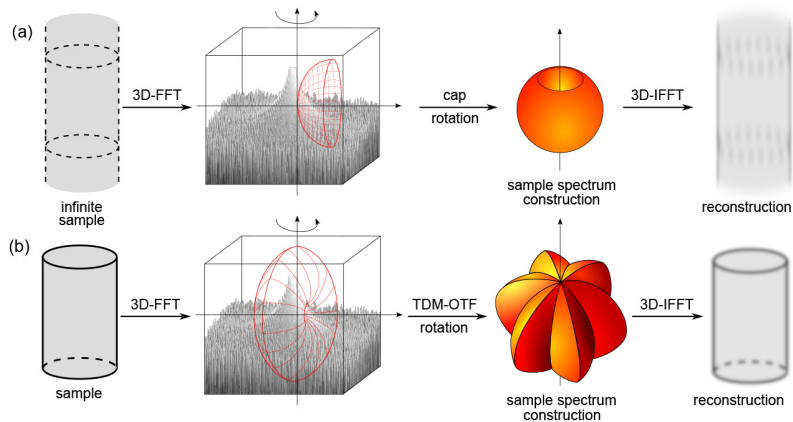


Fig. 3. Synoptics of the simulated data acquisition/reconstruction procedures of (a) FINER/DINER methods (applied to infinite samples) and (b) TINER/F-TINER method (applied to finite samples).

However, applying the numerical rotation of data (in either space) based on a single cap of sphere leads to a specific shape of the frequency support (Fig. 2(c)), displaying a typical lack of frequencies (“missing apple core”) along the rotation axis [38,45]. Hence, as depicted Fig. 3(b), a prior illumination rotation is performed, filling the Fourier space as in Fig. 2(b), thus allowing for better resolution along the rotation axis. This step is then followed by a numerical rotation of the support, as indicated in Fig. 2(d), so a resolution improvement along the k_z axis can be achieved. We called these approaches TINER (TDM Image NumERical Rotation, rotation in image space) and F-TINER (rotation in Fourier space) methods. In the next section, validations of these concepts are shown using simulations.

4. Simulations

We consider an illumination wavelength of $\lambda = 475$ nm, and a NA = 1.4 microscope objective for detection. In order to mimic experimental conditions, we chose a fiber with a core refractive index of $n_{co} = 1.45$ with a diameter of $1 \mu\text{m}$ and a cladding of $n_{cl} = 1.43$ of diameter $5 \mu\text{m}$, $10 \mu\text{m}$ long, immersed in oil with a matching refractive index of $n_{im} = 1.51$, and illuminated perpendicularly to the rotation axis.

4.1. 3D reconstructions

4.1.1. DHM reconstruction

Simulation of the holographic acquisition process can be realized by applying a mask, corresponding to the accessible frequency content, onto the Fourier transform of the object. The mask corresponding to a holographic experiment is depicted Fig. 4(a), limited to a 2D cut for the sake of simplicity. As we are here working in 2D only, the cap of sphere is actually limited to a circular arc. Our method, shown Fig. 4(b), aims at filling the Fourier space by digitally rotating the frequency support. The effect on Fourier space is illustrated Fig. 4(c) for nine rotation angles: the Fourier space is better mapped, anticipating a better object reconstruction. Hence, one can easily improve image quality considering more angles in the reconstruction process. Images were obtained by first performing a 3D-FFT on our simulated object. Then, considering the first Born approximation, a product is made between the object spectrum and the theoretical OTF using experimental conditions, i.e. numerical aperture, illumination wavelength, objectives immersion medium, magnification and CMOS pixel size. This step mimics the backpropagation approach,

which is mandatory in order to take into account the diffraction phenomena. A comparison with the (filtered-)backprojection algorithm has been discussed by Gorski *et al.* [46], concluding filtered-backprojection is not as accurate as backpropagation when the diffraction phenomena is taken into account. Finally, an inverse 3D-FFT is performed to retrieve the diffracted field.

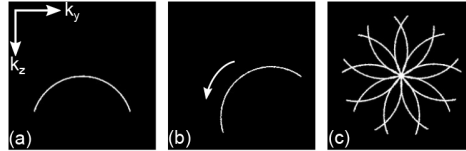


Fig. 4. (a) Accessible information in 2D Fourier space for DHM. (b) Digital rotation of the holographic circular arc. (c) Final frequency support merging nine digital rotations.

Results using both FINER and DINER reconstruction methods are displayed Fig. 5. Note that we used a special lookup-table that emphasizes artifacts. As expected by the theory, reconstruction in the DHM case shows very poor resolution in the three x , y and z directions due to its limited bandwidth (Fig. 5(a)) compared to ground truth shown Fig. 5(c),(g). It can also be noticed in Fig. 5(k),(l) a poor quantitative restitution of the refractive index of the cladding around 1.49.

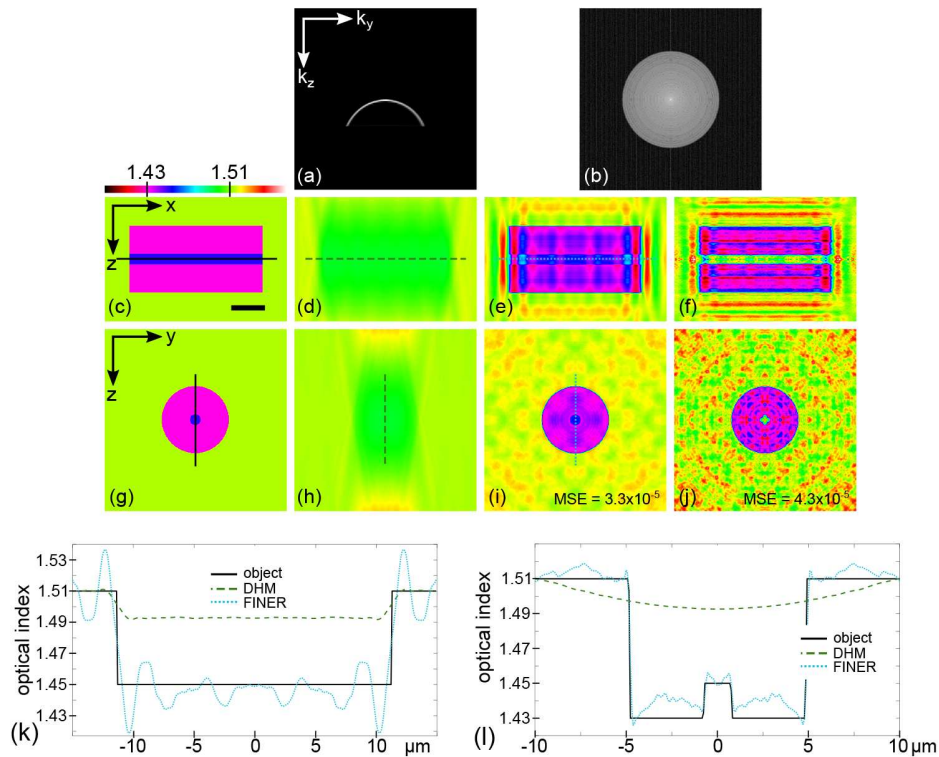


Fig. 5. Reconstruction of the simulated fiber in holography. (a) and (b) show the Fourier spectra corresponding to the images in the lower row. (c),(g) Simulated cylinder. (d),(h) Reconstruction in the DHM case. (e),(i) Reconstruction using FINER and (f),(j) DINER approach with 360 rotation angles. (k),(l) Profiles of $(y-z)$ and $(x-z)$ cross sections respectively. Color bar: real part of the refractive index. Scale bar: $2.5 \mu\text{m}$.

For FINER and DINER reconstructions (Fig. 5(e),(i) and (f),(j) respectively), resolution is closer to that of the simulated object thanks to the frequency spectrum enlargement seen in Fig. 5(b). Contrary to the DHM case, a resolution improvement is clearly visible along the z axis, as well as a perfectly circular shape of the fiber. Quantitatively, it also better matches the expected values of core and cladding of the fiber. In order to discriminate quality reconstruction of both methods, mean squared error has been calculated: the FINER approach leads to a MSE of 3.3×10^{-5} while the DINER one leads to 4.3×10^{-5} . Furthermore, while FINER uses only two 3D-FFT (one at the beginning and one at the end to reconstruct the object after the rotation process), DINER uses $2N$ 3D-FFT for N rotation angles (one forward to get the spectrum and one backward to reconstruct the object for each angle). Hence, the FINER approach is more appropriate for that task, being more accurate and faster than the DINER method. However, one can see large oscillations in the fiber and in the immersion medium: this is an effect of the “missing apple core”, which is discussed in section 2.

Thus, a simple numerical rotation of a DHM image might not be enough to reconstruct smaller objects or sharp edges. For that purpose, *i.e.* retrieving higher frequencies as well as frequencies in the so-called “missing apple core” [38], we propose to apply DINER and TINER techniques to TDM with illumination rotation images.

4.1.2. TDM reconstructions

If one wants to reconstruct the sample more precisely than with FINER/DINER methods, TDM images can be used as a basis in the rotation process. In that case, a prior illumination rotation has to be performed so as to record the typical OTF shape seen in Fig. 2(b). Reconstruction results in this configuration with corresponding Fourier space sections (k_y-k_z) are shown in Fig. 6. Figures 6(e),(j) represent the sagittal and transversal cuts of the simulated object, respectively. In order to compare the obtained results, we also show the reconstructions in DHM (Fig. 6(a),(f) and (k)) and with FINER method (Fig. 6(b),(g) and (l)).

Figures 6(h),(m) show the reconstruction obtained in TDM with illumination rotation, and its corresponding spectrum Fig. 6(c). One can see the improved resolution along the x and y axes compared to Figs. 6(f),(k) due to the extended frequency spectrum along the respective k_x, k_y frequency axes. However, even with such a frequency filling, we can still notice a limited resolution due to the so-called “missing cone”, best seen in the sagittal view, which does not show the circular shape of the fiber. One can assess reconstruction quality looking at the plotted profiles in Figs. 6(o),(p). Even if TDM does not show oscillations as large as with the FINER method, the three approaches display non fitting values of refractive indices due to their lost frequencies, coming from the very limited bandwidth (for DHM), the so-called “missing apple core” (for FINER) or “missing cone” (for TDM). Figures 6(i),(n) display the reconstruction images obtained using F-TINER approach for two rotation angles (0° and 90°). The corresponding spectrum in Fig. 6(d) shows an identical space filling along the three perpendicular directions k_x, k_y and k_z . A clear resolution improvement can also be seen, especially in the sagittal view, displaying an almost perfectly circular shape of the cylinder contrary to a single illumination rotation reconstruction. Also, the exact values of 1.45 and 1.43 for the average cladding and core optical indexes are retrieved.

Another example of application of the proposed methods is presented in Fig. 7, comparing reconstructions with FINER, illumination rotation and F-TINER methods (from left to right). The sample (Fig. 7(a)) consists of a bead attached to an optical fiber [47]. While Fig. 7(b) displays a good resolution in x direction as in Fig. 7(c), it shows a lack of resolution along the y axis, compared to the illumination rotation method. Also, one can notice oscillations in the x direction due to the “missing apple core” effect as discussed in the previous sections. Finally, a numerical rotation with F-TINER (Fig. 7(d)) allows for an excellent reconstruction, both in terms of shape and refraction index homogeneity.

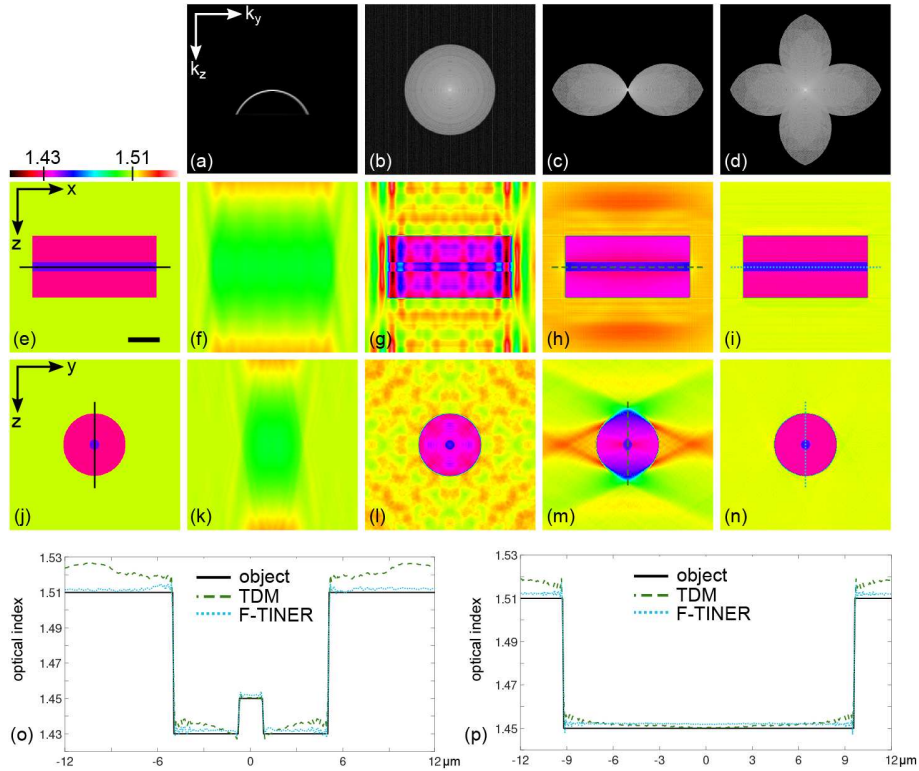


Fig. 6. Reconstruction of the simulated fiber in tomography. (a)–(d) show the Fourier spectra corresponding to the images in the lower row. (e),(j) Simulated cylinder. (f),(k) Reconstruction in DHM. (g),(i) Reconstruction using FINER method. (h),(m) Reconstruction in TDM with illumination rotation (600 angles). (i),(n) Reconstruction using F-TINER approach with two rotation angles (0° and 90°). (o),(p) Profiles of (x - y) and (x - z) cross sections respectively. Color bar: real part of the refractive index. Scale bar: $2.5 \mu\text{m}$.

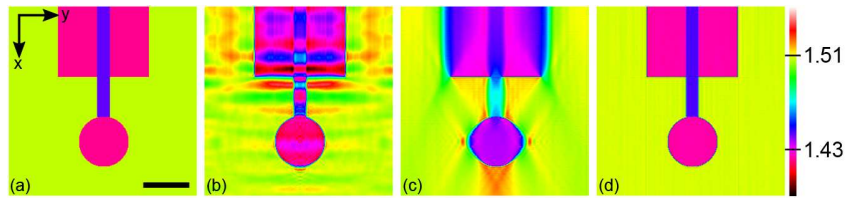


Fig. 7. Reconstruction of a simulated bead attached to an optical fiber. (a) Simulated object. (b) FINER method. (c) TDM with illumination rotation. (d) F-TINER method. Scale bar: $2.5 \mu\text{m}$.

4.1.3. Number of acquisitions leveraging

A drawback of TDM is the necessity to acquire many views. An advantage of the proposed methods is that Fourier space filling is also performed numerically, which can compensate lower filling by physical acquisitions. To illustrate this feature, we investigate whether it is better to have a lot of illumination angles and a few numerical rotation of data, or a few illumination angles and a lot of numerical rotation of data. Hence, we compared two cases, both based on a total of 600 angles: the first one is with 300 illumination angles and only 2 numerical rotations of data, the second one with 100 illumination angles and 6 numerical rotations of data. Results are shown in Fig. 8.

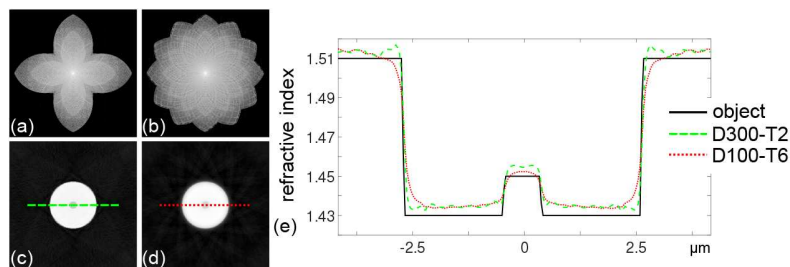


Fig. 8. Top row: Fourier space. Bottom row: sagittal cut. (a),(c) D300-T2: 300 illuminations angles donut-shaped spectrum numerically rotated twice using F-TINER method. (b),(d) D100-T6. (e) Plotted profiles. Scale bar: 2.5 μm .

The first case results (called D300-T2) are displayed Fig. 8(a) for the spectrum spectrum and Fig. 8(c) for the corresponding sample reconstruction. Figure 8(b) depicts the spectrum reconstruction obtained with the second case (called D100-T6), for 100 illumination angles, which would correspond to a speed-up of a factor 3 in the acquisition process, compensated by 6 F-TINER rotations, only limited by computer speed. Fig. 8(e) shows reconstruction profiles: despite strong decrease in the quantity of original TDM data, final reconstructions are of almost same accuracy. One could even further decrease the number of acquisitions if using more elaborate iterative reconstruction methods, but those, as Abel inversion, often make restrictive assumptions such as non-absorbing samples, or involve positivity constraints [48]. These results show that F-TINER can also help decreasing the number of acquisitions necessary for precise image reconstructions, but such optimizations are often specimen-dependent, so would require detailed-, case-by-case investigations.

4.2. Robustness

In this section, we study the robustness of the numerical rotation, considering first the effect of noise on the reconstructions, then the case of an inclusion in the sample.

4.2.1. Noise influence

For this study, we examine the effect of noise only on a sagittal view of the sample. In that case, we only consider phase noise one would have obtain with a DHM acquisition. Other noise sources like speckle noise or shot noise are not relevant for our system because of their respective origins:

- (a) speckle noise depends on the beam apparent angle on the sample and the illumination wavelength. In our setup, as we work with a 475 nm laser source and a $\times 120$ magnification system, the speckle grain size appears to be bigger than the field of view (about $45 \mu\text{m} \times 45 \mu\text{m}$);

(b) a strong advantage of TDM is that one can work with strong signals and high dynamics, contrary to other microscopy imaging modalities (fluorescence for example). As a consequence, shot noise does not need to be considered in our tomographic setup. As a matter of fact, its effect is well below that of the other noise sources.

We first apply a white Gaussian noise with a standard deviation σ of 10% of the minimal index variation of the object, *i.e.* between the core (optical index 1.45) and the cladding (1.43): $\sigma = \Delta n_{\min} \times 10\% = 0.002$ (Fig. 9(a)). This noisy image, for a given standard deviation, is used as a basis for every following reconstructions, as theoretically only one holographic acquisition is performed. Hence, even with a limited bandwidth, all the frequencies are equally affected by the white noise. Then, both Fourier and DHM image rotations are performed, which results are displayed in Figs. 9(b) and (c). Respective profiles are plotted in Fig. 9(d). Both reconstruction methods show good results, being robust to noise. This can be explained as follow: numerically rotating and merging of the data induces circular arcs to overlap in Fourier space (see Fig. 4(c)), generating frequency redundancy; information is then averaged, reducing the noise effect on the reconstructions.

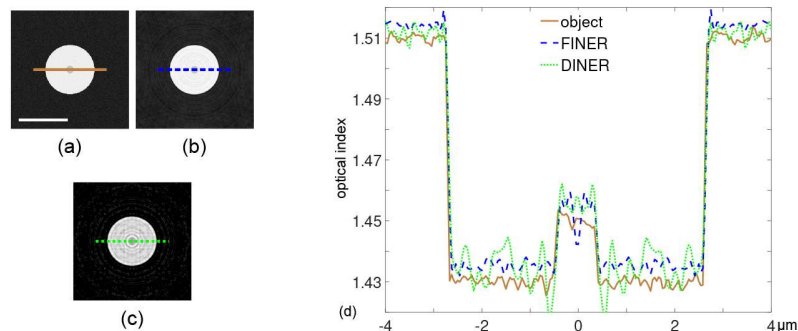


Fig. 9. Noise effect on reconstructions. (a) Cylinder with white Gaussian noise of $\sigma = 10\%$ of the global value range. Reconstructions using (b) FINER and (c) DINER methods for 360 angles of rotation. (d) Respective profiles. Scale bar: 5 μm .

In order to obtain a more quantitative information of the effect of noise in the reconstructed images, we investigated the signal-to-noise ratio (SNR) as a function of the number of rotation angles. For this purpose, six different Gaussian noise levels are applied on the simulated object, defined by their standard deviation in percentage of minimum range value, going from 1% to 30% of Δn_{\min} . Then, a DHM image is generated, which serves as a basis: for every number of rotation angles, reconstructions are obtained by rotation of the DHM image in Fourier space as with the FINER method. Results are depicted Fig. 10 in decibels, in logarithmic scale.

One can see two parts in the SNR graph. The first part, going from 1 (DHM) to 10 rotation angles, shows a decreasing function: this might come from the low number of rotated caps of sphere, which does not allow for a proper frequency averaging. The second part, starting from about 10 rotation angles and displaying an increasing SNR, shows that, in order to have a SNR close to DHM reconstruction one, at least 45 rotation angles are necessary. For 180 angles, SNR for a $\sigma = 5\%$ rises up to 61 dB whereas it is only at 55 dB for $\sigma = 30\%$. Also, one can notice that the more reconstruction angles are considered, the higher the SNR (at least until 180 rotation angles), thanks to the averaging of frequencies in Fourier space. For example, for a standard deviation of $\sigma = 10\%$ and 180 rotation angles, SNR stands at 60 dB, while for 10 angles it is around 47 dB.

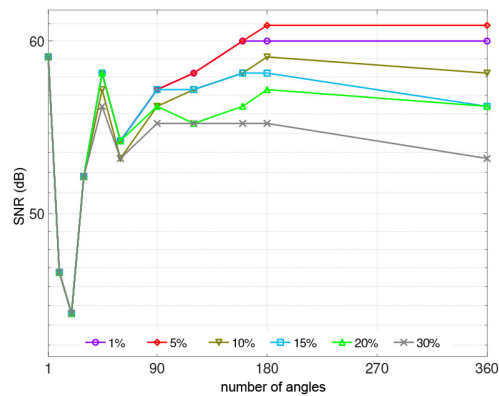


Fig. 10. Logarithmic representation of SNR in dB as a function of the number of rotation angles for different values of standard deviation.

4.2.2. Reconstruction with inclusions

In order to test the numerical rotation robustness onto more realistic samples, we added a defect in the simulated object, consisting in an inclusion of 500 nm and of optical index 1.51, like the immersion medium index. Results using both FINER and DINER methods are displayed Fig. 11.

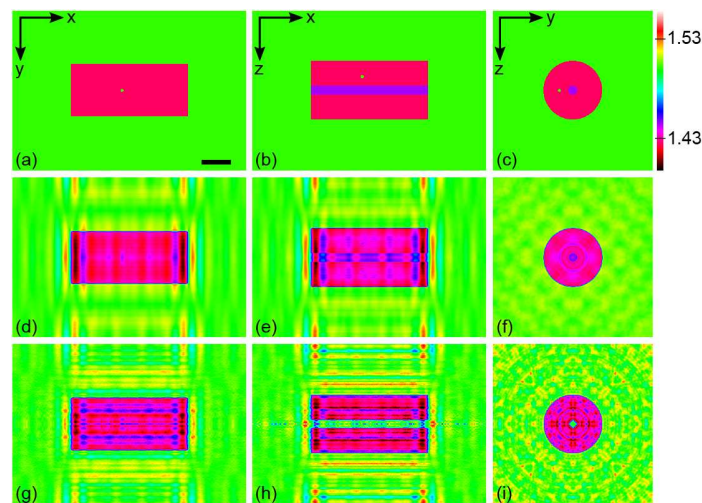


Fig. 11. Reconstruction of the sample presenting a defect of refractive index 1.51. (a)–(c) Simulated object. (d)–(f) Reconstruction with FINER approach. (g)–(i) Reconstruction with DINER approach. Color bar: refractive index. Scale bar: 2.5 μm.

For both reconstruction approaches, the inclusion is smeared out as an annular structure around the fiber core, with a diameter corresponding to the initial distance between the defect and the core, as expected from the proposed methods, which consist in rotating available data. However, the inclusion is less visible with both methods. It can be explained by two factors:

- not all inclusion frequencies might have been recorded when simulating a DHM acquisition due to the limited numerical aperture of the objectives;

- the frequency averaging in the Fourier space, as already observed with the noise effect in the previous part, which smears out the defect.

The main drawback of this technique is inherent to the numerical rotation itself: if a defect is too big compared to the initial sample, it will be considered as a distinct object. As we rotate the information, it will therefore propagate over the whole space, leading to an incorrect reconstruction. If needed, this could be counteracted using *a priori* information on the sample or inpainting techniques [49], but also indicates that such larger defects could be detected as unexpected structures, then triggering a more detailed investigation, with physical rotation of the sample, as in [18].

In conclusion, we showed the proposed methods are robust to strong noise and strongly diffracting small defects, especially with the FINER approach, which is an advantage in diffraction tomography compared to other methods such as Abel inverse transform.

5. Application to experimental data

In order to validate the proposed approach for practical cases, we apply the numerical reconstruction to experimental data. For this purpose a stretched optical fiber is used, having a very sharp tip of about 1 μm long on one end (obtained by the heat-and-pull technique [50], which can produce tips with end diameter of less than 100 nm [18]). It is illuminated by a 475 nm wavelength laser, and the diffracted field is collected using a $\times 100$ magnification and 1.4 numerical aperture oil immersion objective. Reconstructions are made in the Rytov approximation [51]. A stepper motor controls the rotation of the specimen. Results are displayed Fig. 12.

Figures 12(a)–(f) show lateral (x – y), axial (x – z) and sagittal (y – z) planes of the optical fiber obtained in illumination rotation TDM with no sample rotation and with a 4-angles specimen rotation respectively (0° , 54° , 90° and 126° – for more details about data acquisition, see [18]). The estimated resolution in Fig. 12(a) is 95 nm in (x – y) plane for a single TDM acquisition. After four TDM data registration, the obtained resolution is almost isotropic, at 150 nm in (x – y) plane and 180 nm in (x – z) plane, thanks to the better filling of the Fourier space [18]. This improvement allows to see the tip of the fiber indicated with a white arrow. The difference in resolutions is due to residual mismatches during the registration process, which is not perfect. This effect, combined with the limited number of angles used for the reconstruction, can be seen in the sagittal view where the shape of the fiber is not perfectly circular.

In Figs. 12(g)–(i) are shown the reconstructions using the numerical rotation of data, as in the TINER method, with the same 4 angles. One can see a dramatic improvement in image quality in both (x – y) and (x – z) planes. But contrary to physical rotation of the sample, our method easily allows for considering more rotations, providing better reconstruction, as can be seen in Figs. 12(j)–(l), displaying the reconstructed object using 20 rotation angles. The fiber is now reconstructed as circular (Fig. 12(l)). Finally, reconstruction quality can be assessed by looking at the normalized optical index shown in Fig. 12(m). A higher number of rotation angles allows for a better reconstruction, closer to the expected values if a physical rotation of the fiber was made, compared to TDM with no sample rotation.

However, one can see residual artifacts in the middle of the fiber of Figs. 12(g), (h), (j) and (k), depicted by a double red arrow. For our sample, it coincides with the fiber tip, which image is then degraded. This noise artifact is common in TDM, while it does not occur in other tomographic imaging fields. When considering full TDM acquisition with illumination scanning, artifacts present in the reference beam arm are coherently summed for each acquired image. This lead to a very noisy plane at the center of the reconstructed volume. This effect has been pointed out by Kostencka [52]. Moreover, in a classical TDM acquisition the imaged object is brought into focus prior recording (this step is mandatory to maintain the acquisition resolution). Thus, the central plane of the reconstructed object coincides with the noisy plane. One solution is to slightly defocus the object before the acquisition and the object's image is then numerically brought back

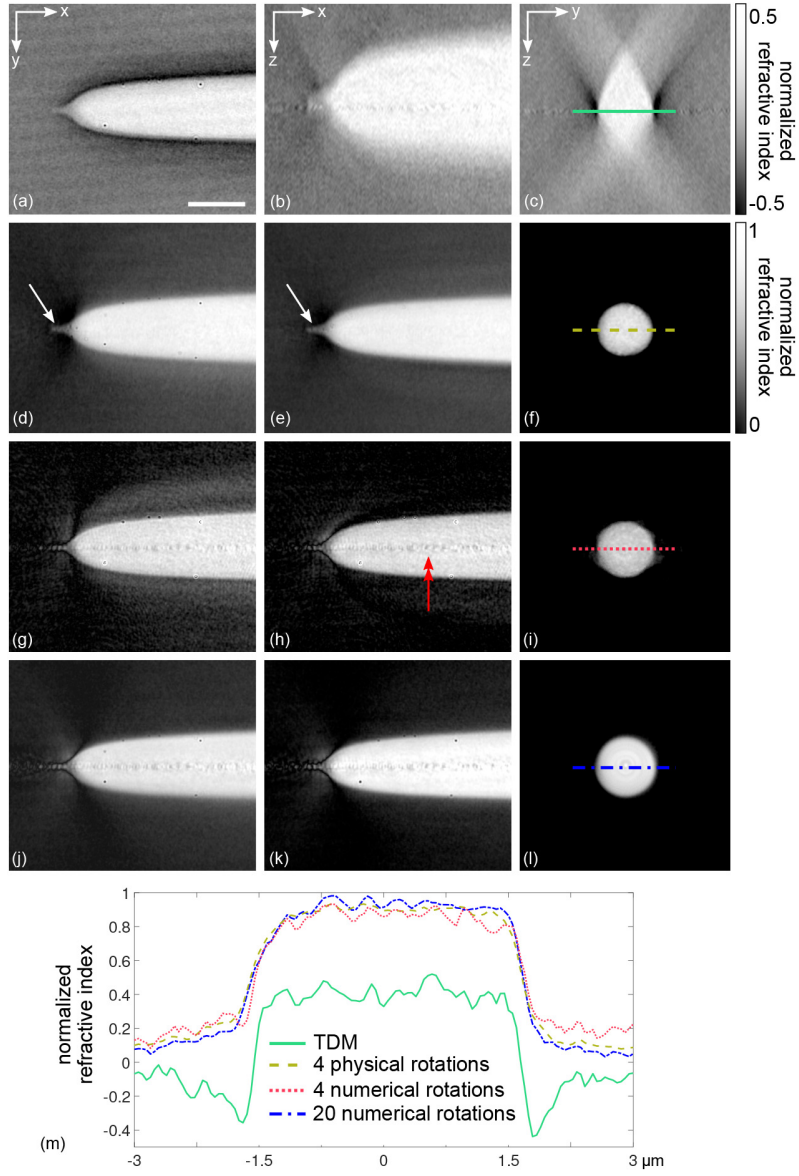


Fig. 12. Lateral (left), axial (center) and sagittal (right) views of a stretched optical fiber reconstructed in the Rytov approximation using TDM. (a)–(c) Reconstruction in TDM with illumination rotation without sample rotation. (d)–(f) 4-angles physical rotation (0° , 54° , 90° and 126°). (g)–(i) 4-angles numerical rotation with the same 4 angles using TINER method. (j)–(l) 20-angles numerical rotation. (m) Plotted profiles. Scale bar: $3\ \mu\text{m}$.

to focus in the reconstruction. The same effect is noticeable with our method. However, as we rotate one tomographic acquisition, this noisy plane becomes a noisy line, corresponding to the symmetry axis of the sample. Two solutions can be found to this problem. As above, starting with a defocused acquisition, and alternately, as only a single line is corrupted by this noise, one could remove it by image processing approaches. This effect is clearly detrimental on the reconstruction of the microtip at the end of the tapered fiber, which is better seen Figs. 12(d),(e) (physical rotation of the fiber) than on Figs. 12(j),(k) (numerical rotation of data). This is however a very specific drawback of our sample, which smallest structure coincides with the axis of symmetry. On the contrary, the advantage of our approach clearly appears when measuring the global shape of the object, which is much better reconstructed, as seen in Fig. 12(m).

6. Conclusion

We propose four reconstruction methods in TDM, applicable to specific samples exhibiting cylindrical symmetry. These approaches allow for a simplification of the acquisition process and a reduction of the acquisition time. Compared to the Abel inverse transform, our methods takes into account diffraction. For cylindrical samples (invariant along the rotation axis), we show the feasibility of the numerical rotation of an holographic spectrum in Fourier space, or by rotating the holographic image recorded with a conventional DHM. However, this method is less efficient for axisymmetric samples (not invariant along the rotation axis) because of the “missing apple core” present in the OTF recorded in TDM with sample rotation. For such objects, one has to proceed to one TDM acquisition with illumination rotation first, in order to have a good resolution along the rotation axis. Then this spectrum is numerically rotated so as to enhance resolution along the optical axis. We show this last method to work on both simulated and experimental data.

This approach could have applications to study various natural (for example spider silk fibers [53]) as well as artificial samples (functionalized nano/microfibers [54], Taylor cones and cone jet bridges [55,56], textile fibers, 3D imaging of glass micro-capillary [57], nanopipettes [58], droplets levitation [59] and spreading [60], and polymer fiber tip fabrication [47,61]). Indeed, for spherical samples such as droplets or cylindrical samples such as fibers, inverse problem approaches deliver unsurpassed results in terms of measurements’ accuracy [62,63]. They are however often used to precise determination of few parameters about the sample (its diameter for example), while making very strong assumptions about its shape (spherical, cylindrical, ellipsoidal), and its index of refraction (usually being homogeneous). Our approach is less precise in terms of measurements’ accuracy, but leverage hypotheses about the sample, only assuming axisymmetry. But our techniques could also be used in conjunction with inverse problem approaches in holography [64] and tomography [65,66], to further improve image quality, and also has the advantage that it could be readily used by interested readers, whether willing to develop their own DHM/TDM microscopes, or using commercially available ones.

Funding

Région Grand-Est (544/15/C13); Agence Nationale de la Recherche (ANR) (ANR-11-JS10-0003 OSIRIS).

Acknowledgments

We acknowledge financial support from Région Grand Est for Ludovic Foucault PhD fellowship under grant n° 544/15/C13 and Agence Nationale de la Recherche (ANR) (ANR-11-JS10-0003 OSIRIS). We thank both anonymous reviewers for their helpful remarks and comments to improve the paper.

References

1. K. Nenadic, I. Novak, J. Job, F. Jovic, and Z. Jagnjic, "A Possibility of Applying Differential Digital Holography in Manufacturing Process," in *Proceedings ELMAR 2006* (IEEE, Zadar, 2006).
2. A. Simic, H. Freiheit, M. Agour, C. Falldorf, and R. B. Bergmann, "In-line quality control of micro parts using digital holography," in *Proceedings SPIE 10233* (SPIE, Prague, 2017).
3. N. Gisin, R. Passy, and B. Perny, "Optical fiber characterization by simultaneous measurement of the transmitted and refracted near field," *J. Lightwave Technol.* **11**(11), 1875–1883 (1993).
4. T. C. Wedberg and W. C. Wedberg, "Tomographic reconstruction of the cross-sectional refractive index distribution in semi-transparent, birefringent fibres," *J. Microsc.* **177**(1), 53–67 (1995).
5. M. Young, "Mode-field diameter of single-mode optical fiber by far-field scanning," *Appl. Opt.* **37**(24), 5605–5619 (1998).
6. X. Buet, C. Brun, J. Gâteau, B. Bresson, S. R. Sandoghchi, E. N. Fokoua, M. Petrovich, F. Poletti, D. Richardson, D. Vandembroucq, and G. Tessier, "Nondestructive measurement of the roughness of the inner surface of hollow core-photonic bandgap fibers," *Opt. Lett.* **41**(21), 5086–5089 (2016).
7. M. Malek, H. Khelfa, P. Picart, D. Mounier, and C. Poilâne, "Microtomography imaging of an isolated plant fiber: a digital holographic approach," *Appl. Opt.* **55**(3), A111–A121 (2016).
8. Y. Bao and T. K. Gaylord, "Iterative optimization in tomographic deconvolution phase microscopy," *J. Opt. Soc. Am. A* **35**(4), 652–660 (2018).
9. T. Sokkar, K. El-Farahaty, W. Ramadan, H. Wahba, M. Raslan, and A. Hamza, "Nonray-tracing determination of the 3d refractive index profile of polymeric fibres using single-frame computed tomography and digital holographic interferometric technique," *J. Microsc.* **257**(3), 208–216 (2015).
10. M. H. Jenkins and T. K. Gaylord, "Three-dimensional quantitative phase imaging via tomographic deconvolution phase microscopy," *Appl. Opt.* **54**(31), 9213–9227 (2015).
11. B. Kemper, S. Kosmeier, P. Langehanenberg, G. von Bally, I. Bredebusch, W. Domschke, and J. Schnekenburger, "Integral refractive index determination of living suspension cells by multifocus digital holographic phase contrast microscopy," *J. Biomed. Opt.* **12**(5), 054009 (2007).
12. L. Martínez-León and B. Javidi, "Synthetic aperture single-exposure on-axis digital holography," *Opt. Express* **16**(1), 161–169 (2008).
13. M. Debailleul, V. Georges, B. Simon, R. Morin, and O. Haeberlé, "High-resolution three-dimensional tomographic diffractive microscopy of transparent inorganic and biological samples," *Opt. Lett.* **34**(1), 79–81 (2009).
14. R. Fiolka, K. Wicker, R. Heintzmann, and A. Stemmer, "Simplified approach to diffraction tomography in optical microscopy," *Opt. Express* **17**(15), 12407–12417 (2009).
15. Y. Cotte, F. Toy, P. Jourdain, N. Pavillon, D. Boss, P. Magistretti, P. Marquet, and C. Depeursinge, "Marker-free phase nanoscopy," *Nat. Photonics* **7**(2), 113–117 (2013).
16. T. D. Yang, H.-J. Kim, K. J. Lee, B.-M. Kim, and Y. Choi, "Single-shot and phase-shifting digital holographic microscopy using a 2-D grating," *Opt. Express* **24**(9), 9480–9488 (2016).
17. J. Li, Q. Chen, J. Zhang, Z. Zhang, Y. Zhang, and C. Zuo, "Optical diffraction tomography microscopy with transport of intensity equation using a light-emitting diode array," *Opt. Lasers Eng.* **95**, 26–34 (2017).
18. B. Simon, M. Debailleul, M. Houkal, C. Ecoffet, J. Bailleul, J. Lambert, A. Spangenberg, H. Liu, O. Soppera, and O. Haeberlé, "Tomographic diffractive microscopy with isotropic resolution," *Optica* **4**(4), 460–463 (2017).
19. U. Schnars and W. P. O. Jüptner, "Digital recording and numerical reconstruction of holograms," *Meas. Sci. Technol.* **13**(9), R85–R101 (2002).
20. N. Verrier and M. Atlan, "Off-axis digital hologram reconstruction: some practical considerations," *Appl. Opt.* **50**(34), H136–H146 (2011).
21. M. Debailleul, B. Simon, V. Georges, O. Haeberlé, and V. Lauer, "Holographic microscopy and diffractive microtomography of transparent samples," *Meas. Sci. Technol.* **19**(7), 074009 (2008).
22. W. Choi, C. Fang-Yen, K. Badizadegan, S. Oh, N. Lue, R. R. Dasari, and M. S. Feld, "Tomographic phase microscopy," *Nat. Methods* **4**(9), 717–719 (2007).
23. K. Lee, K. Kim, J. Jung, J. Heo, S. Cho, S. Lee, G. Chang, Y. Jo, H. Park, and Y. Park, "Quantitative Phase Imaging Techniques for the Study of Cell Pathophysiology: From Principles to Applications," *Sensors* **13**(4), 4170–4191 (2013).
24. M. Habaza, B. Gilboa, Y. Roichman, and N. T. Shaked, "Tomographic phase microscopy with 180° rotation of live cells in suspension by holographic optical tweezers," *Opt. Lett.* **40**(8), 1881–1884 (2015).
25. Y. Park, C. Depeursinge, and G. Popescu, "Quantitative phase imaging in biomedicine," *Nat. Photonics* **12**(10), 578–589 (2018).
26. S. Vertu, J. Flügge, J.-J. Delaunay, and O. Haeberlé, "Improved and isotropic resolution in tomographic diffractive microscopy combining sample and illumination rotation," *Cent. Eur. J. Phys.* **9**(4), 969–974 (2011).
27. T. Fukuda, Y. Wang, P. Xia, Y. Awatsuji, T. Kakue, K. Nishio, and O. Matoba, "Three-dimensional imaging of distribution of refractive index by parallel phase-shifting digital holography using Abel inversion," *Opt. Express* **25**(15), 18066–18071 (2017).
28. N. Abel, "Auflösung einer mechanischen Aufgabe," *J. für die reine und angewandte Math. (Crelles Journal)* **1826**(1), 153–157 (1826).

29. J. Bailleul, B. Simon, M. Debailleul, L. Foucault, N. Verrier, and O. Haeberlé, "Tomographic diffractive microscopy: Towards high-resolution 3-D real-time data acquisition, image reconstruction and display of unlabeled samples," *Opt. Commun.* **422**, 28–37 (2018).
30. E. Cuhe, P. Marquet, and C. Depeursinge, "Spatial filtering for zero-order and twin-image elimination in digital off-axis holography," *Appl. Opt.* **39**(23), 4070–4075 (2000).
31. I. Yamaguchi and T. Zhang, "Phase-shifting digital holography," *Opt. Lett.* **22**(16), 1268–1270 (1997).
32. M. Atlan, M. Gross, and E. Absil, "Accurate phase-shifting digital interferometry," *Opt. Lett.* **32**(11), 1456–1458 (2007).
33. E. N. Leith and J. Upatnieks, "Reconstructed Wavefronts and Communication Theory," *J. Opt. Soc. Am.* **52**(10), 1123–1130 (1962).
34. M. Born and E. Wolf, *Principles of optics - Electromagnetic theory of propagation, interference and diffraction of light* (Cambridge University Press, 1999), 7th ed.
35. E. Wolf, "Three-dimensional structure determination of semi-transparent objects from holographic data," *Opt. Commun.* **1**(4), 153–156 (1969).
36. O. Haeberlé, K. Belkebir, H. Giovaninni, and A. Sentenac, "Tomographic diffractive microscopy: basics, techniques and perspectives," *J. Mod. Opt.* **57**(9), 686–699 (2010).
37. V. Lauer, "New approach to optical diffraction tomography yielding a vector equation of diffraction tomography and a novel tomographic microscope," *J. Microsc.* **205**(2), 165–176 (2002).
38. S. Vertu, J.-J. Delaunay, I. Yamada, and O. Haeberlé, "Diffraction microtomography with sample rotation: influence of a missing apple core in the recorded frequency space," *Cent. Eur. J. Phys.* **7**(1), 22–31 (2009).
39. A. Kus, M. Dudek, B. Kemper, M. Kujawinska, and A. Vollmer, "Tomographic phase microscopy of living three-dimensional cell cultures," *J. Biomed. Opt.* **19**(4), 046009 (2014).
40. B. Vinoth, X.-J. Lai, Y.-C. Lin, H.-Y. Tu, and C.-J. Cheng, "Integrated dual-tomography for refractive index analysis of free-floating single living cell with isotropic superresolution," *Sci. Rep.* **8**(1), 5943 (2018).
41. C. Wei, D. I. Pineda, C. S. Goldenstein, and R. M. Spearrin, "Tomographic laser absorption imaging of combustion species and temperature in the mid-wave infrared," *Opt. Express* **26**(16), 20944–20951 (2018).
42. C. M. Vest, "Interferometry of strongly refracting axisymmetric phase objects," *Appl. Opt.* **14**(7), 1601–1606 (1975).
43. Z. Pan, S. Li, and J. Zhong, "Digital holographic microtomography for geometric parameter measurement of optical fiber," *Opt. Eng.* **52**(3), 035801 (2013).
44. J. W. Goodman, *Introduction to Fourier optics* (W.H. Freeman, Macmillan Learning, 2017), 4th ed.
45. A. T. Vouldis, C. N. Kechribaris, T. A. Maniatis, K. S. Nikita, and N. K. Uzunoglu, "Investigating the enhancement of three-dimensional diffraction tomography by using multiple illumination planes," *J. Opt. Soc. Am. A* **22**(7), 1251–1262 (2005).
46. W. Gorski and W. Osten, "Tomographic imaging of photonic crystal fibers," *Opt. Lett.* **32**(14), 1977–1979 (2007).
47. S. Jradi, O. Soppera, D. J. Lougnot, R. Bachelot, and P. Royer, "Tailoring the geometry of polymer tips on the end of optical fibers via control of physico-chemical parameters," *Opt. Mater.* **31**(4), 640–646 (2009).
48. K. Kim, K. S. Kim, H. Park, J. C. Ye, and Y. Park, "Real-time visualization of 3-D dynamic microscopic objects using optical diffraction tomography," *Opt. Express* **21**(26), 32269–32278 (2013).
49. H. Xia, S. Montesor, R. Guo, J. Li, F. Olchewsky, J.-M. Desse, and P. Picart, "Robust processing of phase dislocations based on combined unwrapping and inpainting approaches," *Opt. Lett.* **42**(2), 322–325 (2017).
50. M. Xiao, J. Nieto, J. Siqueiros, and R. Machorro, "Simple device for making optical fiber tips for scanning near field optical microscopes," *Rev. Sci. Instrum.* **68**(7), 2787–2789 (1997).
51. S. Caorsi, A. Massa, and M. Pastorino, "Rytov approximation: application to scattering by two-dimensional weakly nonlinear dielectrics," *J. Opt. Soc. Am. A* **13**(3), 509–516 (1996).
52. J. Kostencka, T. Kozacki, M. Dudek, and M. Kujawińska, "Noise suppressed optical diffraction tomography with autofocus correction," *Opt. Express* **22**(5), 5731–5745 (2014).
53. J. G. Hardy, L. M. Römer, and T. R. Scheibel, "Polymeric materials based on silk proteins," *Polymer* **49**(20), 4309–4327 (2008).
54. S. Ubaid, F. Liao, S. Linghu, J. Yu, and F. Gu, "Electrospun polymer bottle microresonators for stretchable single-mode lasing devices," *Opt. Lett.* **43**(13), 3128–3131 (2018).
55. I. G. Loscertales, "Micro/Nano Encapsulation via Electrified Coaxial Liquid Jets," *Science* **295**(5560), 1695–1698 (2002).
56. F. Liu and C.-H. Chen, "Electrohydrodynamic cone-jet bridges: Stability diagram and operating modes," *J. Electrostat.* **72**(4), 330–335 (2014).
57. C. Macias-Romero, I. Nahalka, H. I. Okur, and S. Roke, "Optical imaging of surface chemistry and dynamics in confinement," *Science* **357**(6353), 784–788 (2017).
58. S. Hennig, S. van de Linde, M. Lummer, M. Simonis, T. Huser, and M. Sauer, "Instant Live-Cell Super-Resolution Imaging of Cellular Structures by Nanoinjection of Fluorescent Probes," *Nano Lett.* **15**(2), 1374–1381 (2015).
59. V. Contreras, R. Valencia, J. Peralta, H. Sobral, M. A. Meneses-Nava, and H. Martinez, "Chemical elemental analysis of single acoustic-levitated water droplets by laser-induced breakdown spectroscopy," *Opt. Lett.* **43**(10), 2260–2263 (2018).
60. A. Eddi, K. G. Winkels, and J. H. Snoeijer, "Short time dynamics of viscous drop spreading," *Phys. Fluids* **25**(1), 013102 (2013).

61. R. Bachelot, C. Ecoffet, D. Deloeil, P. Royer, and D.-J. Lougnot, "Integration of micrometer-sized polymer elements at the end of optical fibers by free-radical photopolymerization," *Appl. Opt.* **40**(32), 5860–5871 (2001).
62. D. J. Little and D. M. Kane, "Subdiffraction-limited radius measurements of microcylinders using conventional bright-field optical microscopy," *Opt. Lett.* **39**(17), 5196–5199 (2014).
63. H. Liu, J. Bailleul, B. Simon, M. Debailleul, B. Colicchio, and O. Haeberlé, "Tomographic diffractive microscopy and multiview profilometry with flexible aberration correction," *Appl. Opt.* **53**(4), 748–755 (2014).
64. C. Fournier, F. Jolivet, L. Denis, N. Verrier, E. Thiebaut, C. Allier, and T. Fournel, "Pixel super-resolution in digital holography by regularized reconstruction," *Appl. Opt.* **56**(1), 69–77 (2017).
65. F. Momey, A. Berdeu, T. Bordy, J.-M. Dinten, F. K. Marcel, N. Picollet-D'hahan, X. Gidrol, and C. Allier, "Lensfree diffractive tomography for the imaging of 3d cell cultures," *Biomed. Opt. Express* **7**(3), 949–962 (2016).
66. A. Berdeu, F. Momey, B. Laperrousaz, T. Bordy, X. Gidrol, J.-M. Dinten, N. Picollet-D'hahan, and C. Allier, "Comparative study of fully three-dimensional reconstruction algorithms for lens-free microscopy," *Appl. Opt.* **56**(13), 3939–3951 (2017).

Versatile transmission/reflection tomographic diffractive microscopy approach

LUDOVIC FOUCAULT,¹  NICOLAS VERRIER,¹  MATTHIEU DEBAILLEUL,¹
JEAN-BAPTISTE COURBOT,¹ BRUNO COLICCHIO,¹ BERTRAND SIMON,² LAURENT VONNA,³
AND OLIVIER HAEBERLÉ^{1,*}

¹Institut de Recherche en Informatique, Mathématiques, Automatique et Signal (IRIMAS EA7499), Université de Haute-Alsace, 61 rue Albert Camus, 68093 Mulhouse Cedex, France

²Laboratoire Photonique Numérique et Nanoscience (LP2N), Université de Bordeaux, Institut d'Optique Graduate School, CNRS-UMR 5298, Talence 33405, France

³Institut de Science des Matériaux de Mulhouse (IS2M), Université de Haute-Alsace, CNRS-UMR 7361, 15 rue Jean Starcky, 68057 Mulhouse, France

*Corresponding author: olivier.haeberle@uha.fr

Received 18 June 2019; revised 4 September 2019; accepted 20 September 2019; posted 23 September 2019 (Doc. ID 370178); published 17 October 2019

Tomographic diffractive microscopy (TDM) has gained interest in recent years due to its ability to deliver high-resolution, three-dimensional images of unlabeled samples. It has been applied to transparent samples in transmission mode, as well as to surface studies in reflection mode. Mudry *et al.* [Opt. Lett. 35, 1857 (2010)] introduced the concept of mirror-assisted TDM (MA-TDM), an elegant approach for achieving quasi-isotropic-resolution microscopic imaging, but which is still to be experimentally applied. In this work, we show that a simplified version of MA-TDM allows for transforming a reflective TDM setup into a more versatile instrument, also capable of observing transparent samples in transmission mode if using specific sample holders made out of a mirror and coated with a low-thickness transparent spacer. © 2019 Optical Society of America

<https://doi.org/10.1364/JOSAA.36.000C18>

1. INTRODUCTION

Tomographic diffractive microscopy (TDM) [1] has been actively developed in recent years, and has proven to be able to deliver high-resolution images of unlabeled samples [2,3]. The technique works in transmission as well as in reflection modes, and commercial implementations are even now available for transmission TDM, which is well adapted for investigations on biological samples (for recent reviews about the technique, see, e.g., [4,5]).

Most TDM systems are based on holographic recording of diffraction patterns to acquire information about the sample, combined with angular scanning of the illumination to perform tomographic acquisitions. A numerical inversion model is then used to compute the image of the observed specimen. In its simplest versions, first Born approximation can be used [6], performing reconstructions via 2D and 3D Fourier transforms, which have the advantage of ease of use and speed of reconstruction [7]. Rotation of the sample has also been successfully implemented to obtain more accurate images [8–12]. Combining both approaches is also possible [13], which permits, in its optimal configuration, to deliver a sample's 3D images with improved *and* isotropic resolution [14]. An

alternate to obtain almost isotropic-resolution images is 4Pi tomography, proposed in 2002 by Lauer [15], but this method is yet to be experimentally implemented.

Besides these achievements, specific developments to simplify and/or speed up data acquisitions have also been performed [16–24]. In this work, we propose an approach for simplifying so-called mirror-assisted tomography, which was introduced by Mudry *et al.* [25]. We show that, at the price of having to use specific sample holders, this approach would allow for performing transmission or reflection TDM acquisitions using the same microscope setup, thus widening the interest for this technique.

2. BASIS OF TDM

TDM in transmission is under development by several groups worldwide, and has already been used to study a wide variety of biological samples [3–5,16,26–37], making use only of the intrinsic index contrasts of the sample.

We here briefly describe the link between the observed sample's refractive index 3D distribution and measurement of the field (in phase and amplitude) it diffracts when illuminated by a plane wave. We limit the description to scalar approximation for the sake of simplicity. Lauer [15] proposed an extension

to account for the vectorial nature of the light, to which the interested reader is referred, as well as to review papers about the technique [1,4].

So, one considers a scalar monochromatic plane wave of wavelength $\lambda = 2\pi c/\omega$, emitted by a source $S(\mathbf{r})$ and illuminating a transparent object, characterized by its relative permittivity $\epsilon(r)$ (Fig. 1). When omitting the $\exp(-i\omega t)$ time dependence for simplicity, the Helmholtz equation is written simply as

$$\Delta E(\mathbf{r}) + k_0^2 E(\mathbf{r}) = \chi(\mathbf{r})k_0^2 E(\mathbf{r}) + S(\mathbf{r}), \quad (1)$$

with $k_0 = 2\pi/\lambda$ the wavevector, and with $\chi = 1 - \epsilon$ the contrast of permittivity. Then, one makes use of the Green's function

$$G(\mathbf{r}) = -\exp(ik_0\mathbf{r})/4\pi r \quad (2)$$

to rewrite an integral equation for the total field,

$$E(\mathbf{r}) = E_{\text{inc}}(\mathbf{r}) + k_0^2 \int G(\mathbf{r} - \mathbf{r}') \chi(\mathbf{r}') E(\mathbf{r}') d(\mathbf{r}'), \quad (3)$$

to be calculated over the support of the object Ω , and in which E_{inc} depicts the incident field emitted by the source $S(r)$. In transmission microscopy, one considers only the far field. For an observation point r located far from the object, for any r' in Ω , one has $r'^2/\lambda \ll r$. As a consequence, one can simplify the diffracted field,

$$E_d(\mathbf{r}) = -\frac{\exp(ik_0 r)}{4\pi r} e(\mathbf{k}), \quad (4)$$

and write the amplitude of the scattered field $e(\mathbf{k})$ as

$$e(\mathbf{k}) = k_0^2 \int \exp(-i\mathbf{k}\cdot\mathbf{r}') \chi(\mathbf{r}') E(\mathbf{r}') d(\mathbf{r}'). \quad (5)$$

In the following, the incident field is considered for simplification to be a plane wave, with wavevector \mathbf{k}_{inc} , so written as $E_{\text{inc}}(r) = A_{\text{inc}} \exp(i\mathbf{k}_{\text{inc}}\cdot\mathbf{r})$. Also for the sake of simplicity, we restrict here the analysis to weakly diffracting objects, so that the first Born approximation remains valid. Under these assumptions, one can then write

$$e(\mathbf{k}, k_{\text{inc}}) \propto C \tilde{\chi}(\mathbf{k} - \mathbf{k}_{\text{inc}}), \quad (6)$$

with $C = 8\pi^3 A_{\text{inc}} k_0^2$. Equation (6) links Fourier coefficients of the relative permittivity of the object with the amplitude of the far field it diffracts when illuminated by a plane wave [6].

Because only elastic scattering is considered, diffracted vectors \mathbf{k}_{diff} have the same amplitude as \mathbf{k}_{inc} , due to energy

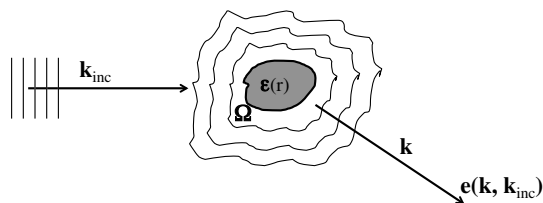


Fig. 1. Plane wave depicted by its wavevector \mathbf{k}_{inc} illuminates an object, bounded on support Ω characterized by its relative permittivity $\epsilon(r)$. The diffracted field is decomposed into a sum of plane waves of wavevectors \mathbf{k} .

conservation. The ensemble of \mathbf{k}_{diff} then depicts the so-called Ewald sphere. From the elastic scattering condition, this set of diffracted \mathbf{k}_{diff} vectors transforms into object \mathbf{k}_o vectors, via a simple translation:

$$\mathbf{k}_o = \mathbf{k}_{\text{diff}} - \mathbf{k}_{\text{inc}}. \quad (7)$$

A. Transmission TDM

In practice, one has to separately consider two cases: one-half of the Ewald sphere comprises \mathbf{k}_{diff} vectors propagating in the same direction as incident illumination \mathbf{k}_{inc} to form an image in transmission microscopy, while the second half contains those wavevectors forming an image in reflection microscopy (next section). Furthermore, only a portion of the half Ewald sphere in transmission can be captured in practice, because of the limited numerical aperture of the detection objective.

Following this framework, Fig. 2 describes information acquisition for digital holographic microscopy (DHM) [Fig. 2(a)], and for TDM with illumination rotation (TDM-IR) [Fig. 2(b)]. For the sake of simplicity, in this work optical transfer functions (OTFs) are displayed in 2D views, their 3D shapes being obtained by rotation around the optical axis (k_z axis). Complete 3D representations with animations describing their construction are available in the supplementary materials of Ref. [14]. Figure 2(a) explains that, for transparent objects, DHM has good lateral resolution, due to wide $\mathbf{k}_x, \mathbf{k}_y$ extension of the \mathbf{k}_o vector set, but bad resolution along the optical axis, because of its narrow extension along the \mathbf{k}_z axis [2]. When the illumination is tilted as in Fig. 2(b), one can capture different information about the sample. And finally, for a large number of illuminations [Fig. 2(c)], synthesizing a high-numerical-aperture condenser permits, by accumulating information in Fourier space, to obtain an expanded and filled \mathbf{k}_o set, namely, the OTF of the system, with a so-called “doughnut shape,” characteristic of transmission microscopy [38]. The presence of a so-called “missing cone” of unrecorded frequencies explains the low sectioning capabilities of transmission microscopes, including tomographic microscopes [2]. When numerical apertures at illumination and at detection are different, the support becomes dissymmetric [38]. This filled and extended frequency support leads to the doubled lateral resolution of TDM compared to DHM [15], experimentally reaching resolution near or even better than 100 nm [2,3].

Besides improved resolution, a second characteristic feature of TDM is its capability to clearly distinguish refractive and absorptive structures within the observed specimen [2,15,29,39–41]. Commercial systems are now available [42,43].

B. Reflection TDM

The case of TDM in reflection [44–47] can be directly understood using the same framework. As in the transmission configuration, Fourier components of the diffracted waves that can be collected are limited by the numerical aperture of the microscope objective, the difference in resulting object components, which are captured, coming from the different translation of vector $-\mathbf{k}_i$ in the reflection configuration, compared to

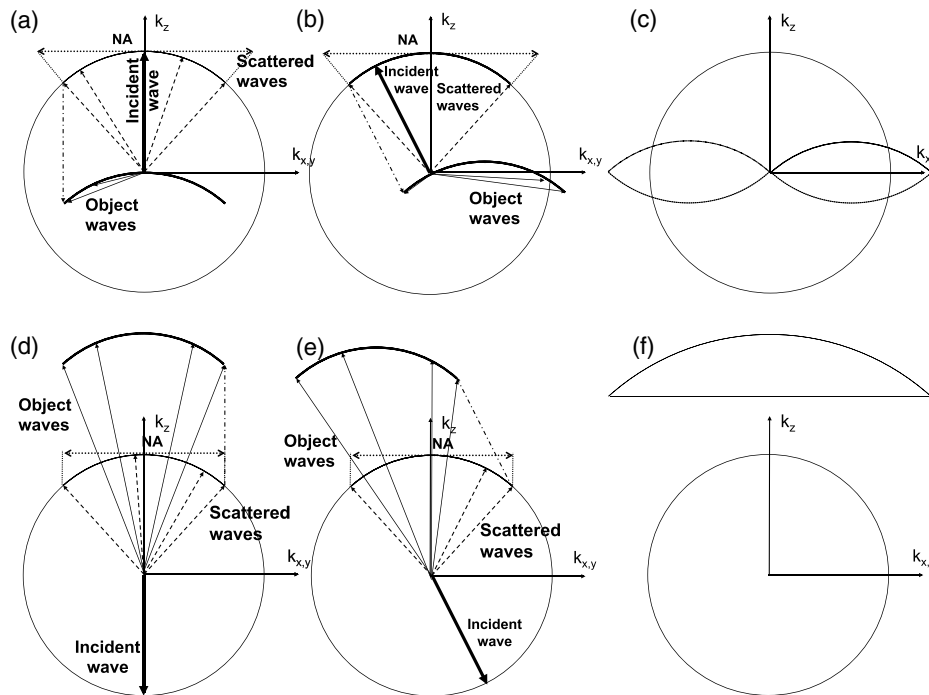


Fig. 2. Principle of TDM: construction of the optical transfer function, in (a)–(c) transmission and (d)–(f) reflection configurations. (a), (d) Conventional holographic microscopy with illumination along the optical axis; (b), (e) with inclined illumination; and (c), (f) OTF support with full angular scanning.

the transmission case. In reflection, the reconstructed object frequencies' cap of sphere is shifted towards higher frequencies along the optical axis [Fig. 2(d)] (the translation vector being the opposite as in transmission mode), while in transmission holography, the object cap of sphere has its summit at the frequency origin [Fig. 2(a)].

As seen before, another object frequency set becomes recordable when changing the angle of illumination, due to the different translation to be done, as illustrated in Fig. 2(e). For the transmission case, the captured object frequency cap of sphere passes again through the origin of frequencies [Fig. 2(b)], while in the reflection case, the same point from the diffracted frequencies' cap of sphere ends up located along k_z axis, but at $k_z > 0$ [Fig. 2(e)].

Again, for a large number of incidences, the synthetic aperture process allows for constructing an extended and filled support of object frequencies, depicting a portion of a ball, with the same lateral extension as in the transmission case, but now comprising high frequencies along the optical axis, depicted in Fig. 2(f). This simplified approach already permits to double the lateral resolution compared to conventional holography in reflection [44–49], and to improve the optical sectioning properties [48], as well as profile reconstructions in profilometry [49]. When considering highly scattering specimens for which multiple diffraction occurs, and solving the full electromagnetic inverse problem, true superresolution is even possible [50].

3. ISOTROPIC-RESOLUTION TDM

While TDM-IR has already proven to be a very useful instrument, especially for biological investigations, its imaging

capabilities are affected by the missing cone, inducing poor optical sectioning, if simpler numerical methods based on the Born or Rytov approximations are used. When more elaborate reconstruction methods are used, and/or if *a priori* knowledge about the sample is injected, which permits to numerically fill the missing cone, image quality is well improved. However, the final images are anyway characterized by a strong anisotropic OTF: it is an inevitable consequence of the transmission OTF, which is much wider along $x - y$ directions than along the optical axis z . Several approaches have therefore been examined to provide isotropic-resolution images.

The first one considers rotating the sample (TDM-SR). This method permits to obtain a quasi-completely filled ball as final OTF [Fig. 3(a)], but because of the initial cap of sphere curvature, a so-called “missing apple core” remains along the sample rotation axis, here the x axis [51]. A solution to completely fill the OTF could then consist of performing another rotation of the sample around a second axis, perpendicular to the first one [13,51]. This approach presents, however, drawbacks. Performing a precise sample rotation at microscopic scale, and compatible with interferometric measurements, can be difficult. A large number of rotations is necessary for accurate reconstructions. Finally, the OTF maximal extension is smaller than maximal achievable extension in TDM-IR [52].

A second approach to obtain an improved and isotropic resolution associates illumination rotation and specimen rotation (TDM-IRSR) [52], with the advantage, compared to the previous one, that merging several doughnuts from TDM-IR to obtain a quasi-spherical, extended final OTF, now requires only a few precise sample rotations. Figure 3(b) illustrates this advantage, displaying the OTF obtained when merging four

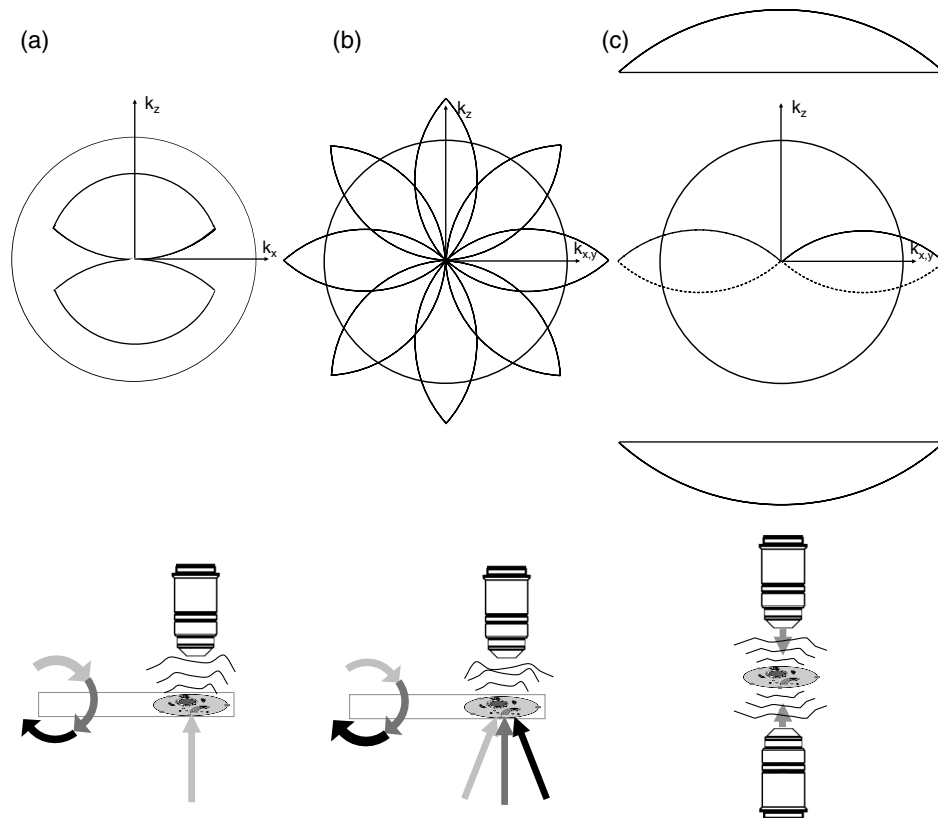


Fig. 3. Optical transfer function for conventional approaches for isotropic-resolution TDM. (a) TDM-SR: sample is rotated in a conventional holographic microscope. (b) TDM-IRSR: combined approaches with sample rotated in a TDM-IR using illumination rotation. (c) 4Pi TDM, combining transmission and reflection TDM in a dual-objective setup.

doughnuts. However, this method obviously also necessitates to precisely control the rotation of a microscopic sample [14].

Lauer [15] has proposed another possible approach: combining transmission and reflection acquisitions in a 4Pi TDM setup. As in fluorescence microscopy [53], the use of two opposing microscope objectives must permit to collect the transmitted part as well as the retrodiffracted part of the scattered wave, when illuminating the sample through the first objective. Then, switching the illumination objective would allow for collecting a second transmitted spectrum, which appears to superimpose with the first one, but also a second retrodiffracted part, which complements the previously acquired ones [15]. Figure 3(c) shows the combined 4Pi-OTF resulting from merging two transmission TDM OTFs (which superimpose) and two opposite reflection TDM OTFs. In this configuration, longitudinal resolution is even slightly better than the lateral one, because of the limited numerical aperture of the collecting objectives [53].

The main difference resides in the sequential approach: in fluorescence 4Pi microscopy, illumination has to be made through both objectives at the same time, while fluorescence signal has to be collected simultaneously by both objectives and must interfere onto the detector to reach the highest resolution (4Pi type C [53]). The difficulty of adjusting the interferometer (the coherence length in fluorescence being very short, in the few μm range [54]) probably explains why this powerful technique has not attracted wider interest. Furthermore, the specimen is to be observed sandwiched between two cover glasses, which

may add additional difficulties in sample preparation and manipulation.

One advantage of 4Pi TDM, compared to fluorescence 4Pi microscopy, is that the coherence length of the illumination would greatly leverage the constraints on the interferometers' arms length. One could even slightly reduce the setup's complexity by having only three interferometers, as the transmitted parts are redundant. But the system would anyway be way more complex than current TDM implementations in either transmission or reflection. Another predictable difficulty is the necessity to register the data in Fourier space, which in 4Pi TDM have to be acquired sequentially by different experiments in transmission and reflection, onto different detectors. If the numerical aperture is high enough ($\text{NA} > 1.45$ for oil immersion objectives), superimposition zones would indeed exist in Fourier space, which could be used to renormalize the data [15], but not for water immersion objectives ($\text{NA} = 1.2$) or standard oil immersion objectives ($\text{NA} = 1.4$). So, imaging performances of 4Pi TDM have not been experimentally explored up to now.

4. MIRROR-ASSISTED TDM AS VERSATILE TRANSMISSION/REFLECTION TDM

A. Conventional Mirror-Assisted TDM

In order to facilitate label-free samples imaging with isotropic resolution, Mudry *et al.* [25] introduced in 2010 the concept of mirror-assisted reflection optical diffraction tomography.

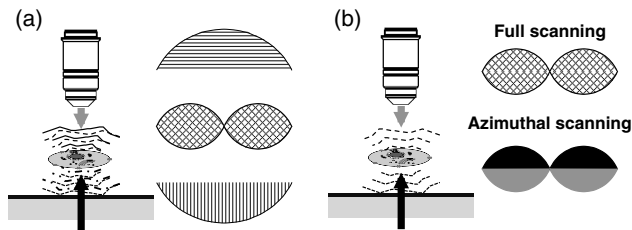


Fig. 4. Principle of mirror-assisted TDM: construction of the OTF (a) standard configuration, acting as a 4Pi TDM. (b) Simplified version when backward-scattering from the sample is negligible, acting as a dual-view transmission TDM, with full or azimuthal-only angular scanning.

The configuration is similar to that of a standard reflection TDM, except that the sample has to be placed in the vicinity of a mirror. The important point in the inversion procedure is to properly account for this mirror. Mudry *et al.* [25], solving the electromagnetic problem, showed that the solution is directly related to the Born solution, making use of cosine transforms instead of Fourier transforms. With numerical simulations, they then explored the concept and its imaging performances. This elegant approach has, however, not yet been experimentally demonstrated.

Such a configuration achieves in fact 4Pi detection, but using only one objective, by clever use of the mirroring effects, which plays the role of the second objective. A qualitative explanation can be given in the framework of weakly diffractive samples. Figure 4(a) illustrates the concept. When the sample is placed near a perfectly reflecting mirror, slightly above it, and observed using a reflection TDM, one can consider (for weakly diffracting samples) that it is illuminated by two waves: first, the one emerging from the objective and illuminating the sample (gray arrow), and being diffracted by it. Then, its non-diffracted part (within first Born approximation, it corresponds to the illumination wave) is reflected by the mirror (black arrow), and illuminates again the sample.

If one now considers the diffracted components, the following situation arises. The front wave diffracted by the original impinging illumination comprises a forward-scattered part, and a backward-scattered one. The latter [original illumination-backward scattered wave, or OI-BSW: plain line in Fig. 4(a)] is captured by the objective, as in a reflection TDM. When angular scanning is applied, the upper cap of the ball is captured (horizontal stripes on the upper part of the OTF). The forward-scattered wave (OI-FSW: dotted line) is then reflected by the mirror to be finally captured by the objective. When angular scanning is applied, the central doughnut is captured ($+45^\circ$ stripes in the central part of the OTF). The same description applies to the second illuminating wave, reflected by the mirror. When diffracted, its forward-scattered part (reflected illumination-FSW, or RI-FSW: dashed line) is directly captured by the objective, and angular scanning is applied; a second, superimposed central doughnut is captured (-45° stripes). Simultaneously, its backward-scattered part (RI-BSW: dotted-dashed line) propagates towards the mirror, is reflected, then propagates towards the objective. When angular scanning is applied, the lower cap of the ball is captured (vertical stripes in

the lower part of the OTF). Finally, the same OTF is obtained as in a conventional, two-objective 4Pi TDM system [15,25].

B. Simplified Mirror-Assisted TDM

The above-described configuration can be simplified, if one considers rather large (several wavelength), highly transparent samples, with index of refraction distribution values remaining very close to those of the surrounding medium. For such samples in fact, diffraction mostly propagates in the forward direction, and the retrodiffracted component is often negligible. For example, reflection coefficients for the glass ($n = 1.525$) to oil ($n = 1.515$) interface at 45° incidence are equal to $4 \cdot 10^{-5}$ and $2 \cdot 10^{-9}$ in s and p polarizations, respectively [55]. Similarly, a $5 \mu\text{m}$ diameter glass sphere in oil has a backscattering efficiency of about $4 \cdot 10^{-5}$ (see, e.g., [56]).

So, for those samples for which the retrodiffracted components are negligible with respect to the forward-scattered ones, Fig. 4(a) simplifies into Fig. 4(b): a mirror-assisted tomographic diffractive microscope then transforms into dual-view transmission TDM. When full angular scanning is used, one finally captures twice the central doughnut of a transmission microscope, the mirroring effect simply resulting in a duplicate image of the specimen. Contrary to a regular 4Pi or mirror-assisted TDM, there is no gain in longitudinal resolution, but it may anyway have interesting consequences for building a TDM experiment: it shows that a reflection TDM can be turned into a transmission TDM. This comes at the price of special sample supports being used, but would transform a purely reflection TDM into a more versatile system, able to observe surfaces of reflecting samples, as well as transparent samples, such as those often encountered in biology (individual cells such as red or white blood cells, but also isolated, cultured cells, pollens, spores, diatoms, radiolarian, etc.).

Such a mirror-assisted configuration can also help in addressing another practical limitation of some conventional transmission TDM systems. Because TDM is inherently a sequential system, acquiring data one illumination angle to the next can be time consuming. In order to diminish the number of holograms to be taken, and therefore to accelerate acquisitions, the following assumption can be done. When the observed sample does not present absorption, its Fourier spectrum obeys Hermitian symmetry. As a consequence, full angular scanning is not necessary to acquire a complete spectrum. Indeed, an azimuthal-only scanning, performed at maximum illumination inclination [Fig. 2(c)], allows for acquiring the upper half-spectrum (with positive k_z components) in transmission microscopy [17,38]. Then, applying Hermitian symmetry permits to reconstruct the lower half-spectrum [57]. However, this approach may induce reconstruction artifacts: e.g., if the observed sample does present some absorptive sub-structures, then, they will be simply erased when applying Hermitian symmetry. Conversely, if not applying Hermitian symmetry, Fourier transforming a dissymmetric data support (only half a doughnut is recorded) will make falsely appearing structures in the imaginary part of the reconstructed image, namely, absorptive structures, in a non-absorbing sample. Similarly, absorbing structures may be falsely reconstructed as refractive ones.

Mirror-assisted TDM, using only azimuthal scanning, permits to record both halves of the doughnut, as depicted in Fig. 4(b), due to the duplicated illumination. The system acts then as two-transmission TDM, both using azimuthal illumination and observing the same sample, but from opposite sides. The reflected illumination (black arrow) gives rise to the upper half-doughnut (with positive k_z components), as in a conventional transmission TDM used with azimuthal illumination at maximum angle [Fig. 2(c)]. The original illumination (gray arrow) yields the lower half-doughnut (with negative k_z components), as in a conventional transmission TDM used with azimuthal illumination at maximum angle, but looking at the sample from the other side. Both recorded half-doughnuts complement in this configuration, to form the complete support of a transmission TDM with full angular scanning. As a consequence, no assumption about the sample being non-absorptive is necessary for its numerical reconstruction. However, because both half-doughnuts are acquired simultaneously, they are intermixed in the successive acquired interferograms, so that a proper demodulation scheme is to be applied for sample image reconstruction.

C. Simulations

Figure 5 illustrates these properties of simplified mirror-assisted TDM. A synthetic object with compound (refraction and absorption) refractive properties is considered, depicted in Fig. 5(a). For this simulation, the following parameters are considered: $100\times$ objective with numerical aperture $NA = 1.4$ and illumination at 475 nm. The object size is $11.5 \mu\text{m} \times 10 \mu\text{m}$, and the object is considered being placed $5 \mu\text{m}$ above a perfectly reflective mirror (located in the middle of the numerical volume). Figure 5(b) shows the simulated images obtained in a mirror-assisted TDM with full angular scanning, taking into account the mirroring effect, and reconstructing the images assuming a simple transmission TDM. The twin images are deformed by the limited bandwidth of the acquisition system, especially along the vertical (optical) axis, because of the missing cone. Twin images are, however, identical, in both real and imaginary parts, simply illustrating the duplication of the observed sample by the mirror.

Figure 5(c) shows the simulated images with azimuthal-only angular scanning, taking into account the mirroring effect and reconstructing the images assuming a simple transmission TDM. Note that after reconstruction, the twin images are not identical anymore. Furthermore, one can notice in the real part, as well as in the imaginary part, that structures originating from both components of the original compound object are mixed. These are direct consequences of the symmetry breaking of the problem induced by an incomplete scanning resulting in an asymmetric OTF, if one does not properly unmix the information.

An adapted demodulation is therefore necessary to correctly reassign information. Taking into account the characteristics of the system, based on duplicating images by the mirror, the following scheme is derived.

If acquiring data using full angular scanning, simply reconstruct twin images as if a regular transmission TDM had been

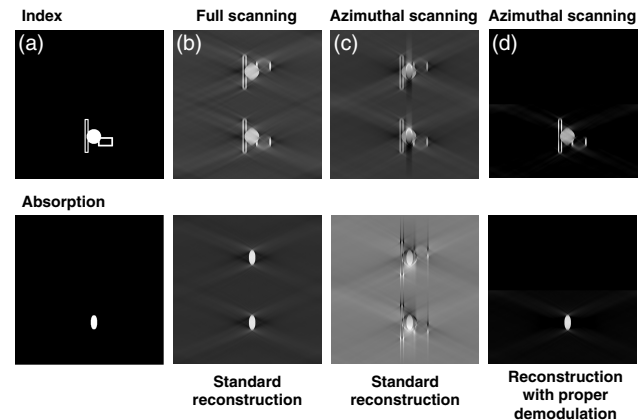


Fig. 5. Simulation of simplified mirror-assisted tomography. (a) Initial object. (b) Reconstruction as in a conventional transmission TDM, taking into account the mirroring effect, and with full illumination scanning. (c) Same as (b), but with azimuthal illumination scanning. (d) With adapted data demodulation before reconstruction.

used. Split the image along the symmetry plane so as to isolate a unique image of the observed sample [Fig. 5(b)].

If acquiring data using azimuthal-only angular scanning, the following procedure can then be applied, illustrated in Fig. 6:

- reconstruct twin images as if a regular transmission TDM had been used;
- split the (complex) image along the symmetry plane to separate images of the object and its reflection in the mirror;
- Fourier transform each image;
- vertically flip the spectrum of the reflection image;
- add both spectra to reconstitute the full doughnut of a transmission TDM with full angular scanning;
- reconstruct final refraction and absorption images of the sample from Fourier transform.

Figure 5(d) illustrates this adapted demodulation process. Note that this final image, while using azimuthal-only angular scanning data, now properly reassigns real (index) and imaginary (absorption) contributions, while at the same time canceling the mirroring effect to reconstruct a single object without its twin image.

D. Preliminary Experimental Results

We performed experiments to validate this simplified mirror-assisted TDM approach. Figure 7 illustrates the mirroring effect. Small, quasi-flat microcrystals have been deposited onto a specially prepared glass slide, vacuum coated with aluminum for the reflection function of the mirroring effect, then spin-coated with a $6 \mu\text{m}$ thickness transparent polystyrene layer, and observed using our reflection TDM system, described in [48,49]. It uses two Olympus $100\times$, $NA = 1.4$ objectives for both synthetic aperture illumination and detection, and illumination at 475 nm. Scanning is performed using a Newport FSM300 fast tip-tilt membrane mirror, and acquisitions are made using a PhotonFocus MV1-D1312-100-GB-12 camera with $8 \mu\text{m}$ pixels, driven in 1024×1024 mode, resulting in a $82 \mu\text{m} \times 82 \mu\text{m}$ field of view, which determines maximal

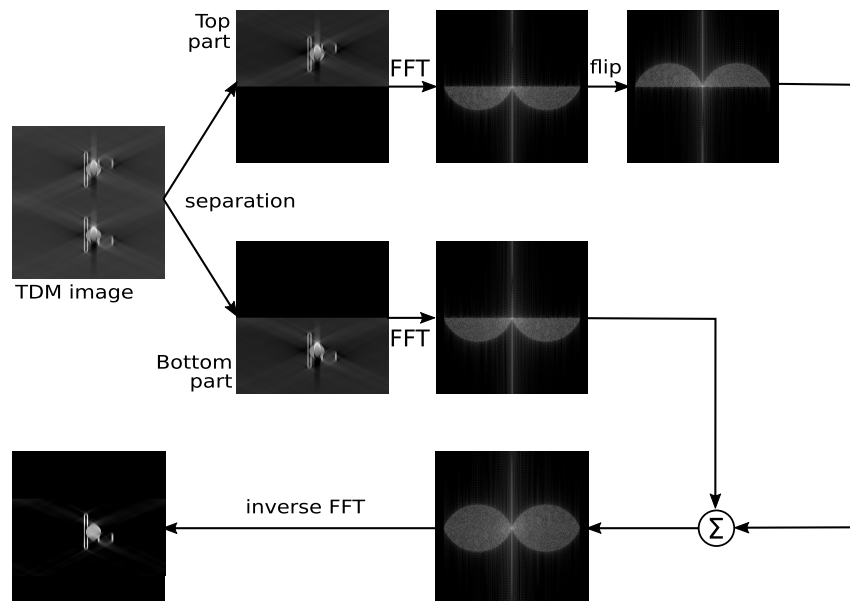


Fig. 6. Demodulation of the images obtained from simplified mirror-assisted TDM, to cancel the mirroring effect and properly reassign information relative to the real (index) and imaginary (absorption) contributions.

observable sample size of about $50\ \mu\text{m}$ for comfortable observations. Microcrystals are embedded in Eukitt as the mounting medium. For such a system, resolution of $2.52\ \text{lp}/\mu\text{m}$ has been demonstrated [48], effectively doubling resolution compared to a conventional wide-field reflection microscope. Data have been acquired with full angular scanning, and then processed as if resulting from our transmission TDM [7].

Figure 7(a) depicts the *en face* view of the 3D reconstruction volume, while Figs. 7(b) and 7(c) show the same data cube, rotated by 45° and 90° , respectively. As expected, the mirroring effect duplicates the image of the observed sample. As described in the previous section, in order to isolate a single image of the observed sample, one can simply split the reconstructed volume along the mirror plane, indicated by white arrows in Fig. 7(c). However, this configuration requires full angular scanning of the illumination, so it does not provide gain in speed of acquisition or amount of data to be processed.

Figures 7(d) and 7(e) show two phase images (demodulated holograms) of a $6\ \mu\text{m}$ diameter polystyrene bead, located $6\ \mu\text{m}$ above a gold reflective layer, and illuminated at $532\ \text{nm}$, at high incidence angle and for two different azimuthal angles. Beads are embedded in Eukitt as the mounting medium. Note the elongated aspect of the bead, due to the inclined illumination, as well as the reflection of the bead in the mirror, observed spatially separated, due to the high angle of incidence illumination. The reflection of the bead in the mirror appears rotating around the direct view of the bead (see also Visualization 1).

Figure 7(f) depicts the direct reconstruction, assuming a transmission microscope had been used, and for azimuthal illumination only (contrary to Figs. 7(a)–7(c) obtained with full angular scanning). Note that the reflected image (upper part of the image) is of lower quality than the direct view (lower part of the image), indicating that the mirroring effect is not perfect. Nevertheless, these results validate the approach for azimuthal-only scanning, and that simple reconstructions based

on the limited-validity Born approximation are morphologically correct. Figure 7(g) shows the reconstruction taking into account the mirroring effect: a single bead is reconstructed.

Figure 7(h) shows relative (compared to Eukitt) index of refraction profiles along the bead diameter, for the direct reconstruction from Fig. 7(h) and from Fig. 7(g). Note that the bead diameter is correctly reconstructed, and that the profile from the demodulated bead (blue narrow-dashed line) is closer to the theoretical profile (black solid line) than the profiles from the direct reconstruction (green dotted line for the direct view of the bead, red wide-dashed line for the reflected view of the bead), even in these unfavorable conditions. It, however, also confirms that more accurate reconstruction methods, finely taking into account the actual characteristics of the mirror (in particular, its indices and real and imaginary parts, as a non-perfect mirror can induce intensity, and/or phase, and/or polarization changes in the illumination beam, as well as of the diffracted components when they impinge onto the surface), should be used in order to get higher precision reconstructions.

One can also point out some experimental restrictions of the approach. Within this framework, observed samples must indeed be (very) weakly absorptive/diffractive, so that the two diffracted waves OI-FSW and RI-BSW, which are retroreflected by the mirror, can be considered as primarily not being affected again by the sample, when they traverse it back, exactly as the illumination wave is considered as unperturbed in Born approximation. This is a limitation of the approach.

Sample dimensions are also to be taken into consideration for optimal observations. The mirror-assisted TDM concept requires the sample to be located not in contact with, but at a small distance from, the mirror [25]. The thickness of the layer separating the sample from the mirror then has to be adapted. If too small, blurring of the twin images along the optical axis will mix them (because of the missing cone), at least partially, preventing their separation for reconstruction. If too large,

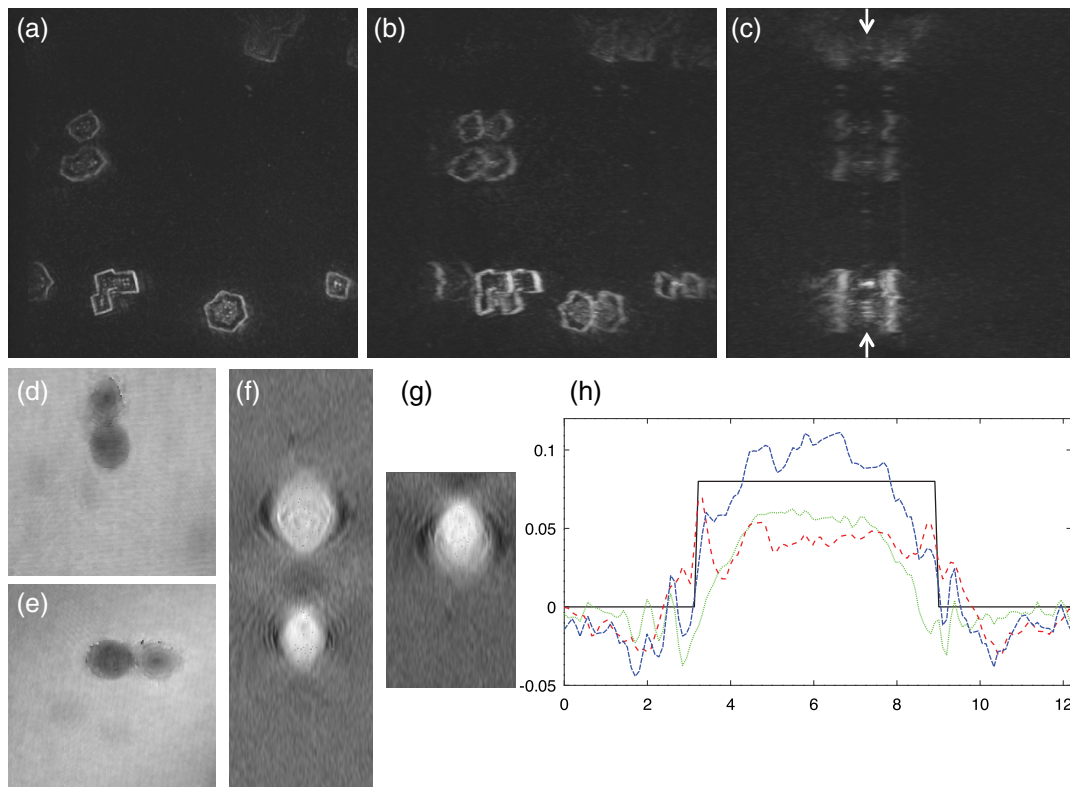


Fig. 7. Images obtained in a simplified mirror-assisted TDM. (a)–(c) using a reflection TDM system (here with full angular scanning) in conjunction with special sample supports; direct reconstruction as in Fig. 5(b) makes transparent microcrystals appear twinned, but as observed in a transmission TDM system. (d)–(e) Illustration of the mirroring effect with a polystyrene bead illuminated at high incidence. (f), (g) Bead reconstructions assuming direct reconstruction (f) as in Fig. 5(b), and with proper demodulation (g) correcting for the mirroring effect. (h) Reconstruction profiles of the index of refraction variations compared to the theoretical profile; black solid line: theoretical profile; blue narrow-dashed line: demodulated bead; green dotted line: direct view of the bead; red wide-dashed line: reflected view of the bead.

limited depth of field will make it impossible to precisely record images of the sample and its reflection in the mirror. So, flatter objects, such as those presented in Fig. 7, are preferred for accurate reconstructions, at least when using simplest reconstruction methods based on Born or Rytov approximations.

These first results need to be confirmed for a larger class of objects, and elaborating more advanced reconstruction methods to reach better resolution and observe smaller structures, but do validate the mirror-assisted TDM concept proposed by Mudry *et al.* [25] as well as the simplified approach we propose for transforming a reflection TDM into a more versatile instrument, by preparing highly transparent, low-index-contrast samples on special supports.

5. CONCLUSION AND PERSPECTIVES

We have studied a derivative of mirror-assisted tomography, initially proposed by Mudry *et al.* [25]. For samples that exhibit mainly forward scattering, one can therefore neglect backward-scattered contributions, and in that case, a mirror-assisted tomographic microscope simplifies into a dual-view transmission microscope. As a consequence, a TDM system built for reflection microscopy can be used as a transmission TDM, constituting a versatile system, capable of observing surfaces of reflecting samples, as well as transparent samples. To do so,

one has to use special sample supports, consisting of a reflective layer covered by a transparent layer to have the observed sample placed above the mirror, and not in contact with it [25].

The first experimental results presented in this paper confirm the validity of the approach. While working for very basic samples, the simplified demodulation method we propose here, taking benefit of the symmetries induced by the mirroring effect (and formally fully equivalent to the cosine transforms used in the seminal paper about mirror-assisted tomography by Mudry *et al.* [25]), are, however, to be improved for optimal image reconstructions. In particular, the image reconstruction process here assumes that a perfect mirror is used. In practice, for obtaining highest-resolution images, one has indeed to use short-wavelength illumination [3], for which reflective surfaces may not be anymore considered as perfect, as well as high numerical apertures, at detection but also at illumination [2,3], conditions inducing non-negligible polarization effects when reflection occurs. Also, appropriate denoising techniques, applied to acquired holograms before image reconstruction could relax constraints on some acquisition parameters, e.g., helping to diminish the number of required holograms, or to reach ultimate resolution theoretically allowed by optical parameters. Possibly, a co-conception approach to the whole system could be used, including both the very peculiar acquisition characteristics

of a mirror-assisted imaging system and denoising, as has already been done in holographic microscopy [58]

To the best of our knowledge, such experimental conditions (rather large, 3D samples a few tens of micrometers in size, and high numerical aperture illumination and detection in a reflection setup) have not yet been treated in the literature of TDM, but Godavarthi *et al.*'s work [59] could constitute a good starting point to expand the domain of use of mirror-assisted TDM [25]).

Funding. Région Grand-Est (544/15/C13); Agence Nationale de la Recherche (Projet HORUS ANR-18-CE45-0010).

Acknowledgment. We acknowledge financial support from Région Grand Est for L. Foucault's PhD fellowship and Agence Nationale de la Recherche (ANR). We would like to thank P. C. Chaumet, H. Giovaninni, G. Maire, and A. Sentenac for enlightening discussions about Mie diffraction and mirror-assisted tomography.

REFERENCES

- O. Haeberlé, K. Belkebir, H. Giovaninni, and A. Sentenac, "Tomographic diffractive microscopy: basics, techniques and perspectives," *J. Mod. Opt.* **57**, 686–699 (2010).
- M. Debailleul, V. Georges, B. Simon, R. Morin, and O. Haeberlé, "High-resolution three-dimensional tomographic diffractive microscopy of transparent inorganic and biological samples," *Opt. Lett.* **34**, 79–81 (2009).
- Y. Cotte, F. Toy, P. Jourdain, N. Pavillon, D. Boss, P. Magistretti, P. Marquet, and C. Depeursinge, "Marker-free phase nanoscopy," *Nat. Photonics* **7**, 113 (2013).
- D. Jin, R. Zhou, Z. Yaqoob, and P. T. C. So, "Tomographic phase microscopy: principles and applications in bioimaging," *J. Opt. Soc. Am. B* **34**, B64–B77 (2017).
- Y. Park, C. Depeursinge, and G. Popescu, "Quantitative phase imaging in biomedicine," *Nat. Photonics* **12**, 578–589 (2018).
- E. Wolf, "Three-dimensional structure determination of semi-transparent objects from holographic data," *Opt. Commun.* **1**, 153–156 (1969).
- J. Bailleul, B. Simon, M. Debailleul, L. Foucault, N. Verrier, and O. Haeberlé, "Tomographic diffractive microscopy: towards high-resolution 3-D real-time data acquisition, image reconstruction and display of unlabeled samples," *Opt. Commun.* **422**, 28–37 (2018).
- Y.-C. Lin and C.-J. Cheng, "Sectional imaging of spatially refractive index distribution using coaxial rotation digital holographic microtomography," *J. Opt.* **16**, 065401 (2014).
- A. Kuś, M. Dudek, B. Kemper, M. Kujawińska, and A. Vollmer, "Tomographic phase microscopy of living three-dimensional cell cultures," *J. Biomed. Opt.* **19**, 046009 (2014).
- M. Habaza, B. Gilboa, Y. Roichman, and N. T. Shaked, "Tomographic phase microscopy with 180° rotation of live cells in suspension by holographic optical tweezers," *Opt. Lett.* **40**, 1881–1884 (2015).
- Y. C. Lin, H.-C. Chen, H.-Y. Tu, C.-Y. Liu, and C.-J. Cheng, "Optically driven full-angle sample rotation for tomographic imaging in digital holographic microscopy," *Opt. Lett.* **42**, 1321–1324 (2017).
- F. Merola, P. Memmolo, L. Miccio, R. Savoia, M. Mugnano, A. Fontana, G. D'ippolito, A. Sardo, A. Iolascon, A. Gambale, and P. Ferraro, "Tomographic flow cytometry by digital holography," *Light Sci. Appl.* **6**, e16241 (2017).
- B. Vinoth, X.-J. Lai, Y.-C. Lin, H.-Y. Tu, and C.-J. Cheng, "Integrated dual-tomography for refractive index analysis of free-floating single living cell with isotropic superresolution," *Sci. Rep.* **8**, 5943 (2018).
- B. Simon, M. Debailleul, M. Houkal, C. Ecoffet, J. Bailleul, J. Lambert, A. Spangenberg, H. Liu, O. Soppera, and O. Haeberlé, "Tomographic diffractive microscopy with isotropic resolution," *Optica* **4**, 460–463 (2017).
- V. Lauer, "New approach to optical diffraction tomography yielding a vector equation of diffraction tomography and a novel tomographic microscope," *J. Microsc.* **205**, 165–176 (2002).
- W. Choi, C. Fang-Yen, K. Badizadegan, S. Oh, N. Lue, R. R. Dasari, and M. S. Feld, "Tomographic phase microscopy," *Nat. Methods* **4**, 717 (2007).
- R. Fiolka, K. Wicker, R. Heintzmann, and A. Stemmer, "Simplified approach to diffraction tomography in optical microscopy," *Opt. Express* **17**, 12407–12417 (2009).
- M. Kim, Y. Choi, C. Fang-Yen, Y. Sung, R. R. Dasari, M. S. Feld, and W. Choi, "High-speed synthetic aperture microscopy for live cell imaging," *Opt. Lett.* **36**, 148–150 (2011).
- S. O. Isikman, W. Bishara, S. Mavandadi, W. Y. Frank, S. Feng, R. Lau, and A. Ozcan, "Lens-free optical tomographic microscope with a large imaging volume on a chip," *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **108**, 7296–7301 (2011).
- Y. Kim, H. Shim, K. Kim, H. Park, J. H. Heo, J. Yoon, C. Choi, S. Jang, and Y. Park, "Common-path diffraction optical tomography for investigation of three-dimensional structures and dynamics of biological cells," *Opt. Express* **22**, 10398–10407 (2014).
- P. Bon, S. Aknoun, S. Monneret, and B. Wattellier, "Enhanced 3D spatial resolution in quantitative phase microscopy using spatially incoherent illumination," *Opt. Express* **22**, 8654–8671 (2014).
- S. Shin, K. Kim, J. Yoon, and Y. Park, "Active illumination using a digital micromirror device for quantitative phase imaging," *Opt. Lett.* **40**, 5407–5410 (2015).
- F. Momey, A. Berdeu, T. Bordy, J.-M. Dinten, F. K. Marcel, N. Picollet-D'Hahan, X. Gidrol, and C. Allier, "Lensfree diffractive tomography for the imaging of 3D cell cultures," *Biomed. Opt. Express* **7**, 949–962 (2016).
- L. Foucault, N. Verrier, M. Debailleul, B. Simon, and O. Haeberlé, "Simplified tomographic diffractive microscopy for axisymmetric samples," *OSA Continuum* **2**, 1039–1055 (2019).
- E. Mudry, P. C. Chaumet, K. Belkebir, G. Maire, and A. Sentenac, "Mirror-assisted tomographic diffractive microscopy with isotropic resolution," *Opt. Lett.* **35**, 1857–1859 (2010).
- Y. Park, M. Diez-Silva, G. Popescu, G. Lykotrafitis, W. Choi, M. S. Feld, and S. Suresh, "Refractive index maps and membrane dynamics of human red blood cells parasitized by plasmodium falciparum," *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **105**, 13730–13735 (2008).
- Y. Sung, W. Choi, N. Lue, R. R. Dasari, and Z. Yaqoob, "Stain-free quantification of chromosomes in live cells using regularized tomographic phase microscopy," *PLoS ONE* **7**, e49502 (2012).
- J.-W. Su, W.-C. Hsu, C.-Y. Chou, C.-H. Chang, and K.-B. Sung, "Digital holographic microtomography for high-resolution refractive index mapping of live cells," *J. Biophoton.* **6**, 416–424 (2013).
- K. Kim, H. Yoon, M. Diez-Silva, M. Dao, R. R. Dasari, and Y. Park, "High-resolution three-dimensional imaging of red blood cells parasitized by plasmodium falciparum and in situ hemozoin crystals using optical diffraction tomography," *J. Biomed. Opt.* **19**, 011005 (2013).
- J. Yoon, K. Kim, H. Park, C. Choi, S. Jang, and Y. Park, "Label-free characterization of white blood cells by measuring 3D refractive index maps," *Biomed. Opt. Express* **6**, 3865–3875 (2015).
- S. Lee, K. Kim, Y. Lee, S. Park, H. Shin, J. Ko, H. Park, and Y. Park, "Measurements of morphology and refractive indexes on human downy hairs using three-dimensional quantitative phase imaging," *J. Biomed. Opt.* **20**, 111207 (2015).
- K. Kim, S. Lee, J. Yoon, J. Heo, C. Choi, and Y. Park, "Three-dimensional label-free imaging and quantification of lipid droplets in live hepatocytes," *Sci. Rep.* **6**, 36815 (2016).
- J. Gatfield, K. Menyhart, D. Wanner, C. Gnerre, L. Monnier, K. Morrison, P. Hess, M. Iglarz, M. Clozel, and O. Nayler, "Selexipag active metabolite ACT-333679 displays strong anticontractile and antiremodeling effects but low β -arrestin recruitment and desensitization potential," *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **362**, 186–199 (2017).
- S. Chowdhury, W. J. Eldridge, A. Wax, and J. Izatt, "Refractive index tomography with structured illumination," *Optica* **4**, 537–545 (2017).
- J. Jung, S.-J. Hong, H.-B. Kim, G. Kim, M. Lee, S. Shin, S. Lee, D.-J. Kim, C.-G. Lee, and Y. Park, "Label-free non-invasive quantitative

- measurement of lipid contents in individual microalgal cells using refractive index tomography," *Sci. Rep.* **8**, 6524 (2018).
36. A. Yakimovich, R. Witte, V. Andriasyan, F. Georgi, and U. F. Greber, "Label-free digital holo-tomographic microscopy reveals virus-induced cytopathic effects in live cells," *mSphere* **3**, e00599-18 (2018).
 37. A. Zamyadi, C. Romanis, T. Mills, B. Neilan, F. Choo, L. A. Coral, D. Gale, G. Newcombe, N. Crosbie, R. Stuetz, and R. K. Henderson, "Diagnosing water treatment critical control points for cyanobacterial removal: exploring benefits of combined microscopy, next-generation sequencing, and cell integrity methods," *Water Res.* **152**, 96–105 (2019).
 38. N. Streibl, "Three-dimensional imaging by a microscope," *J. Opt. Soc. Am. A* **2**, 121–127 (1985).
 39. T. C. Wedberg and W. C. Wedberg, "Tomographic reconstruction of the cross-sectional refractive index distribution in semi-transparent, birefringent fibres," *J. Microsc.* **177**, 53–67 (1995).
 40. M. Debailleul, B. Simon, V. Georges, O. Haeberlé, and V. Lauer, "Holographic microscopy and diffractive microtomography of transparent samples," *Meas. Sci. Technol.* **19**, 074009 (2008).
 41. B. Simon, M. Debailleul, A. Beghin, Y. Tourneur, and O. Haeberlé, "High-resolution tomographic diffractive microscopy of biological samples," *J. Biophoton.* **3**, 462–467 (2010).
 42. <https://nanolive.ch/>
 43. <http://tomocube.com/>.
 44. S. A. Alexandrov, T. R. Hillman, T. Gutzler, and D. D. Sampson, "Synthetic aperture Fourier holographic optical microscopy," *Phys. Rev. Lett.* **97**, 168102 (2006).
 45. V. Mico, Z. Zalevsky, P. García-Martínez, and J. García, "Synthetic aperture superresolution with multiple off-axis holograms," *J. Opt. Soc. Am.* **23**, 3162–3170 (2006).
 46. J. R. Price, P. R. Bingham, and C. E. Thomas, Jr., "Improving resolution in microscopic holography by computationally fusing multiple, obliquely illuminated object waves in the Fourier domain," *Appl. Opt.* **46**, 827–833 (2007).
 47. J. Bühl, H. Babovsky, A. Kiessling, and R. Kowarschik, "Digital synthesis of multiple off-axis holograms with overlapping Fourier spectra," *Opt. Commun.* **283**, 3631–3638 (2010).
 48. M. Sarmis, B. Simon, M. Debailleul, B. Colicchio, V. Georges, J.-J. Delaunay, and O. Haeberlé, "High resolution reflection tomographic diffractive microscopy," *J. Mod. Opt.* **57**, 740–745 (2010).
 49. H. Liu, J. Bailleul, B. Simon, M. Debailleul, B. Colicchio, and O. Haeberlé, "Tomographic diffractive microscopy and multiview profilometry with flexible aberration correction," *Appl. Opt.* **53**, 748–755 (2014).
 50. G. Maire, Y. Ruan, T. Zhang, P. C. Chaumet, H. Giovannini, D. Sentenac, A. Talneau, K. Belkebir, and A. Sentenac, "High-resolution tomographic diffractive microscopy in reflection configuration," *J. Opt. Soc. Am.* **30**, 2133–2139 (2013).
 51. S. Vertu, J.-J. Delaunay, I. Yamada, and O. Haeberlé, "Diffraction microtomography with sample rotation: influence of a missing apple core in the recorded frequency space," *Central Eur. J. Phys.* **7**, 22–31 (2009).
 52. S. Vertu, J. Flügge, J.-J. Delaunay, and O. Haeberlé, "Improved and isotropic resolution in tomographic diffractive microscopy combining sample and illumination rotation," *Central Eur. J. Phys.* **9**, 969–974 (2011).
 53. S. Hell and E. H. K. Stelzer, "Properties of a 4Pi confocal fluorescence microscope," *J. Opt. Soc. Am. A* **9**, 2159–2166 (1992).
 54. A. Bilenca, J. Cao, M. Colice, A. Ozcan, B. Bouma, L. Raftery, and G. Tearney, "Fluorescence interferometry," *Ann. N.Y. Acad. Sci.* **1130**, 68–77 (2008).
 55. M. Born and E. Wolf, *Principles of Optics: Electromagnetic Theory of Propagation, Interference and Diffraction of Light* (Elsevier, 2013).
 56. https://omlc.org/calc/mie_calc.html.
 57. C. Park, S. Shin, and Y. Park, "Generalized quantification of three-dimensional resolution in optical diffraction tomography using the projection of maximal spatial bandwidths," *J. Opt. Soc. Am. A* **35**, 1891–1898 (2018).
 58. N. Verrier, C. Fournier, A. Cazier, and T. Fournel, "Co-design of an inline holographic microscope with enhanced axial resolution: selective filtering digital holography," *J. Opt. Soc. Am. A* **33**, 107–116 (2016).
 59. C. Godavarthi, T. Zhang, G. Maire, P. C. Chaumet, H. Giovannini, A. Talneau, K. Belkebir, and A. Sentenac, "Superresolution with full-polarized tomographic diffractive microscopy," *J. Opt. Soc. Am. A* **32**, 287–292 (2015).

- [1] S. Hell et E. H. K. Stelzer, « Properties of a 4pi confocal fluorescence microscope », *Journal of the Optical Society of America A* **9**(12), p. 2159–2166, 1992.
- [2] N. Mujumdar, E. C. Heider et A. D. Campiglia, « Enhancing Textile Fiber Identification with Detergent Fluorescence », *Applied Spectroscopy* **69**(12), p. 1390–1396, 2015.
- [3] P. Kramper, M. Kafesaki, C. M. Soukoulis, A. Birner, F. Müller, U. Gösele, R. B. Wehrspohn, J. Mlynek et V. Sandoghdar, « Near-field visualization of light confinement in a photonic crystal microresonator », *Optics Letters* **29**(2), p. 174–176, 2004.
- [4] D. Sevrain, M. Dubreuil, G. E. Dolman, A. Zaitoun, W. Irving, I. N. Guha, C. Odin et Y. Le Grand, « Evaluation of area-based collagen scoring by nonlinear microscopy in chronic hepatitis C-induced liver fibrosis », *Biomedical Optics Express* **6**(4), p. 1209–1218, 2015.
- [5] K. Hinrichs et T. Shaykhtudinov, « Polarization-Dependent Atomic Force Microscopy–Infrared Spectroscopy (AFM-IR) : Infrared Nanopolarimetric Analysis of Structure and Anisotropy of Thin Films and Surfaces », *Applied Spectroscopy* **72**(6), p. 817–832, 2018.
- [6] F. Zernike, « Phase contrast, a new method for the microscopic observation of transparent objects », *Physica* **9**(7), p. 686–698, 1942.
- [7] F. Zernike, « Phase contrast, a new method for the microscopic observation of transparent objects part II », *Physica* **9**(10), p. 974–986, 1942.
- [8] G. Nomarski, « Microinterferomètre différentiel à ondes polarisées », *Journal de Physique et Le Radium* **16**, p. 9S–13S, 1955.
- [9] M. Minsky, « Microscopy Apparatus », 1961.
- [10] E. Betzig, G. H. Patterson, R. Sougrat, O. W. Lindwasser, S. Olenych, J. S. Bonifacino, M. W. Davidson, J. Lippincott-Schwartz et H. F. Hess, « Imaging Intracellular Fluorescent Proteins at Nanometer Resolution », *Science* **313**(5793), p. 1642–1645, 2006.
- [11] S. W. Hell et J. Wichmann, « Breaking the diffraction resolution limit by stimulated emission : stimulated-emission-depletion fluorescence microscopy », *Optics Letters* **19**(11), p. 780–782, 1994.
- [12] M. G. L. Gustafsson, « Surpassing the lateral resolution limit by a factor of two using structured illumination microscopy », *Journal of Microscopy* **198**(2), p. 82–87, 2000.
- [13] E. Abbe, « Contributions to the Theory of the Microscope and of Microscopic Perception », *Archiv für Mikroskopische Anatomie* **9**(1), p. 413–418, 1873.
- [14] A. Fresnel, « Premier mémoire sur la diffraction de la lumière », 1815.

- [15] D. Gabor, « A New Microscopic Principle », *Nature* **161**(4098), p. 777–778, 1948.
- [16] E. Cuche, F. Bevilacqua et C. Depeursinge, « Digital holography for quantitative phase-contrast imaging », *Optics Letters* **24**(5), p. 291–293, 1999.
- [17] F. Charrière, A. Marian, F. Montfort, J. Kuehn, T. Colomb, E. Cuche, P. Marquet et C. Depeursinge, « Cell refractive index tomography by digital holographic microscopy », *Optics Letters* **31**(2), p. 178–180, 2006.
- [18] M. Debailleul, B. Simon, V. Georges, O. Haeberlé et V. Lauer, « Holographic microscopy and diffractive microtomography of transparent samples », *Measurement Science and Technology* **19**(7), p. 074 009, 2008.
- [19] B. Simon, M. Debailleul, V. Georges, V. Lauer et O. Haeberlé, « Tomographic diffractive microscopy of transparent samples », *The European Physical Journal Applied Physics* **44**(1), p. 29–35, 2008.
- [20] M. Debailleul, V. Georges, B. Simon, R. Morin et O. Haeberlé, « High-resolution three-dimensional tomographic diffractive microscopy of transparent inorganic and biological samples », *Optics Letters* **34**(1), p. 79–81, 2009.
- [21] M. Sarmis, B. Simon, M. Debailleul, B. Colicchio, V. Georges, J.-J. Delaunay et O. Haeberlé, « High resolution reflection tomographic diffractive microscopy », *Journal of Modern Optics* **57**(9), p. 740–745, 2010.
- [22] H. Liu, J. Bailleul, B. Simon, M. Debailleul, B. Colicchio et O. Haeberlé, « Tomographic diffractive microscopy and multiview profilometry with flexible aberration correction », *Applied Optics* **53**(4), p. 748–755, 2014.
- [23] J. Kühn, F. Montfort, T. Colomb, B. Rappaz, C. Moratal, N. Pavillon, P. Marquet et C. Depeursinge, « Submicrometer tomography of cells by multiple-wavelength digital holographic microscopy in reflection », *Optics Letters* **34**(5), p. 653–655, 2009.
- [24] J. Kostencka, T. Kozacki et M. Józwick, « Holographic tomography with object rotation and two-directional off-axis illumination », *Optics Express* **25**(20), p. 23 920–23 934, 2017.
- [25] J. Bailleul, *Microscopie tomographique diffractive à résolution isotrope*, Thèse de doctorat, Université de Haute Alsace, 2016.
- [26] B. Simon, M. Debailleul, M. Houkal, C. Ecoffet, J. Bailleul, J. Lambert, A. Spangenberg, H. Liu, O. Soppera et O. Haeberlé, « Tomographic diffractive microscopy with isotropic resolution », *Optica* **4**(4), p. 460–463, 2017.
- [27] F. Zhang, G. Pedrini et W. Osten, « Phase retrieval of arbitrary complex-valued fields through aperture-plane modulation », *Physical Review A* **75**(4), p. 043 805, 2007.
- [28] P. Gemayel, *Optique adaptative par modulateur spatial de lumière en microscopie et holographie*, Thèse de doctorat, Université de Haute Alsace, 2016.
- [29] E. N. Leith et J. Upatnieks, « Reconstructed Wavefronts and Communication Theory », *Journal of the Optical Society of America* **52**(10), p. 1123–1130, 1962.
- [30] M. Malek, H. Khelfa, P. Picart, D. Mounier et C. Poilâne, « Microtomography imaging of an isolated plant fiber : a digital holographic approach », *Applied Optics* **55**(3), p. A111–A121, 2016.
- [31] J. Zhang, Z. Ren, J. Zhu et Z. Lin, « Phase-shifting lensless Fourier-transform holography with a Chinese Taiji lens », *Optics Letters* **43**(17), p. 4085–4087, 2018.

- [32] S. Mahajan, V. Trivedi, P. Vora, V. Chhaniwal, B. Javidi et A. Anand, « Highly stable digital holographic microscope using Sagnac interferometer », *Optics Letters* **40**(16), p. 3743–3746, 2015.
- [33] F. Jolivet, F. Momey, L. Denis, L. Méès, N. Faure, N. Grosjean, F. Pinston, J.-L. Marié et C. Fournier, « Regularized reconstruction of absorbing and phase objects from a single in-line hologram, application to fluid mechanics and micro-biology », *Optics Express* **26**(7), p. 8923–8940, 2018.
- [34] I. Yamaguchi et T. Zhang, « Phase-shifting digital holography », *Optics Letters* **22**(16), p. 1268–1270, 1997.
- [35] B. Simon, *Application des techniques de déconvolution multinoyaux et de tomographie diffractive optique à l'amélioration de l'imagerie microscopique 2D et 3D*, Thèse de doctorat, Université de Haute Alsace, 2007.
- [36] F. Le Clerc, L. Collot et M. Gross, « Numerical heterodyne holography with two-dimensional photodetector arrays », *Optics Letters* **25**(10), p. 716–718, 2000.
- [37] S. Zhang, D. Van Der Weide et J. Oliver, « Superfast phase-shifting method for 3-D shape measurement », *Optics Express* **18**(9), p. 9684–9689, 2010.
- [38] P. Guo et A. J. Devaney, « Digital microscopy using phase-shifting digital holography with two reference waves », *Optics Letters* **29**(8), p. 857–859, 2004.
- [39] J.-P. Liu et T.-C. Poon, « Two-step-only quadrature phase-shifting digital holography », *Optics Letters* **34**(3), p. 250–252, 2009.
- [40] K. Creath, « Phase-shifting speckle interferometry », *Applied Optics* **24**(18), p. 3053–3058, 1985.
- [41] O. Haerberlé, A. Santenac et H. Giovannini, « An introduction to diffractive tomographic microscopy », dans *Modern Research and Educational Topics in Microscopy, Formatex Microscopy Series*, tome 2, p. 956–967, Formatex, 2007.
- [42] C. Cohen-Tannoudji, B. Diu et F. Laloë, *Mécanique quantique, Savoirs actuels*, tome 1, Coédition CNRS, 2^e édition, oCLC : 1082397980, 2018.
- [43] J. A. Schmalz, G. Schmalz, T. E. Gureyev et K. M. Pavlov, « On the derivation of the Green's function for the Helmholtz equation using generalized functions », *American Journal of Physics* **78**(2), p. 181–186, 2010.
- [44] I. Fredholm, « Sur une classe d'équations fonctionnelles », *Acta Mathematica* **27**, p. 365–390, 1903.
- [45] M. Born, « On the quantum mechanics of collision processes », *Zeitschrift für Physik* **37**(12), p. 863–867, 1926.
- [46] A. C. Kak et M. Slaney, *Principles of computerized tomographic imaging*, IEEE Press, 1988.
- [47] J. B. Keller, « Accuracy and Validity of the Born and Rytov Approximations », *Journal of the Optical Society of America* **59**(8), p. 1003–1004, 1969.
- [48] A. Banos, *Dipole radiation in the presence of a conducting halfspace*, International series of monographs in electromagnetic waves, Pergamon Press, 1^{re} édition, 1966.
- [49] A. J. Devaney, « A filtered backpropagation algorithm for diffraction tomography », *Ultrasonic Imaging* **4**(4), p. 336–350, 1982.

- [50] N. Streibl, « Three-dimensional imaging by a microscope », *Journal of the Optical Society of America A* **2**(2), p. 121–127, 1985.
- [51] F. Olchewsky, J.-M. Desse, D. Donjat et F. Champagnat, « Vertical digital holographic bench for underexpanded jet gas density reconstruction », dans *Digital Holography and 3D Imaging 2019*, p. Th2B.3, OSA, Bordeaux, 2019.
- [52] F. Nicolas, V. Todoroff, A. Plyer, G. Le Besnerais, D. Donjat, F. Micheli, F. Champagnat, P. Cornic et Y. Le Sant, « A direct approach for instantaneous 3d density field reconstruction from background-oriented schlieren (BOS) measurements », *Experiments in Fluids* **57**(1), p. 13, 2016.
- [53] S. A. Alexandrov, T. R. Hillman, T. Gutzler et D. D. Sampson, « Synthetic Aperture Fourier Holographic Optical Microscopy », *Physical Review Letters* **97**(16), p. 168 102, 2006.
- [54] G. Maire, H. Giovannini, A. Talneau, P. C. Chaumet, K. Belkebir et A. Sentenac, « Phase imaging and synthetic aperture super-resolution via total internal reflection microscopy », *Optics Letters* **43**(9), p. 2173–2176, 2018.
- [55] M. K. Kim, « Wavelength-scanning digital interference holography for optical section imaging », *Optics Letters* **24**(23), p. 1693–1695, 1999.
- [56] L. Yu et M. K. Kim, « Wavelength-scanning digital interference holography for tomographic three-dimensional imaging by use of the angular spectrum method », *Optics Letters* **30**(16), p. 2092–2094, 2005.
- [57] T. Kim, R. Zhou, M. Mir, S. D. Babacan, P. S. Carney, L. L. Goddard et G. Popescu, « White-light diffraction tomography of unlabelled live cells », *Nature Photonics* **8**(3), p. 256–263, 2014.
- [58] S. Vertu, J.-J. Delaunay, I. Yamada et O. Haeberlé, « Diffraction microtomography with sample rotation : influence of a missing apple core in the recorded frequency space », *Central European Journal of Physics* **7**(1), p. 22–31, 2009.
- [59] Y.-C. Lin et C.-J. Cheng, « Sectional imaging of spatially refractive index distribution using coaxial rotation digital holographic microtomography », *Journal of Optics* **16**(6), p. 065 401, 2014.
- [60] R. Bachelot, C. Ecoffet, D. Deloeil, P. Royer et D.-J. Lougnot, « Integration of micrometer-sized polymer elements at the end of optical fibers by free-radical photopolymerization », *Applied Optics* **40**(32), p. 5860–5871, 2001.
- [61] J. Kostencka, T. Kozacki, A. Kuś et M. Kujawińska, « Accurate approach to capillary-supported optical diffraction tomography », *Optics Express* **23**(6), p. 7908–7923, 2015.
- [62] K. Kim, J. Yoon et Y. Park, « Simultaneous 3d visualization and position tracking of optically trapped particles using optical diffraction tomography », *Optica* **2**(4), p. 343–346, 2015.
- [63] A. Kus, M. Dudek, B. Kemper, M. Kujawinska et A. Vollmer, « Tomographic phase microscopy of living three-dimensional cell cultures », *Journal of Biomedical Optics* **19**(4), p. 046 009, 2014.
- [64] M. Kujawińska, W. Krauze, A. Kus, J. Kostencka, T. Kozacki, B. Kemper et M. Dudek, « Problems and Solutions in 3-D Analysis of Phase Biological Objects by Optical Diffraction Tomography », *International Journal of Optomechatronics* **8**(4), p. 357–372, 2014.

- [65] A. Ashkin, « Acceleration and Trapping of Particles by Radiation Pressure », *Physical Review Letters* **24**(4), p. 156–159, 1970.
- [66] M. Habaza, B. Gilboa, Y. Roichman et N. T. Shaked, « Tomographic phase microscopy with 180° rotation of live cells in suspension by holographic optical tweezers », *Optics Letters* **40**(8), p. 1881–1884, 2015.
- [67] Y.-c. Lin, H.-C. Chen, H.-Y. Tu, C.-Y. Liu et C.-J. Cheng, « Optically driven full-angle sample rotation for tomographic imaging in digital holographic microscopy », *Optics Letters* **42**(7), p. 1321–1324, 2017.
- [68] J. Gimsa, P. Marszalek, U. Loewe et T. Tsong, « Dielectrophoresis and electrorotation of neurospora slime and murine myeloma cells », *Biophysical Journal* **60**(4), p. 749–760, 1991.
- [69] B. Le Saux, B. Chalmond, Y. Yu, A. Trouvé, O. Renaud et S. Shorte, « Isotropic high-resolution three-dimensional confocal micro-rotation imaging for non-adherent living cells », *Journal of Microscopy* **233**(3), p. 404–416, 2009.
- [70] M. Habaza, M. Kirschbaum, C. Guernth-Marschner, G. Dardikman, I. Barnea, R. Korenstein, C. Duschl et N. T. Shaked, « Rapid 3d Refractive-Index Imaging of Live Cells in Suspension without Labeling Using Dielectrophoretic Cell Rotation », *Advanced Science* **4**(2), p. 1600 205, 2017.
- [71] M. M. Villone, P. Memmolo, F. Merola, M. Mugnano, L. Miccio, P. L. Maffettone et P. Ferraro, « Full-angle tomographic phase microscopy of flowing quasi-spherical cells », *Lab on a Chip* **18**(1), p. 126–131, 2018.
- [72] F. Olchewsky, F. Champagnat et J.-M. Dese, « Multidirectional holographic interferometer for 3d gas density reconstruction », dans *Imaging and Applied Optics 2018*, p. 3W5G.4, OSA, Orlando, Florida, 2018.
- [73] J. W. Goodman, *Introduction to Fourier optics*, W.H. Freeman, Macmillan Learning, New York, 4^e édition, 2017.
- [74] S. S. Kou et C. J. R. Sheppard, « Image formation in holographic tomography : high-aperture imaging conditions », *Applied Optics* **48**(34), p. H168–H175, 2009.
- [75] Y. Cotte, F. Toy, P. Jourdain, N. Pavillon, D. Boss, P. Magistretti, P. Marquet et C. Depeursinge, « Marker-free phase nanoscopy », *Nature Photonics* **7**(2), p. 113–117, 2013.
- [76] J. Lim, K. Lee, K. H. Jin, S. Shin, S. Lee, Y. Park et J. C. Ye, « Comparative study of iterative reconstruction algorithms for missing cone problems in optical diffraction tomography », *Optics Express* **23**(13), p. 16 933–16 948, 2015.
- [77] T. Zhang, K. Unger, G. Maire, P. C. Chaumet, A. Talneau, C. Godhavarti, H. Giovannini, K. Belkebir et A. Sentenac, « Multi-wavelength multi-angle reflection tomography », *Optics Express* **26**(20), p. 26 093, 2018.
- [78] B. Vinoth, X.-J. Lai, Y.-C. Lin, H.-Y. Tu et C.-J. Cheng, « Integrated dual-tomography for refractive index analysis of free-floating single living cell with isotropic superresolution », *Scientific Reports* **8**(1), p. 5943, 2018.
- [79] E. Wolf, « Three-dimensional structure determination of semi-transparent objects from holographic data », *Optics Communications* **1**(4), p. 153–156, 1969.
- [80] R. Dändliker et K. Weiss, « Reconstruction of the three-dimensional refractive index from scattered waves », *Optics Communications* **1**(7), p. 323–328, 1970.

- [81] V. Lauer, « New approach to optical diffraction tomography yielding a vector equation of diffraction tomography and a novel tomographic microscope », *Journal of Microscopy* **205**(2), p. 165–176, 2002.
- [82] M. Gu et C. J. R. Sheppard, « Three-dimensional transfer functions in 4pi confocal microscopes », *Journal of the Optical Society of America A* **11**(5), p. 1619–1627, 1994.
- [83] H. Liu, *Microscopie tomographique diffractive en réflexion et profilométrie multi-angles*, Thèse de doctorat, Université de Haute Alsace, 2012.
- [84] E. Mudry, P. C. Chaumet, K. Belkebir, G. Maire et A. Sentenac, « Mirror-assisted tomographic diffractive microscopy with isotropic resolution », *Optics Letters* **35**(11), p. 1857–1859, 2010.
- [85] G. T. Herman, *Fundamentals of computerized tomography : image reconstruction from projections*, *Advances in pattern recognition*, Springer, Dordrecht ; New York, 2^e édition, oCLC : ocn435423235, 2009.
- [86] A. Burvall, U. Lundström, P. A. C. Takman, D. H. Larsson et H. M. Hertz, « Phase retrieval in X-ray phase-contrast imaging suitable for tomography », *Optics Express* **19**(11), p. 10359–10376, 2011.
- [87] M. K. Kreysing, T. Kießling, A. Fritsch, C. Dietrich, J. R. Guck et J. A. Käs, « The optical cell rotator », *Optics Express* **16**(21), p. 16984–16992, 2008.
- [88] S. Merk, A. Demidov, D. Shelby, I. B. Gornushkin, U. Panne, B. W. Smith et N. Omenetto, « Diagnostic of Laser-Induced Plasma Using Abel Inversion and Radiation Modeling », *Applied Spectroscopy* **67**(8), p. 851–859, 2013.
- [89] V. H. Nguyen, M. Kalal, H. Suk et K. A. Janulewicz, « Interferometric analysis of sub-nanosecond laser-induced optical breakdown dynamics in the bulk of fused-silica glass », *Optics Express* **26**(12), p. 14999–15008, 2018.
- [90] T. Fukuda, Y. Wang, P. Xia, Y. Awatsuji, T. Kakue, K. Nishio et O. Matoba, « Three-dimensional imaging of distribution of refractive index by parallel phase-shifting digital holography using Abel inversion », *Optics Express* **25**(15), p. 18066–18071, 2017.
- [91] S. V. Avtaeva, K. V. Gubin, V. I. Trunov et P. V. Tudev, « Algorithm for supersonic gas jet density profile retrieval from interferometric measurement », *Journal of the Optical Society of America A* **36**(5), p. 910–917, 2019.
- [92] S. Ma, H. Gao et L. Wu, « Modified Fourier-Hankel method based on analysis of errors in Abel inversion using Fourier transform techniques », *Applied Optics* **47**(9), p. 1350, 2008.
- [93] M. El fagrigh et H. Chehouani, « A simple Abel inversion method of interferometric data for temperature measurement in axisymmetric medium », *Optics and Lasers in Engineering* **50**(3), p. 336–344, 2012.
- [94] E. De Micheli, « A fast algorithm for the inversion of Abel's transform », *Applied Mathematics and Computation* **301**, p. 12–24, 2017.
- [95] M. Kalal et K. Nugent, « Abel inversion using fast Fourier transforms », *Applied Optics* **27**(10), p. 1956–1959, 1988.
- [96] A. D. Poularikas, *Transforms and applications handbook*, *Electrical engineering handbook*, CRC Press, 2^e édition, 2000.
- [97] A. V. Oppenheim, A. S. Willsky et S. H. Nawab, *Signals & systems*, *Prentice-Hall signal processing series*, Prentice Hall, Upper Saddle River, N.J., 2^e édition, 1996.

- [98] S. Ma, « Tomography of cylindrical objects : comparison of noise property and accuracy of Abel inversion techniques with and without noise filtering », *Applied Optics* **50**(35), p. 6512–6521, 2011.
- [99] E. Cuche, P. Marquet et C. Depeursinge, « Spatial filtering for zero-order and twin-image elimination in digital off-axis holography », *Applied Optics* **39**(23), p. 4070–4075, 2000.
- [100] M. Born et E. Wolf, *Principles of optics - Electromagnetic theory of propagation, interference and diffraction of light*, Cambridge University Press, 7^e édition, 1999.
- [101] Z. Pan, S. Li et J. Zhong, « Digital holographic microtomography for geometric parameter measurement of optical fiber », *Optical Engineering* **52**(3), p. 035 801, 2013.
- [102] J. C. Dainty, rédacteur, *Laser speckle and related phenomena*, numéro 9 dans Topics in applied physics, Springer, Berlin, oCLC : 1858401, 1975.
- [103] R. C. Gonzalez et R. E. Woods, *Digital image processing*, Prentice Hall, Upper Saddle River, N.J., 3^e édition, 2008.
- [104] A. T. Vouldis, C. N. Kechribaris, T. A. Maniatis, K. S. Nikita et N. K. Uzunoglu, « Investigating the enhancement of three-dimensional diffraction tomography by using multiple illumination planes », *Journal of the Optical Society of America A* **22**(7), p. 1251–1262, 2005.
- [105] K. Kim, K. S. Kim, H. Park, J. C. Ye et Y. Park, « Real-time visualization of 3-D dynamic microscopic objects using optical diffraction tomography », *Optics Express* **21**(26), p. 32 269–32 278, 2013.
- [106] J. Bailleul, B. Simon, M. Debailleul, L. Foucault, N. Verrier et O. Haeberlé, « Tomographic diffractive microscopy : Towards high-resolution 3-D real-time data acquisition, image reconstruction and display of unlabeled samples », *Optics Communications* **422**, p. 28–37, 2018.
- [107] M. Xiao, J. Nieto, J. Siqueiros et R. Machorro, « Simple device for making optical fiber tips for scanning near field optical microscopes », *Review of Scientific Instruments* **68**(7), p. 2787–2789, 1997.
- [108] A. J. Devaney, « Inverse-scattering theory within the Rytov approximation », *Optics Letters* **6**(8), p. 374–376, 1981.
- [109] H. Xia, S. Montessor, R. Guo, J. Li, F. Olchewsky, J.-M. Dese et P. Picart, « Robust processing of phase dislocations based on combined unwrapping and inpainting approaches », *Optics Letters* **42**(2), p. 322–325, 2017.
- [110] Y. Park, C. Depeursinge et G. Popescu, « Quantitative phase imaging in biomedicine », *Nature Photonics* **12**(10), p. 578–589, 2018.
- [111] M. Fauver, E. J. Seibel, J. R. Rahn, M. G. Meyer, F. W. Patten, T. Neumann et A. C. Nelson, « Three-dimensional imaging of single isolated cell nuclei using optical projection tomography », *Optics Express* **13**(11), p. 4210–4223, 2005.
- [112] J. Kostencka, T. Kozacki, M. Dudek et M. Kujawińska, « Noise suppressed optical diffraction tomography with autofocus correction », *Optics Express* **22**(5), p. 5731–5745, 2014.
- [113] F. B. Hildebrand, *Introduction to numerical analysis*, Dover Publications, New York, 2^e édition, 1987.
- [114] L. Foucault, N. Verrier, M. Debailleul, B. Simon et O. Haeberlé, « Simplified tomographic diffractive microscopy for axisymmetric samples », *OSA Continuum* **2**(4), p. 1039–1055, 2019.

- [115] J. G. Hardy, L. M. Römer et T. R. Scheibel, « Polymeric materials based on silk proteins », *Polymer* **49**(20), p. 4309–4327, 2008.
- [116] S. Ubaid, F. Liao, S. Linghu, J. Yu et F. Gu, « Electrospun polymer bottle microresonators for stretchable single-mode lasing devices », *Optics Letters* **43**(13), p. 3128–3131, 2018.
- [117] C. Macias-Romero, I. Nahalka, H. I. Okur et S. Roke, « Optical imaging of surface chemistry and dynamics in confinement », *Science* **357**(6353), p. 784–788, 2017.
- [118] I. G. Loscertales, « Micro/Nano Encapsulation via Electrified Coaxial Liquid Jets », *Science* **295**(5560), p. 1695–1698, 2002.
- [119] F. Liu et C.-H. Chen, « Electrohydrodynamic cone-jet bridges : Stability diagram and operating modes », *Journal of Electrostatics* **72**(4), p. 330–335, 2014.
- [120] S. Hennig, S. van de Linde, M. Lummer, M. Simonis, T. Huser et M. Sauer, « Instant Live-Cell Super-Resolution Imaging of Cellular Structures by Nano-injection of Fluorescent Probes », *Nano Letters* **15**(2), p. 1374–1381, 2015.
- [121] V. Contreras, R. Valencia, J. Peralta, H. Sobral, M. A. Meneses-Nava et H. Martinez, « Chemical elemental analysis of single acoustic-levitated water droplets by laser-induced breakdown spectroscopy », *Optics Letters* **43**(10), p. 2260–2263, 2018.
- [122] A. Eddi, K. G. Winkels et J. H. Snoeijer, « Short time dynamics of viscous drop spreading », *Physics of Fluids* **25**(1), p. 013 102, 2013.
- [123] S. Jradi, O. Soppera, D. J. Lougnot, R. Bachelot et P. Royer, « Tailoring the geometry of polymer tips on the end of optical fibers via control of physico-chemical parameters », *Optical Materials* **31**(4), p. 640–646, 2009.
- [124] D. J. Little et D. M. Kane, « Subdiffraction-limited radius measurements of microcylinders using conventional bright-field optical microscopy », *Optics Letters* **39**(17), p. 5196–5199, 2014.
- [125] C. Fournier, F. Jolivet, L. Denis, N. Verrier, E. Thiebaut, C. Allier et T. Fournel, « Pixel super-resolution in digital holography by regularized reconstruction », *Applied Optics* **56**(1), p. 69–77, 2017.
- [126] F. Momey, A. Berdeu, T. Bordy, J.-M. Dinten, F. K. Marcel, N. Picollet-D’ahan, X. Gidrol et C. Allier, « Lensfree diffractive tomography for the imaging of 3d cell cultures », *Biomedical Optics Express* **7**(3), p. 949–962, 2016.
- [127] A. Berdeu, F. Momey, B. Laperrousaz, T. Bordy, X. Gidrol, J.-M. Dinten, N. Picollet-D’ahan et C. Allier, « Comparative study of fully three-dimensional reconstruction algorithms for lens-free microscopy », *Applied Optics* **56**(13), p. 3939–3951, 2017.
- [128] K. Kim, H. Yoon, M. Diez-Silva, M. Dao, R. R. Dasari et Y. Park, « High-resolution three-dimensional imaging of red blood cells parasitized by Plasmodium falciparum and in situ hemozoin crystals using optical diffraction tomography », *Journal of Biomedical Optics* **19**(1), p. 011 005, 2013.
- [129] Y. Sung et R. R. Dasari, « Deterministic regularization of three-dimensional optical diffraction tomography », *Journal of the Optical Society of America A* **28**(8), p. 1554–1561, 2011.
- [130] S. J. LaRoque, E. Y. Sidky et X. Pan, « Accurate image reconstruction from few-view and limited-angle data in diffraction tomography », *Journal of the Optical Society of America A* **25**(7), p. 1772–1782, 2008.

- [131] A. Papoulis, « A new algorithm in spectral analysis and band-limited extrapolation », *IEEE Transactions on Circuits and Systems* **22**(9), p. 735–742, 1975.
- [132] N. K. Kamila, rédacteur, *Handbook of Research on Emerging Perspectives in Intelligent Pattern Recognition, Analysis, and Image Processing*, Advances in Computational Intelligence and Robotics, IGI Global, 2016.
- [133] P. Chatterjee, S. Mukherjee, S. Chaudhuri et G. Seetharaman, « Application Of Papoulis-Gerchberg Method In Image Super-Resolution and Inpainting », *The Computer Journal* **52**(1), p. 80–89, 2008.
- [134] R. Fiolka, K. Wicker, R. Heintzmann et A. Stemmer, « Simplified approach to diffraction tomography in optical microscopy », *Optics Express* **17**(15), p. 12 407–12 417, 2009.
- [135] J. B. Pawley, *Handbook of biological confocal microscopy*, Springer, third edition édition, 2006.
- [136] W. Krauze, P. Makowski, M. Kujawińska et A. Kuś, « Generalized total variation iterative constraint strategy in limited angle optical diffraction tomography », *Optics Express* **24**(5), p. 4924–4936, 2016.
- [137] Y. Cotte, F. M. Toy, C. Arfire, S. S. Kou, D. Boss, I. Bergoënd et C. Depeursinge, « Realistic 3d coherent transfer function inverse filtering of complex fields », *Biomedical Optics Express* **2**(8), p. 2216–2230, 2011.
- [138] C. Park, S. Shin et Y. Park, « Generalized quantification of three-dimensional resolution in optical diffraction tomography using the projection of maximal spatial bandwidths », *Journal of the Optical Society of America A* **35**(11), p. 1891–1898, 2018.
- [139] S. Kawata, O. Nakamura et S. Minami, « Optical microscope tomography I Support constraint », *Journal of the Optical Society of America A* **4**(1), p. 292–297, 1987.
- [140] P. C. Chaumet, K. Belkebir et A. Sentenac, « Experimental microwave imaging of three-dimensional targets with different inversion procedures », *Journal of Applied Physics* **106**(3), p. 034 901, 2009.
- [141] V. Britanak, P. C. Yip et K. R. Rao, *Discrete cosine and sine transforms : general properties, fast algorithms and integer approximations*, Elsevier, 2007.
- [142] R. Barrer et S. Joseph, « Refractometry of Living Cells », *Journal of Cell Science* **s3-95**(32), p. 399–432, 1954.
- [143] L. E. Scriven, « Physics and Applications of DIP Coating and Spin Coating », *MRS Proceedings* **121**, p. 717, 1988.
- [144] L. Foucault, N. Verrier, M. Debailleul, J.-B. Courbot, B. Colicchio, B. Simon, L. Vonna et O. Haeberlé, « Versatile transmission/reflection tomographic diffractive microscopy approach », *Journal of the Optical Society of America A* **36**(11), p. C18–C27, 2019.
- [145] C. Godavarthi, T. Zhang, G. Maire, P. C. Chaumet, H. Giovannini, A. Talneau, K. Belkebir et A. Sentenac, « Superresolution with full-polarized tomographic diffractive microscopy », *Journal of the Optical Society of America A* **32**(2), p. 287–292, 2015.
- [146] D. Podanchuk, A. Kovalenko, V. Kurashov, M. Kotov, A. Goloborodko et V. Danko, « Bottlenecks of the wavefront sensor based on the Talbot effect », *Applied Optics* **53**(10), p. B223–B230, 2014.
- [147] F. Roddier, « Curvature sensing and compensation : a new concept in adaptive optics », *Applied Optics* **27**(7), p. 1223, 1988.

- [148] A. D. Fisher et C. Warde, « Technique for real-time high-resolution adaptive phase compensation », *Optics Letters* **8**(7), p. 353–355, 1983.
- [149] O. Guyon, « High Sensitivity Wavefront Sensing with a Nonlinear Curvature Wavefront Sensor », *Publications of the Astronomical Society of the Pacific* **122**(887), p. 49–62, 2010.
- [150] R. Ragazzoni, « Pupil plane wavefront sensing with an oscillating prism », *Journal of Modern Optics* **43**(2), p. 289–293, 1996.
- [151] K. El Hadi, M. Vignaux et T. Fusco, « Development of a Pyramid Wave-front Sensor », dans *Proceedings of the Third AO4ELT Conference*, p. 99, Florence, 2013.
- [152] R. V. Shack, « Production and use of a lenticular hartmann screen », *Journal of the Optical Society of America* **20**(61), p. 656–660, 1971.
- [153] F. Rigaut, B. L. Ellerbroek et M. J. Northcott, « Comparison of curvature-based and Shack–Hartmann-based adaptive optics for the Gemini telescope », *Applied Optics* **36**(13), p. 2856–2868, 1997.
- [154] E. Moreno-Barriuso et R. Navarro, « Laser Ray Tracing versus Hartmann–Shack sensor for measuring optical aberrations in the human eye », *Journal of the Optical Society of America A* **17**(6), p. 974–985, 2000.
- [155] J. Primot et N. Guérineau, « Extended Hartmann Test Based on the Pseudoguiding Property of a Hartmann Mask Completed by a Phase Chessboard », *Applied Optics* **39**(31), p. 5715–5720, 2000.
- [156] J.-C. F. Chanteloup et M. Cohen, « Compact high resolution four wave lateral shearing interferometer », dans *Optical Fabrication, Testing, and Metrology*, tome 5252, p. 282, St. Etienne, France, 2004.
- [157] J.-C. Chanteloup, « Multiple-wave lateral shearing interferometry for wave-front sensing », *Applied Optics* **44**(9), p. 1559–1571, 2005.
- [158] S. Velghe, J. Primot, N. Guérineau, R. Haïdar, S. Demoustier, M. Cohen et B. Wattellier, « Advanced wave-front sensing by quadri-wave lateral shearing interferometry », dans *Interferometry XIII : Techniques and Analysis*, tome 6292, SPIE, San Diego, 2006.
- [159] P. Bon, G. Maucort, B. Wattellier et S. Monneret, « Quadriwave lateral shearing interferometry for quantitative phase microscopy of living cells », *Optics Express* **17**(15), p. 13 080–13 094, 2009.
- [160] P. Picart et M. Malek, « Complex field recovering from in-line digital holography », *Optics Letters* **38**(17), p. 3230–3232, 2013.
- [161] J.-M. Desse, P. Picart et F. Olchewsky, « Quantitative phase imaging in flows with high resolution holographic diffraction grating », *Optics Express* **23**(18), p. 23 726–23 737, 2015.
- [162] V. V. Volkov et Y. Zhu, « Deterministic phase unwrapping in the presence of noise », *Optics Letters* **28**(22), p. 2156–2158, 2003.
- [163] P. Bon, S. Monneret et B. Wattellier, « Noniterative boundary-artifact-free wavefront reconstruction from its derivatives », *Applied Optics* **51**(23), p. 5698–5704, 2012.
- [164] S. Li, Y. Zhao et Y. Ye, « Self-calibrated and SNR-enhanced particle holography », *Journal of the Optical Society of America A* **36**(8), p. 1395–1401, 2019.

- [165] Y. Ruan, P. Bon, E. Mudry, G. Maire, P. C. Chaumet, H. Giovannini, K. Belkebir, A. Talneau, B. Wattellier, S. Monneret et A. Sentenac, « Tomographic diffractive microscopy with a wavefront sensor », *Optics Letters* **37**(10), p. 1631–1633, 2012.
- [166] E. Fearon, T. Sato, D. Wellburn, K. Watkins et G. Dearden, « Thermal effects of substrate materials used in the laser curing of particulate silver inks », dans *Laser Assisted Net Shape Engineering* 5, tome 5, p. 379–390, Meisenbach, Bamberg, 2007.
- [167] T. Colomb, F. Montfort, J. Kühn, N. Aspert, E. Cuche, A. Marian, F. Charrière, S. Bourquin, P. Marquet et C. Depeursinge, « Numerical parametric lens for shifting, magnification, and complete aberration compensation in digital holographic microscopy », *Journal of the Optical Society of America A* **23**(12), p. 3177–3190, 2006.
- [168] N. Verrier et M. Atlan, « Off-axis digital hologram reconstruction : some practical considerations », *Applied Optics* **50**(34), p. H136–H146, 2011.
- [169] L. Tian, X. Li, K. Ramchandran et L. Waller, « Multiplexed coded illumination for Fourier Ptychography with an LED array microscope », *Biomedical Optics Express* **5**(7), p. 2376–2389, 2014.
- [170] R. Horstmeyer, J. Chung, X. Ou, G. Zheng et C. Yang, « Diffraction tomography with Fourier ptychography », *Optica* **3**(8), p. 827–835, 2016.
- [171] J. Li, Q. Chen, J. Zhang, Y. Zhang, L. Lu et C. Zuo, « Efficient quantitative phase microscopy using programmable annular LED illumination », *Biomedical Optics Express* **8**(10), p. 4687, 2017.
- [172] Z. F. Phillips, M. V. D'Ambrosio, L. Tian, J. J. Rulison, H. S. Patel, N. Sadras, A. V. Gande, N. A. Switz, D. A. Fletcher et L. Waller, « Multi-Contrast Imaging and Digital Refocusing on a Mobile Microscope with a Domed LED Array », *PLOS ONE* **10**(5), p. e0124938, 2015.
- [173] M. Alotaibi, S. Skinner-Ramos, A. Alamri, B. Alharbi, M. Alfarraj et L. Grave de Peralta, « Illumination-direction multiplexing Fourier ptychographic microscopy using hemispherical digital condensers », *Applied Optics* **56**(14), p. 4052–4057, 2017.
- [174] J. Jung, K. Kim, J. Yoon et Y. Park, « Hyperspectral optical diffraction tomography », *Optics Express* **24**(3), p. 2006–2012, 2016.
- [175] Y. Sung, « Spectroscopic Microtomography in the Visible Wavelength Range », *Physical Review Applied* **10**(5), p. 054041, 2018.
- [176] R. J. Wombell et J. A. DeSanto, « Reconstruction of rough-surface profiles with the Kirchhoff approximation », *Journal of the Optical Society of America A* **8**(12), p. 1892–1897, 1991.
- [177] S. Caorsi, A. Massa et M. Pastorino, « Rytov approximation : application to scattering by two-dimensional weakly nonlinear dielectrics », *Journal of the Optical Society of America A* **13**(3), p. 509–516, 1996.
- [178] P. Müller, M. Schürmann et J. Guck, « The Theory of Diffraction Tomography », arXiv :1507.00466 [physics, q-bio] ArXiv : 1507.00466, 2015.
- [179] N. T. Shaked, Z. Zalevsky et L. L. Satterwhite, rédacteurs, *Biomedical optical phase microscopy and nanoscopy*, Elsevier, oCLC : ocn793581685, 2012.

Ludovic Foucault

Microscope tomographique diffractif : simplification des acquisitions et reconstructions numériques associées

Résumé

Analyser la structure de spécimens non marqués basée sur la distribution de l'indice de réfraction est un principe d'imagerie optique ayant fait ses preuves depuis plusieurs décennies. La carte 3D d'indice de réfraction peut notamment être quantifiée à l'aide de la tomographie diffractive, technique fondée sur la théorie de la diffraction de la lumière. L'inconvénient de cette méthode est la nécessité de réaliser plusieurs acquisitions à des angles d'illumination différents. Des voies de simplification du microscope tomographique diffractif (MTD) sont ainsi envisagées afin de diminuer les temps d'acquisitions et de reconstruction.

Les spécimens axisymétriques (symétrie cylindrique) sont très souvent reconstruits à l'aide de l'inversion de la transformée d'Abel. Cependant, cette technique ne tenant pas compte de la diffraction, elle ne permet pas d'imager des objets microscopiques. Par conséquent, partant d'une acquisition holographique (un seul angle d'illumination) ou tomographique (plusieurs angles), une simple rotation numérique des données autour de l'axe de symétrie de l'objet permet d'obtenir une résolution quasi-isotrope, similaire à celle d'une rotation physique du spécimen. L'avantage réside ainsi dans la rapidité de reconstruction en trois dimensions, combinant rotations d'illumination et de spécimen.

Il est aussi possible de tirer parti de la préparation de l'échantillon afin de simplifier les acquisitions. Après avoir placé le spécimen sur un polymère transparent, lui-même déposé sur un matériau réfléchissant, une acquisition tomographique en rotation d'illumination est réalisée. Cependant, l'image obtenue contenant l'objet et sa réplique due à l'effet miroir, une reconstruction traditionnelle ne permet pas de séparer les informations. Pour reconstruire l'objet, une démodulation s'appuyant uniquement sur des transformées de Fourier et inversant l'effet miroir est proposée. Cette technique permet *in fine* de transformer un système de MTD en réflexion seule en un MTD couplant réflexion et transmission, à l'instar d'un microscope 4π .

La complexité d'un MTD peut être un frein à son utilisation quotidienne, malgré l'existence de dispositifs commerciaux. La simplification du montage peut notamment passer par l'utilisation d'un analyseur de front d'onde, permettant d'obtenir le front d'onde complexe sans bras de référence. Ainsi, la reconstruction de la carte d'indice en trois dimensions s'en trouve grandement simplifiée. En combinant cet appareil avec une matrice de LED, remplaçant le balayage mécanique de l'illumination par une commande numérique, le tout greffé à un bâti de microscope commercial, le dispositif pourrait être proposé comme solution alternative de mesure et d'analyse de spécimens vivants pour les biologistes par exemple.

Mots-clés : holographie numérique, tomographie diffractive, rétropropagation, indice 3D, analyseur de front d'onde.

Abstract

Analyzing unlabelled specimen structure based on refractive index is an imaging technique which has stood the test for decades. The 3D refractive index map can be quantified using diffractive tomography, built on inverse scattering light theory. The drawback of this method is the need for multiple holographic acquisitions at different illumination angles. Ways of simplification of the tomographic diffractive microscope (TDM) are discussed in order to reduce both acquisition and reconstruction times.

Axisymmetric samples (cylindrical symmetry) are often reconstructed applying inverse Abel transform. However, as this technique does account for diffraction, it cannot be used in microscopy. Hence, starting from an holographic (single illumination angle) or tomographic (many angles) acquisition, a simple numerical rotation of data around the axis of symmetry allows for retrieving an almost isotropic resolution, similar to a physical rotation of the object. The advantage of this approach lies in its three dimensional reconstruction speed, combining both illumination and specimen rotations.

It is also possible to exploit sample preparation in order to simplify acquisitions. After putting the sample onto a transparent polymer, itself deposited onto a reflecting material, a tomographic acquisition with illumination rotation is performed. However, as the recorded image includes both the object and its replica due to the mirror effect, a traditional reconstruction is not enough to separate the information. In order to reconstruct the object, a demodulation process only relying on Fourier transforms and mirror effect inversion is proposed. This technique allows for a transformation of a reflexion TDM to a combined reflexion/transmission TDM, as in a 4π microscope.

TDM complexity can be challenging to use as a routine, despite available commercial systems. The setup simplification can be brought up using a wave-front sensor, allowing for retrieving the complex wave-front without a reference arm. Thus, reconstruction of the three dimensional index map is eased. Combining this device with a LED matrix, i.e. substituting a mechanical scanning of the illumination by a digital command, this setup could be proposed as an alternative for living samples measurement and analysis for example.

Mots-clés : digital holography, diffractive tomography, retropropagation, 3D index, wave-front sensor.