

Un nouvel ultra-microscope à éclairage bilatéral

Autor(en): **Spieler, C.**

Objektyp: **Article**

Zeitschrift: **Archives des sciences physiques et naturelles**

Band (Jahr): **8 (1926)**

PDF erstellt am: **11.08.2024**

Persistenter Link: <https://doi.org/10.5169/seals-742381>

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Inhalten der Zeitschriften. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern.

Die auf der Plattform e-periodica veröffentlichten Dokumente stehen für nicht-kommerzielle Zwecke in Lehre und Forschung sowie für die private Nutzung frei zur Verfügung. Einzelne Dateien oder Ausdrucke aus diesem Angebot können zusammen mit diesen Nutzungsbedingungen und den korrekten Herkunftsbezeichnungen weitergegeben werden.

Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Die systematische Speicherung von Teilen des elektronischen Angebots auf anderen Servern bedarf ebenfalls des schriftlichen Einverständnisses der Rechteinhaber.

Haftungsausschluss

Alle Angaben erfolgen ohne Gewähr für Vollständigkeit oder Richtigkeit. Es wird keine Haftung übernommen für Schäden durch die Verwendung von Informationen aus diesem Online-Angebot oder durch das Fehlen von Informationen. Dies gilt auch für Inhalte Dritter, die über dieses Angebot zugänglich sind.

UN NOUVEL ULTRA-MICROSCOPE

A ÉCLAIRAGE BILATÉRAL

PAR

Ch. SPIERER

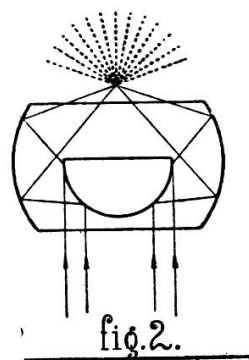
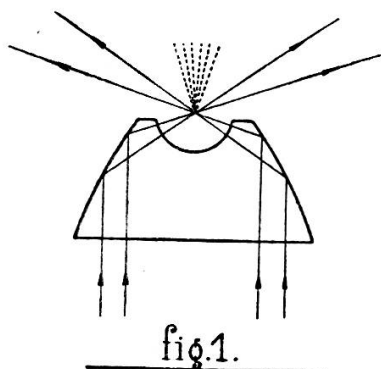
(Avec 6 figures et 6 planches.)

Dans l'examen microscopique normal, l'objet se trouve éclairé par transparence et son image agrandie est formée, conformément à la théorie d'Abbe, par deux sortes de rayons: les uns, que nous appelons les rayons directs, arrivent à l'objectif après avoir traversé la préparation et sans subir de déviation appréciable au niveau de cette dernière; ils sont cependant modifiés par l'absorption de certaines de leurs radiations dans les structures de l'objet et sont, par conséquent, moins intenses que les rayons ayant passé autour de l'objet; ce qui fait que, dans l'image microscopique normale, le champ est toujours plus lumineux que l'objet lui-même; la seconde catégorie de rayons, qui contribuent nécessairement à la formation de l'image, est due à la diffraction d'une partie de la lumière éclairante au niveau des structures de l'objet.

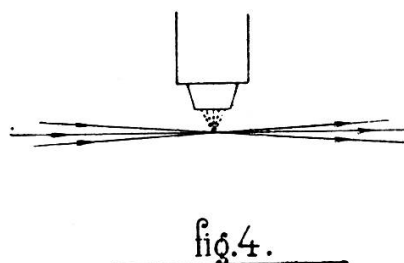
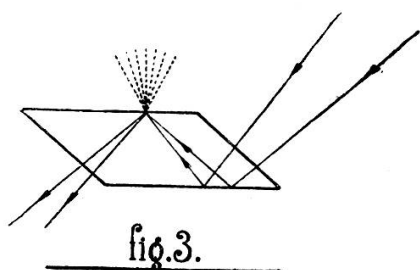
Dans ce qu'on appelle communément l'examen microscopique sur fond noir, les rayons qui éclairent l'objet ne pénètrent pas directement dans l'objectif; ici, l'image n'est plus constituée que par des rayons de lumière diffractée ou diffusée au niveau des structures et particules de l'objet, qui apparaissent alors vivement éclairées sur un fond sombre. Lorsque cet examen sur fond noir s'applique à des particules matérielles si petites qu'elles ne seraient absolument pas discernables sur un fond clair, on parle d'observation ultra-microscopique et d'objets ultra-microscopiques. Toutefois, les appareils courants d'éclairage ultra-microscopique et sur fond noir sont identiques comme construction et fonctionnement; pour simplifier, nous les désignerons tous par le terme « ultra-microscopique ».

On a employé différents dispositifs pour réaliser l'éclairage ultra-microscopique.

Dès l'année 1850, Wenham¹ créa son condensateur parabololoïde à fond noir (fig. 1) dont dérivent en droite ligne certains des



appareils les plus modernes et les plus répandus, comme, par exemple, le condensateur parabololoïde de Siedentopf. Dans le modèle de Nachet (fig. 2), la lumière est concentrée au niveau de l'objet, sur une surface de très faible étendue, après double réflexion sur miroir convexe et sur miroir concave.



Cotton et Mouton² ont employé pour leurs recherches sur les colloïdes un dispositif différent (fig. 3), constitué par un bloc de verre prismatique sur deux faces duquel la lumière incidente subit la réflexion totale; ceci se produit notamment sur la face qui porte la préparation à examiner. Remarquons que, dans tous ces systèmes, l'objet est, en définitive, éclairé *obliquement, de bas en haut*.

¹ F. MONPILLARD, *Macrophotographie et Microphotographie*, Doin, Paris, 1926.

² COTTON et MOUTON, *Les ultra-microscopes et les objets ultra-microscopiques*, Masson, Paris, 1908.

Siedentopf et Zsigmondy¹ employèrent pour leurs recherches communes sur les colloïdes, qui datent de 1903, un éclairage intense à peu près *perpendiculaire à l'axe du microscope* (fig. 4). Enfin, Siedentopf a indiqué une méthode différente pour obtenir l'éclairage sur fond noir, consistant à éclairer l'objet *parallèlement à l'axe du microscope, de bas en haut*, tout en interceptant le faisceau éclairant par une petite surface plane taillée sur le sommet de la lentille frontale et rendue opaque par du vernis

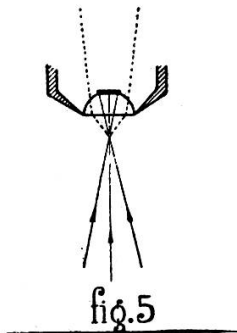


fig.5

noir (fig. 5). Seuls, les rayons diffractés traversent l'objectif et concourent à la formation de l'image; l'objet apparaît alors vivement éclairé sur un fond sombre.

Il est évident que, dans une question aussi délicate que celle de l'éclairage d'objets microscopiques et ultra-microscopiques, il ne peut pas être indifférent d'éclairer ces objets obliquement, parallèlement ou perpendiculairement à l'axe du microscope, pour réaliser un optimum de visibilité. L'expérience et la théorie indiquent, au contraire, que l'angle d'incidence du faisceau éclairant joue, sous ce rapport, un rôle capital, comme il en est, d'ailleurs, en microscopie ordinaire.

On doit donc se poser la question: quelle est de toutes ces méthodes d'éclairage, préconisées par différents auteurs et constructeurs, la plus apte à l'examen ultra-microscopique ?

Nous avons essayé les divers procédés sur des séries d'objets de nature différente; en plus, nous avons introduit dans nos expériences l'éclairage *oblique coaxial venant de haut en bas* et l'éclairage *vertical dirigé également de haut en bas*, ensuite

¹ H. SIEDENTOPF, *Ueber die physikalischen Prinzipien der Sichtbarmachung ultramikroskopischer Teilchen*, Berlin, 1904.

nous avons fait usage des *rayons ultra-violets* avec des objectifs oculaires et condensateurs construits en quartz sur la base des travaux de Köhler et von Rohr¹; finalement, nous avons appliqué *l'éclairage bicolore*, que nous avons déjà décrit en 1921², mais dont les premiers essais, qui sont dus à Rheinberg³, remontent à l'année 1896.

La conclusion à laquelle nous ont conduit nos recherches, c'est que chacune de ces méthodes d'éclairage présente ses avantages particuliers et ses insuffisances; que tel procédé réussit avec tels objets et que tel autre donne des résultats meilleurs avec des objets de nature différente; que, d'autre part, dans une même préparation, telles structures ou particules apparaissent sous une certaine illumination, tandis que de nouveaux détails ne nous sont révélés qu'à la condition de modifier soit l'angle d'incidence, soit la nature même de la lumière servant à l'éclairage. D'où cette conséquence pratique que, si nous voulons porter l'instrument ultra-microscopique à son maximum d'efficacité, il faut le construire de façon telle qu'on puisse éclairer l'objet à examiner sous toutes sortes d'angles d'incidence et en toutes sortes de lumières. Cette synthèse a été réalisée dans l'appareil que nous avons présenté le 3 juin 1926 à la Société de physique et d'histoire naturelle de Genève, sous le nom d'« ultra-microscope à éclairage bilatéral » et que nous avons pu construire grâce au concours de la Maison Nacet de Paris.

L'appareil complet représenté en coupe longitudinale par la figure 6 se compose de deux organes distincts:

1^o Un objectif spécial, de préférence à immersion, à l'intérieur duquel est placée, dans l'axe, une minuscule rondelle métallique, dont la surface réfléchissante (8), tournée vers la préparation, renvoie sur celle-ci, de haut en bas, les rayons tels que (49) qui la frappent après avoir traversé l'objet de bas en haut. Cet objectif

¹ KOHLER et VON ROHR, Mikrophotographische Einrichtung für ultra-violettes Licht, *Zeitschrift für Instrumentenkunde*, p. 000 (1904).

² RHEINBERG, Multiple colour illumination, dans les Comptes Rendus de la Royal Microscopical Society, 1896, p. 373.

³ C. SPIERER, Exposé d'invention dans brevet suisse N^o 98827 (1921) et brevets additionnels Nos 100630 et 100631 (1922).

à lui seul constitue un ultra-microscope à éclairage bilatéral assez satisfaisant qui, chose importante, met l'ultra-microscopie à la portée de toute personne possédant déjà un micros-

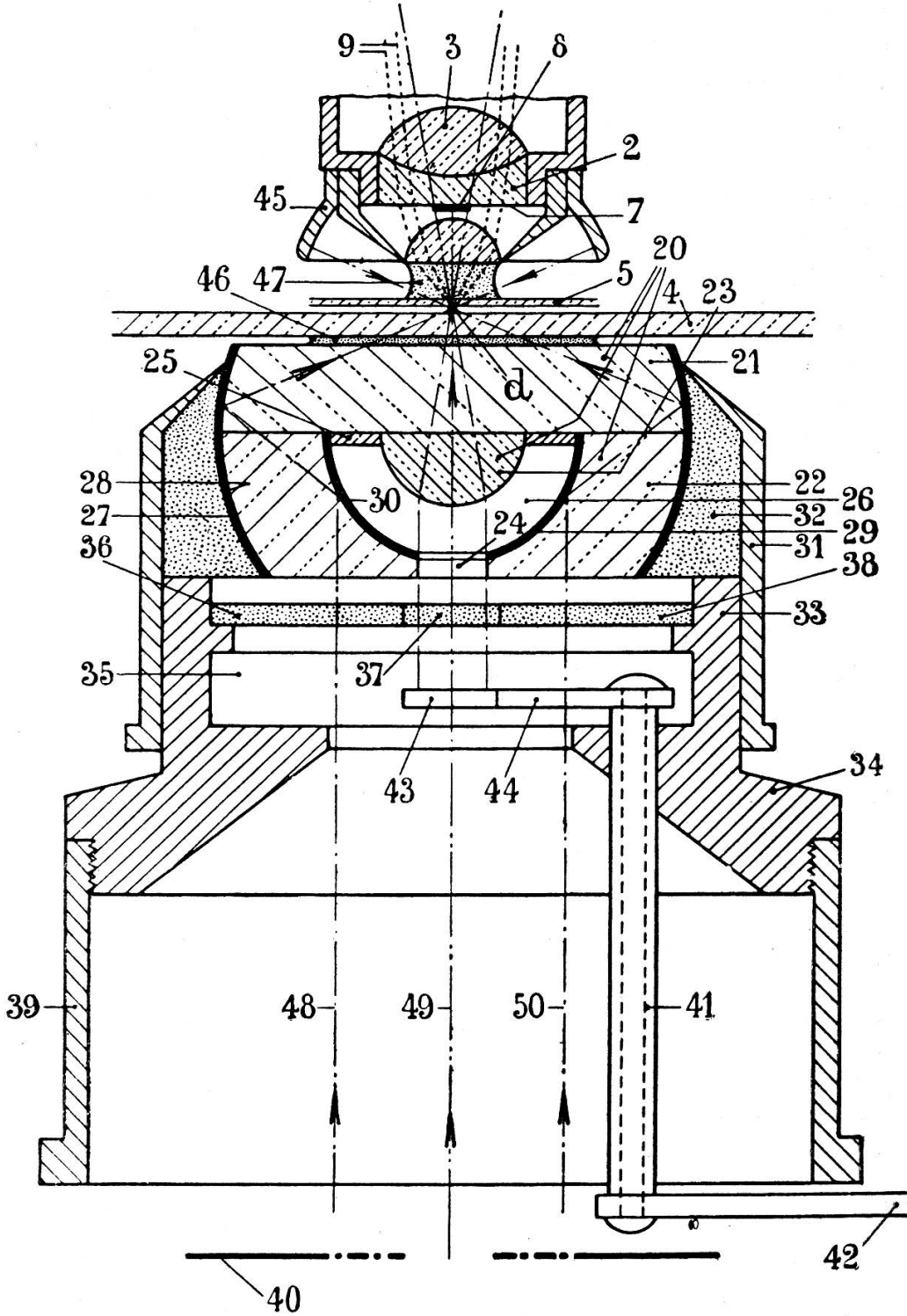


Fig. 6.

cope ordinaire avec simple condensateur Abbe. Avec cet objectif, il suffit d'éclairer la préparation avec un faisceau de lumière très étroit — on ferme le diaphragme-iris autant que possible — et bien parallèle à l'axe, émanant d'une ampoule électrique à filament de type $\frac{1}{2}$ Watt et de 25 bougies seulement d'intensité, pour obtenir un éclairage ultra-microscopique permettant, par exemple, de résoudre très nettement les granules colloïdaux dans des pseudo-solutions comme celles de savon ou de collargol dans l'eau.

L'objectif en question peut encore, à volonté, être muni d'un petit réflecteur externe, genre Lieberkühn, (45), qui renverra sur l'objet les faisceaux d'éclairage obliques, tels que (48) et (50), ayant déjà traversé la préparation.

2° L'appareil comporte un condensateur spécial dont le corps optique est taillé dans du quartz fondu, ce qui permet de travailler aussi bien en lumière visible qu'aux rayons ultraviolets. Ce corps optique concentre sur l'objet à examiner deux sortes de faisceaux lumineux; d'abord des rayons très obliques, venant de tous les azimuts, après réflexion sur les surfaces réfléchissantes (29) et (28); ensuite, un faisceau central de faible ouverture qui converge sur l'objet après son passage à travers le trou (24) et la lentille en quartz (23). Tous ces faisceaux, après avoir traversé la préparation par sa face principale inférieure, peuvent être renvoyés sur sa face supérieure par les réflecteurs (8) et (45) que porte l'objectif spécial que nous avons décrit.

Le corps optique est serti dans un capuchon métallique (31) qui s'engage à frottement doux sur la partie cylindrique (33) de la monture, de manière qu'on peut facilement l'enlever pour mettre à nu la cavité (35) dans laquelle on place à volonté des écrans colorés tels que (38). On obtient des effets intéressants en se servant d'écrans bicolores, par exemple d'un écran de verre dont la partie centrale (37) est rouge et la partie périphérique (38) est verte.

L'éclairage bicolore provoque, en effet, des colorations sélectives dans les structures de certaines préparations monotones, qui n'ont subi aucune coloration par des moyens chimiques; il pourrait, pensons-nous, rendre quelques services dans la

recherche sur le vivant, qui ne se prête pas facilement à la coloration chimique.

Le numéro (43) indique un écran central qu'on peut écarter de l'axe du microscope en maniant la manette (42) lorsqu'on veut démasquer l'ouverture (24) pour admettre un faisceau d'éclairage central.

Enfin, en (40) est indiqué schématiquement et en coupe le diaphragme-iris.

Comme source lumineuse pour l'éclairage en lumière visible, nous employons de préférence une forte ampoule électrique à filament métallique, comme on s'en sert pour les projections cinématographiques. Une ampoule de 500 bougies est plus que suffisante pour l'examen subjectif. Cette ampoule est placée dans une lanterne de projection de telle manière que le filament coïncide à peu près avec le plan focal postérieur de la lentille. On obtient ainsi un faisceau de lumière à peu près parallèle.

Pour l'examen subjectif, l'ampoule à filament représente le mode d'éclairage le plus hygiénique, l'air n'étant ni trop chauffé au voisinage de l'observateur, ni vicié d'aucune façon. Pour favoriser encore l'hygiène de l'œil, ce qui est très important lorsqu'il s'agit de séances microscopiques prolongées, on recommande de faire traverser au faisceau d'éclairage une cuvette de verre à faces planes et parallèles, remplie d'une solution de sulfate de quinine. Ce filtre absorbe les rayons violets et tout reliquat d'ultra-violet qui n'aurait pas déjà été absorbé par les couches de verre que traverse la lumière. On a beaucoup parlé du caractère nocif des rayons ultra-violets pour la vue; mais on a souvent négligé les rayons violets, abondants dans la lumière électrique, assez inutiles pour la vision, mais très nocifs pour l'œil. Un filtre à solution de sulfate de quinine élimine tous les rayons violets sans colorer sensiblement la lumière émergente.

Pour la microphotographie, la lampe à arc est à préférer à cause de sa luminosité plus intense; mais, à moins d'installations compliquées et coûteuses, elle présente des inconvénients sérieux au point de vue hygiénique: un grand dégagement de chaleur et la viciation de l'air, non seulement par l'anhydride carbonique provenant de la combustion des charbons, mais aussi et surtout par une fumée âcre faite de parti-

cules pulvérulentes provenant d'impuretés des charbons et qui sont particulièrement irritantes pour les voies respiratoires. La lampe à arc sera donc employée le moins possible dans l'intérêt de l'hygiène.

Lorsqu'on voudra faire de la microphotographie aux rayons ultra-violet, on emploiera comme sources celles indiquées dans les traités spéciaux sur la matière. Nous n'avons pas encore suffisamment expérimenté avec toutes les sources possibles pour pouvoir recommander spécialement l'une d'entre elles. Mais, sur la base de nos premiers essais, nous pensons qu'on pourra tirer un excellent parti de la lumière dégagée par les lampes à vapeur de mercure, en la filtrant convenablement, de manière à ne laisser passer que les radiations utiles.

Voici maintenant, en résumé, les principaux modes d'éclairage qu'on peut appliquer à l'examen d'une même préparation en se servant de l'« ultra-microscope à éclairage bilatéral » muni de son objectif spécial à immersion.

1° Si nous enlevons, au préalable, l'écran bicolore, si nous écartons de l'axe l'écran central et si nous ouvrons entièrement le diaphragme-iris, de manière à admettre dans l'appareil un faisceau de lumière parallèle comprenant les rayons tels que (48), (49) et (50), l'objet sera éclairé sur ses deux faces principales et dans toute son épaisseur comme suit :

- a) normalement et de bas en haut par le faisceau indiqué par le numéro (49);
- b) normalement et de haut en bas par le même faisceau après sa réflexion sur la rondelle réfléchissante de l'objectif (8);
- c) obliquement et de bas en haut par les faisceaux tels que (48) et (50), venant de tous les azimuts;
- d) obliquement et de haut en bas par ces mêmes faisceaux après leur réflexion sur le réflecteur (45) porté par l'objectif.

Cependant, aucun de ces faisceaux qui convergent sur l'objet ne pourra pénétrer directement dans l'objectif et ne pourra contribuer à la formation de l'image microscopique; cette dernière sera constituée uniquement par les rayons qui seront abondamment diffractés ou diffusés par les structures et particules de l'objet, sous cet éclairage convergent et particulièrement intense.

2° Si maintenant nous réduisons l'ouverture du diaphragme-iris en ne laissant plus passer que le faisceau indiqué par le n° 49, nous aurons encore un éclairage ultra-microscopique, mais seulement comme indiqué sous les rubriques *a)* et *b)*, éclairage qui est très utile pour l'étude de certaines préparations qui supportent mal l'éclairage très oblique.

3° Si nous ouvrons entièrement l'iris et si nous masquons le trou (24) par l'écran central, nous avons l'éclairage ultra-microscopique oblique et coaxial, tel qu'il est généralement employé de nos jours.

4° Si nous remettons en place l'écran bicolore, que nous supposons toujours rouge en son centre, vert sur sa partie périphérique, et si nous rétablissons le quadruple éclairage décrit en premier lieu, si, d'autre part, nous employons pour l'observation un objectif d'ouverture numérique telle qu'il admette les faisceaux *les plus obliques* indiqués sur la fig. 6, nous obtenons une image bicolore parfois très intéressante, par suite de phénomènes de coloration sélective qui se produisent dans les structures de certains objets.

5°, 6°, 7° Nous pourrions répéter les trois premières expériences, en remplaçant la lumière visible par les rayons ultra-violet et notre œil par l'appareil photographique; l'emploi des rayons ultra-violet, sur l'utilité duquel il est superflu d'insister, est possible avec notre dispositif, grâce au matériel adéquat employé dans la construction du corps optique et des surfaces réfléchissantes. Naturellement, il faudra, pour la microphotographie aux rayons ultra-violet, employer des objectifs et oculaires en quartz et utiliser la glycérine comme liquide à immersion.

8° Rien ne nous empêche, en nous servant toujours du même appareil et sans avoir eu à déplacer la préparation au cours de ces nombreuses manipulations, de procéder à un examen microscopique normal, c'est-à-dire par transparence.

Nous réduirons à cet effet l'ouverture du diaphragme-iris et nous n'emploierons que le faisceau central que la lentille (23) concentrera sur l'objet; en ce cas, nous nous servirons d'un objectif normal sans écran réflecteur; pour un pareil examen, la lumière diffuse du jour sera parfaitement suffisante.

Enfin, sans rien changer à ce système, mais en remplaçant la lumière électrique ou diurne par les rayons ultra-violet et en nous servant d'un objectif en quartz, nous pourrons faire de la microphotographie par lumière ultra-violette transmise.

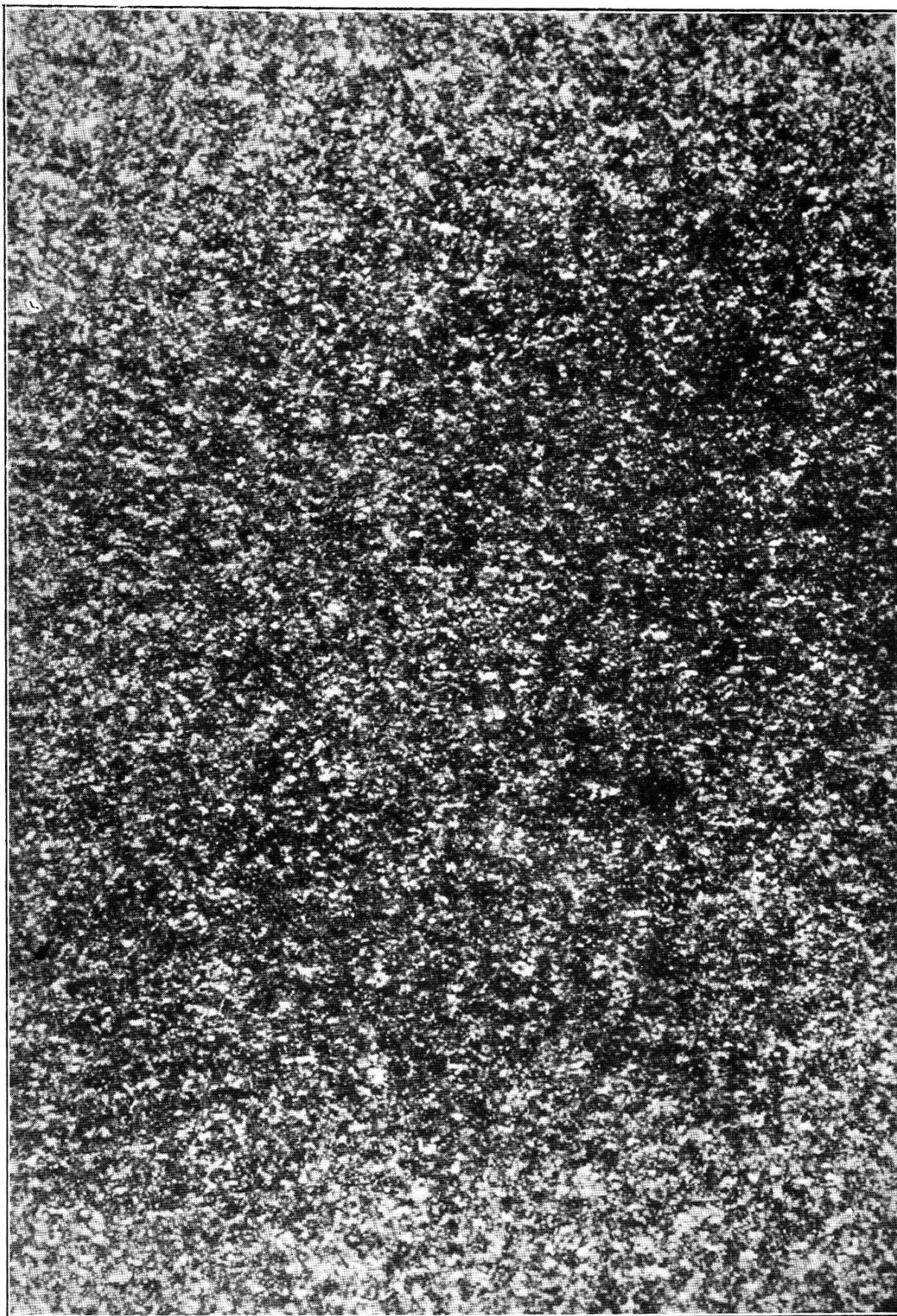
On sait que, dans les microscopes, le grossissement oculaire mérite d'être poussé d'autant plus loin que la qualité de l'image fournie par l'objectif se rapproche de la perfection.

Or, nous avons pu, dans de nombreuses expériences, constater une réelle amélioration de l'image donnée par notre ultra-microscope sous le rapport de la netteté, de la richesse et de la finesse des détails qui nous sont révélés; et c'est ce qui nous a induit à remplacer dans certains cas l'oculaire habituel par un tube microscopique complet comprenant un oculaire et un objectif, de manière à pousser le grossissement de l'oculaire jusqu'à l'extrême limite de l'utile.

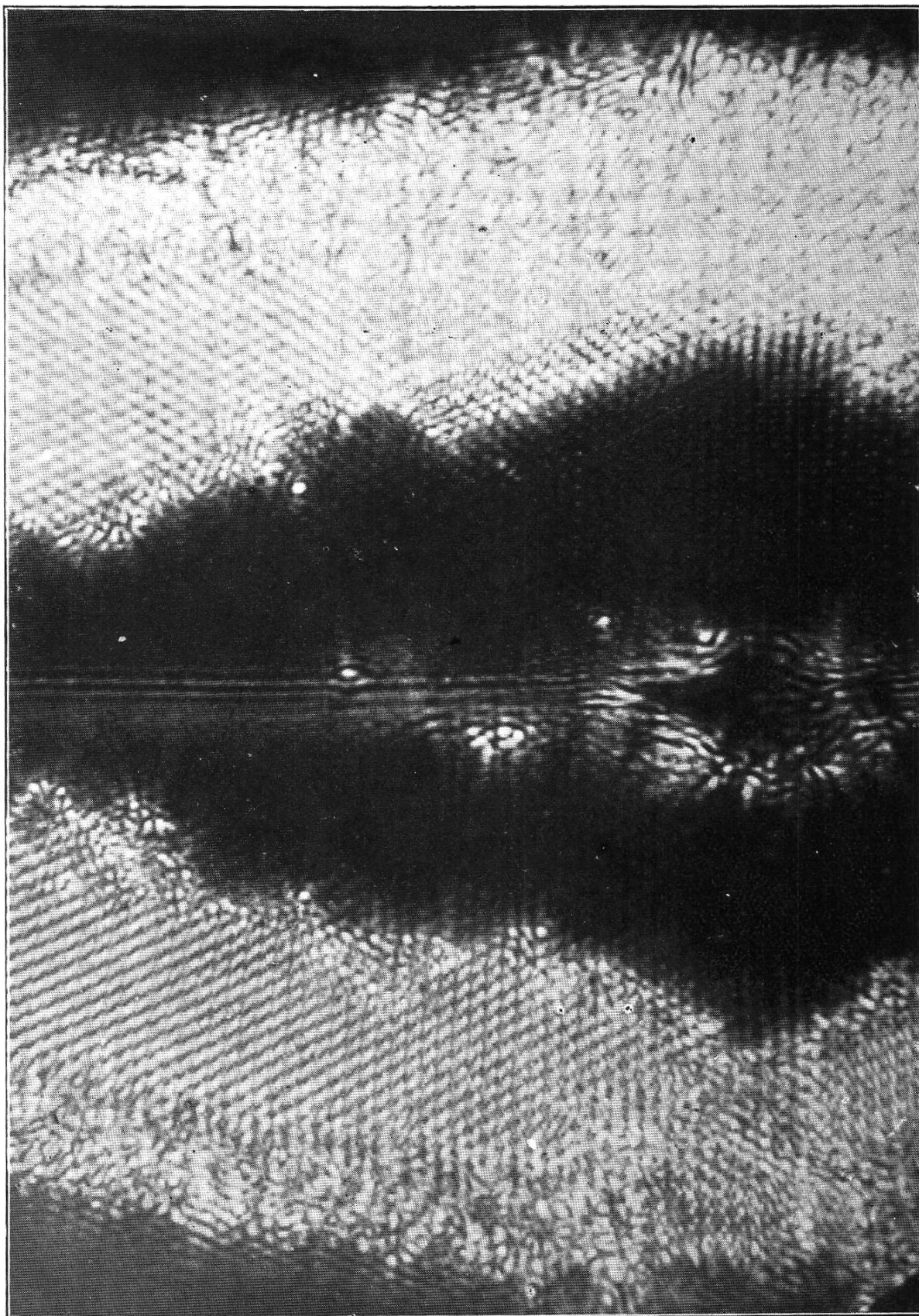
Les planches suivantes montrent quelques résultats intéressants obtenus en microphotographie au cours de nos premiers essais. Ces vues ont été prises à la lumière de l'arc électrique jaillissant entre des électrodes de charbon; pour certaines d'entre elles nous avons trouvé utile de filtrer la lumière à travers des filtres liquides bleus ou violets. Nous nous proposons de publier prochainement quelques microphotographies en lumière ultra-violette qui sont encore en cours d'exécution.

La planche I représente, à un grossissement linéaire de 2625, ce que l'on voit dans une lame très mince de collodion sec, dont l'épaisseur est évaluée à un micron au maximum. La pellicule de collodion apparaît comme constituée d'innombrables grains colloïdaux, tantôt isolés, tantôt accolés en chaînes plus ou moins allongées, formant une sorte de feutrage dont les lacunes apparaissent en noir. Ces lacunes expliquent la porosité du collodion dont on se sert pour les ultra-filtres. Sur la base des dénombrements effectués à l'examen subjectif, nous estimons qu'un millimètre cube de collodion sec contient environ 60 milliards de granules.

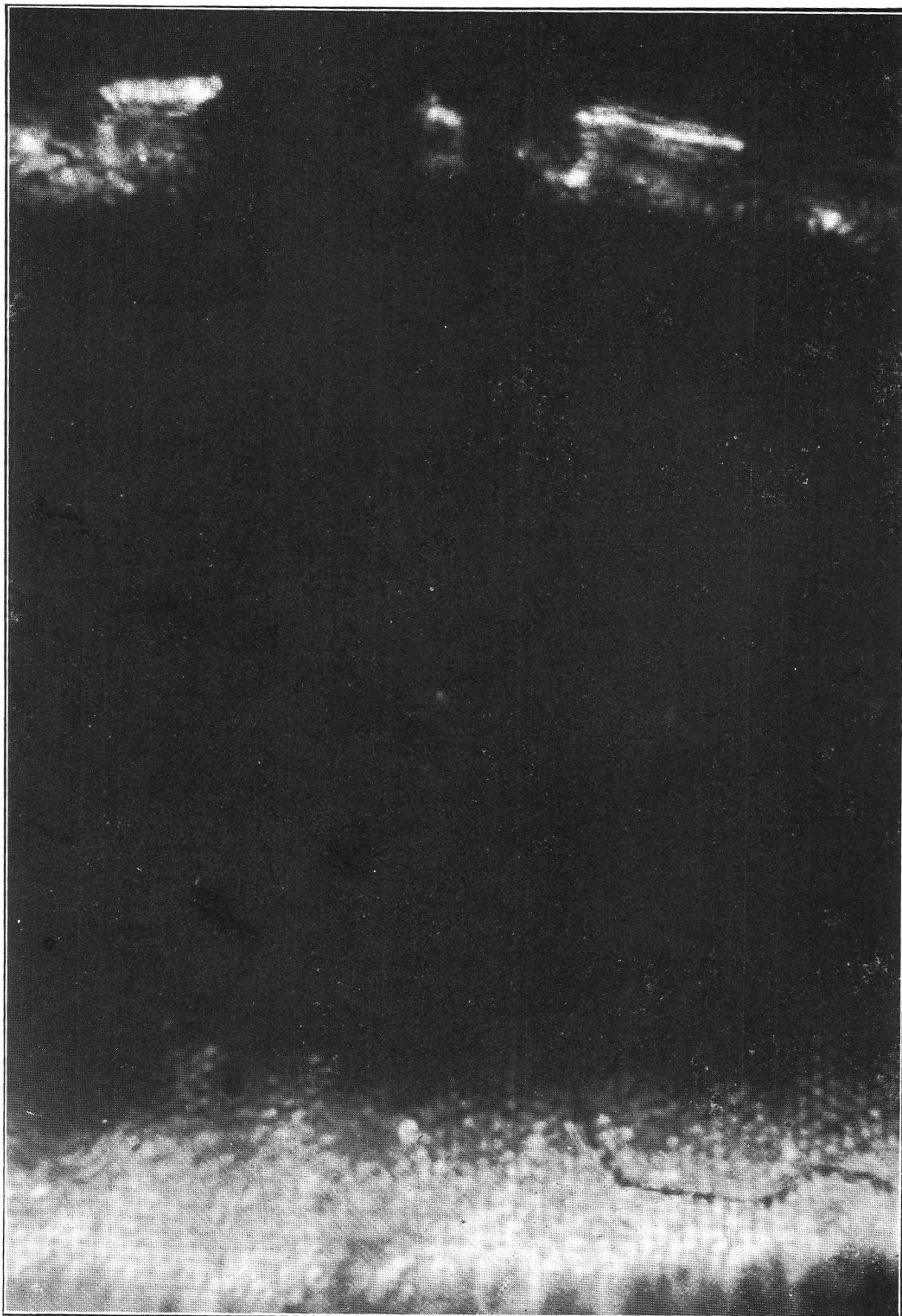
La planche II montre la partie centrale d'un test de *Pleurosigma angulatum* à un grossissement de 3850. Au milieu de la figure, on remarque une partie plus sombre où se distinguent cependant, assez nettement, les ponctuations typiques de ce test de diatomée.



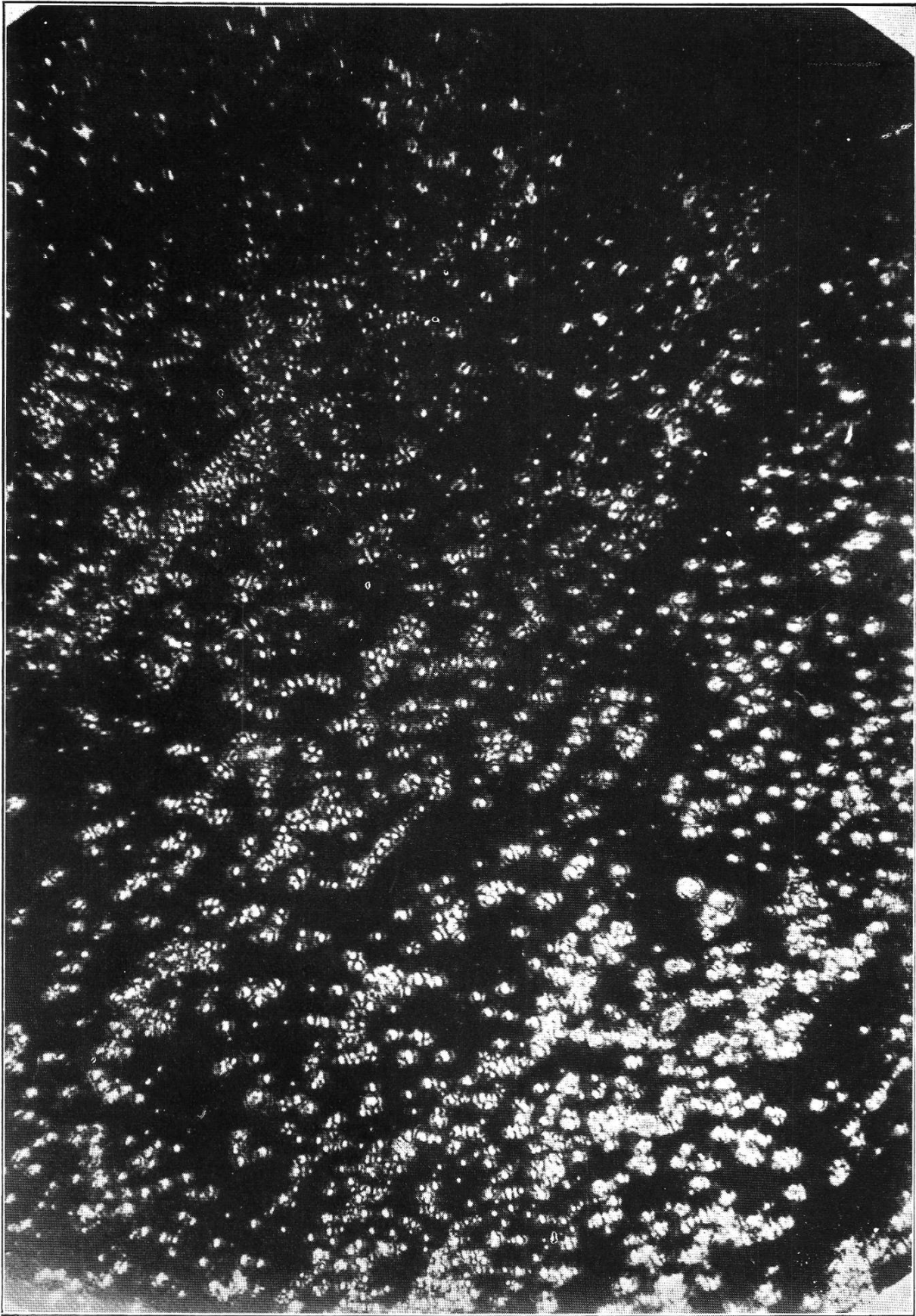
LAME DE COLLODION, gross. 2625



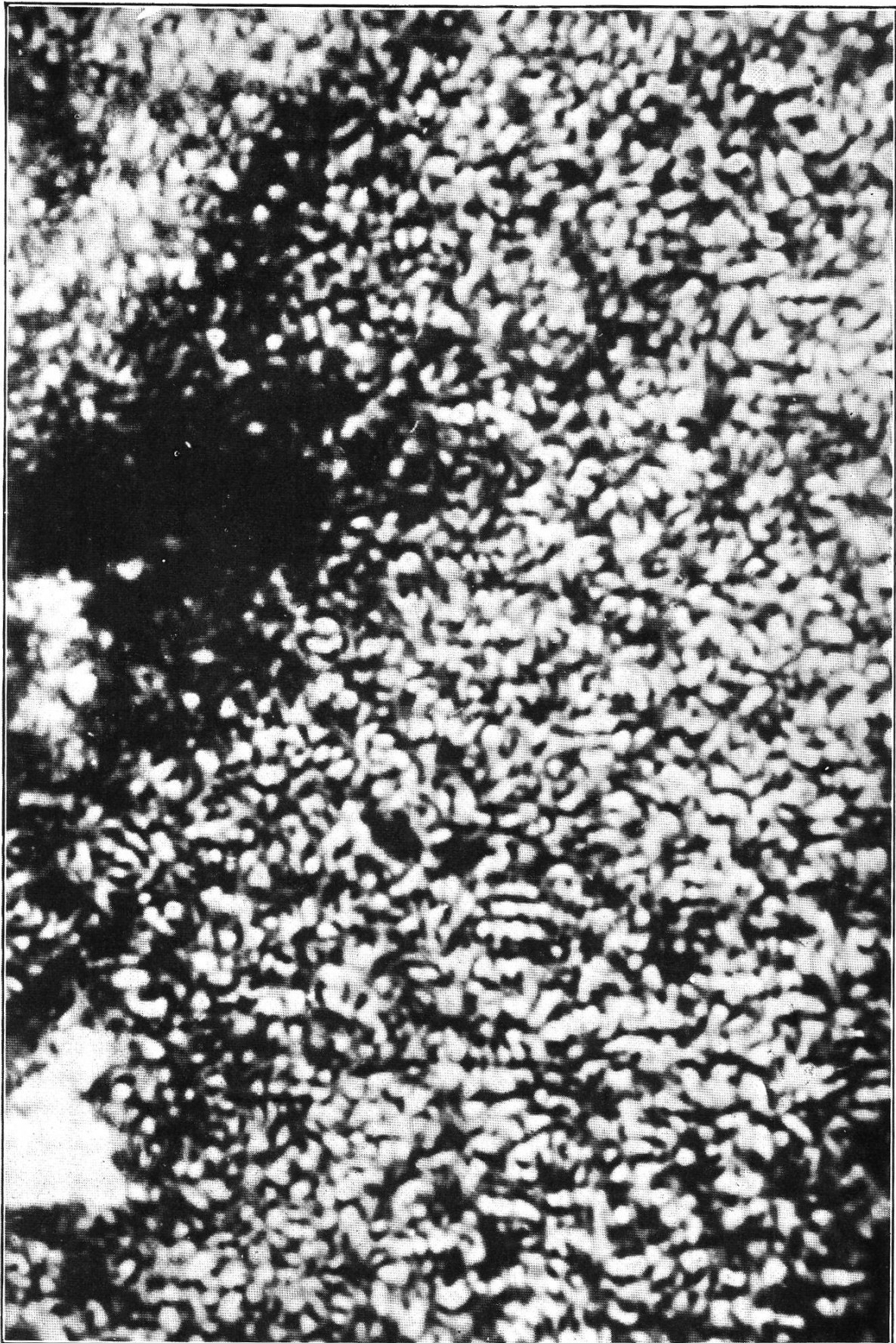
PLEUROSIGMA ANGULATUM, éclairage bilatéral, gross. 3850



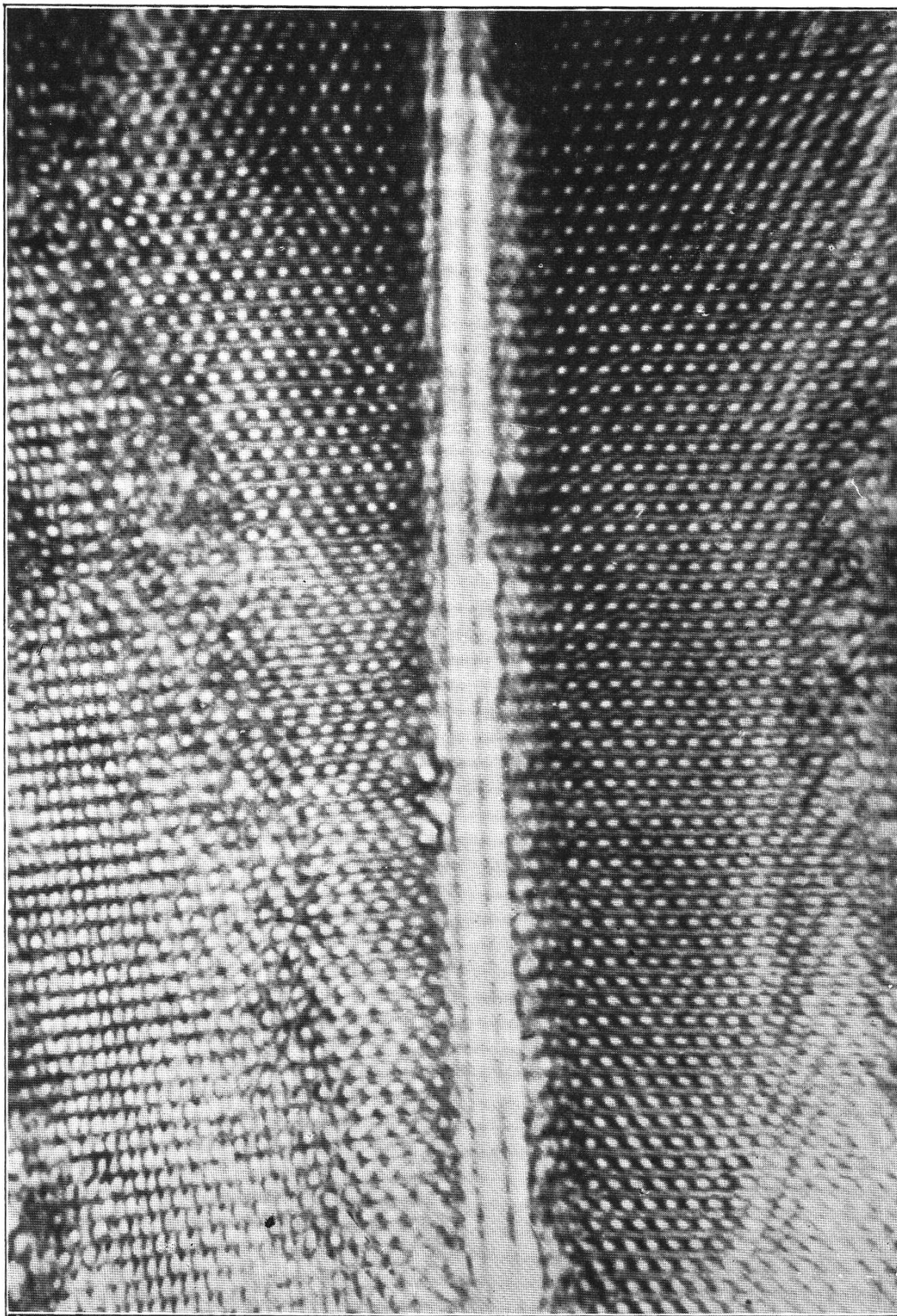
PLEUROSIGMA ANGULATUM, éclairage ordinaire, gross. 3850



LAME DE GÉLATINE SÈCHE, gross. 2800



FEUILLE D'OR, gross. 7000



PLEUROSIGMA ANGULATUM, gross. 7000

La planche III représente exactement le même individu, vu sous le même grossissement, mais éclairé cette fois par un condensateur à fond noir ordinaire, à éclairage très incliné sur l'axe. Malgré une mise au point irréprochable, seuls les côtés de la préparation se trouvent illuminés, tandis que la plus grande partie de l'objet reste dans le noir.

Une comparaison entre ces deux dernières photographies démontre l'utilité de l'éclairage bilatéral.

La planche IV représente la photographie d'une lame extrêmement mince de gélatine sèche à un grossissement de 2800. La gélatine semble être constituée par deux sortes de micelles; les unes, plus grosses, sont visibles sur la photographie et ont une tendance à s'aligner au moment de la dessiccation en chaînes allongées, rectilignes et parallèles; les autres, probablement beaucoup plus petites, ne sont pas discernables mais donnent aux espaces intermicellaires une apparence nébuleuse, sous l'éclairage ultra-microscopique. Cette microphotographie n'a bien réussi qu'en lumière bleue.

La photographie N° V représente une feuille d'or pur, ayant comme épaisseur une fraction de micron, à un grossissement linéaire de 7000. On y voit la structure intime de ce métal qui semble être formé par un enchevêtrement de filaments irréguliers, dont chacun résulterait de l'accolement de plusieurs granules. La photographie a été faite en lumière violette.

La planche VI montre très nettement la structure du test de *Pleurosigma angulatum*, à un grossissement de 7000.

Qu'il nous soit permis, pour terminer, de signaler une première application de ces méthodes à la bactériologie. C'est en se servant d'un ultra-microscope présentant quelques-unes des caractéristiques du nôtre que MM. les D^{rs} Gye et Barnard de Londres auraient découvert et photographié l'agent pathogène de certains cancers, sous forme d'éléments figurés excessivement petits, pouvant traverser les filtres en porcelaine¹.

Genève, 15 juin 1926.

¹ R. PROUST, Le problème du cancer, *Revue scientifique*. Paris, 1926.