

Microscope à fluorescence et ses accessoires

Orthoplan, Leitz, Allemagne, années 1970

Don du CHU de Grenoble, coll. MGSM, n° d'inv. 2011-5-022 et 2011-5-023

Microscope à fluorescence pour observer des objets rendus fluorescents

La microscopie en fluorescence combine la microscopie optique et l'analyse de la fluorescence. Ce microscope utilise comme source lumineuse les rayons ultraviolets produits par une lampe à vapeur de mercure. Ces rayons excitent les objets fluorescents contenus dans la préparation et la lumière émise en réponse est observée, après filtration des UV dangereux pour l'œil. Du fait de la très faible longueur d'onde des UV, la résolution obtenue est élevée. Sauf de rares exceptions, à l'état naturel les molécules des cellules et des tissus ne sont pas spontanément fluorescentes. On peut les rendre fluorescentes soit en les marquant par des molécules fluorescentes (fluorochromes) comme par exemple le DAPI (diaminido phenyl indol) qui marque l'ADN et apparaît en bleu, soit grâce au principe de l'immunofluorescence (IF), c'est-à-dire en les faisant réagir avec des anticorps spécifiques, porteurs de colorants fluorescents (fluorescéine : émission verte ; rhodamine : émission rouge). Cette méthode est aujourd'hui encore très importante car elle est très sensible et autorise la détection de molécules isolées, par exemple les récepteurs hormonaux au niveau des cellules tumorales d'un cancer mammaire, la protéine anormale marqueur d'un certain type de tumeur ou d'une réponse à un traitement particulier.

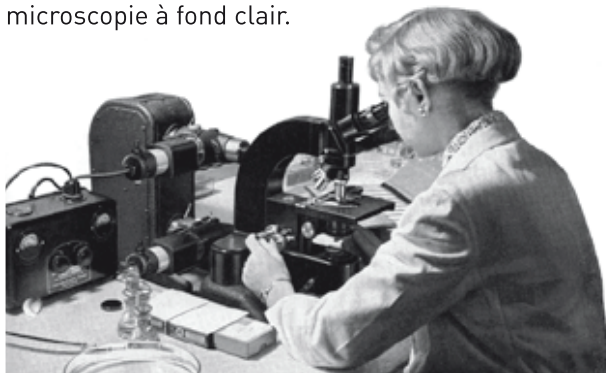
✚ S'il est couramment admis que le microscope a été inventé par Hans Janssen à la fin du XVI^e siècle, c'est à A. van Leeuwenhoek, amateur hollandais du XVII^e siècle, que l'on doit sa première utilisation en biologie ; en effet, il fabriquait lui-même ses microscopes, en perfectionna le principe et décrivit de nombreux

« animalcules » dans toutes sortes de liquides ou de fluides, biologiques ou non. Ses qualités d'observation et son objectivité lui ont permis de décrire les globules rouges, des parasites comme les protozoaires, plusieurs types de bactéries, les spermatozoïdes, des cellules de la peau, des fibres nerveuses. Mais il a fallu



attendre très longtemps (souvent un ou deux siècles !) pour que le rôle ou la fonction de ces éléments soient reconnus. C'est, par exemple, seulement en 1850 que Davaine a pu, parmi les premiers, prouver la responsabilité des bactéries dans certaines maladies humaines ou animales.

Au niveau technique, les microscopes optiques peuvent utiliser une lumière incidente, une lumière transmise, une lumière polarisée, une lumière fluorescente ou être à contraste de phase, à contraste interférentiel... ; les plus utilisés en biologie et en médecine sont à transmission, c'est-à-dire que la préparation (étalements de cellules, coupes de tissus ou de matériaux divers) est traversée par la lumière blanche du spectre visible ; on parle alors de microscopie à fond clair.



En médecine, son utilisation est encore importante dans le domaine du diagnostic des maladies infectieuses mais surtout dans celui de l'observation des cellules et des tissus. En effet, la microscopie optique est encore utilisée pour mettre en évidence une bactérie ou un parasite mais leur diagnostic définitif est souvent apporté par la détermination de propriétés biochimiques et enzymatiques ou par le type de croissance sur les milieux de culture. Pour le diagnostic viral, on a pu utiliser l'observation des modifications cellulaires induites en culture par des virus, la détection des antigènes viraux dans des cellules mais cela est remplacé maintenant par des méthodes moléculaires beaucoup plus sensibles, comme la PCR (polymerase chain reaction) qui consiste à amplifier le génome du virus à partir d'un prélèvement. Par contre, le microscope optique est encore le principal instrument de travail des anatomo- et cytopathologistes, qui se basent sur l'observation des anomalies morphologiques des cellules et des tissus pour établir un diagnostic, en particulier en oncologie (spécialité médicale d'étude, de diagnostic et de traitement des cancers). On l'utilise aussi pour visualiser les spermatozoïdes dans le cadre de la procréation médicale assistée, en cytogénétique pour établir un caryotype (classement des chromosomes), etc.