

## Abstract

Nonlinear optical microscopy (NLOM) is a very powerful tool for live tissue imaging. It does not require staining of the samples and offers high spatial resolution and molecular specificity. Thanks to the combination of different nonlinear contrast mechanisms, such as two-photon fluorescence (TPEF), second harmonic generation (SHG) and coherent anti-Stokes Raman scattering (CARS), NLOM is now emerging as a serious candidate for future in-vivo label-free optical histology. However, the translation of nonlinear imaging into clinics depends very much on the development of miniature and portable endoscope probes. One main issue is represented by the transmission of the excitation ultra-short pulses with optical fibers. Pulse propagation in classical silica fibers is affected by a number of problems, such as temporal and spectral broadening, or generation of a strong background at the CARS wavelength. In this thesis, we propose the use of a novel type of photonic crystal fiber, the Kagomé lattice hollow core fiber, for the delivery of ultra-short pulses in nonlinear endoscopy. These fibers allow undistorted pulse delivery, over a broad transmission window, with minimum background signal generated in the fiber, thanks to the propagation in a hollow-core. We solved the problem of spatial resolution by means of a silica micro-bead inserted in the Kagomé fiber large core. We have developed a miniature imaging system, based on a piezo-electric tube scanner, an achromatic micro-lenses assembly and a custom design Kagomé double-clad fiber. With this system we were able to image biological tissues, in endoscope modality, activating different contrasts such as TPEF, SHG and CARS, a result which finds no equal in current literature. The integration in a portable probe (4.2 mm in diameter) shows the potential of this system for future in-vivo multimodal endoscopy.

Key words: Nonlinear optical microscopy; endoscopy; micro-structured optical fibers; Kagomé fibers; ultrashort pulse delivery; deep tissue imaging; coherent Raman scattering.

## Résumé

La microscopie optique non linéaire (NLOM) est aujourd'hui un outil important pour l'imagerie des tissus en temps réel. Elle ne nécessite pas du marquage des échantillons et offre haute résolution spatiale et spécificité moléculaire. À l'aide de la combinaison de différents mécanismes de contraste non linéaires, tels que la fluorescence à deux photons (TPEF), la génération de seconde harmonique (SHG) et la diffusion anti-Stokes Raman cohérente (CARS), la NLOM se présente un candidat pour l'application à l'histologie optique sans marquage. Cependant, le transfert de l'imagerie non linéaire dans les hôpitaux dépend fortement du développement de sondes endoscopiques flexibles et miniaturisées. La transmission des impulsions ultra-courtes, avec des fibres optiques, est l'un des principaux problèmes à régler. Il existe des nombreux effets liés à la propagation des impulsions dans les fibres de silice classiques, tels que l'élargissement temporel et spectral, ou la génération d'un bruit de fond à la longueur d'onde CARS. Dans cette thèse, nous proposons l'utilisation d'un nouveau type de fibre à cristal photonique, la fibre Kagomé à coeur creux, pour la livraison d'impulsions ultra-courtes en endoscopie non linéaire. Ces fibres permettent la livraison d'impulsions sans distorsion sur une large bande spectrale, avec un faible bruit de fond, grâce à la propagation dans le coeur creux. Nous avons résolu le problème de la résolution spatiale, à l'aide d'une microbille en silice, insérée dans le coeur de la fibre Kagomé. Nous avons développé un système d'imagerie compacte, qui utilise un tube piezo-électrique pour le balayage du faisceau, un système achromatique de microlentilles et une fibre Kagomé double gaine, spécialement conçue pour l'endoscopie. Avec ce système, nous avons réussi à imager des tissus biologiques, à l'extrémité distale de la fibre, en utilisant des différentes techniques tels que TPEF, SHG et CARS, un résultat qui ne trouve pas égale dans la littérature actuelle. L'intégration dans une sonde portable (4,2 mm de diamètre) montre le potentiel de ce système pour de futures applications en endoscopie multimodale in-vivo.

**Key words:** Microscopie optique non-linéaire; endoscopie; fibres optiques micro-structurées ; fibres Kagomé; livraison des impulsions ultra-courtes; imagerie des tissus en profondeur; diffusion Raman cohérente.