

(12) DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIÉE EN VERTU DU TRAITÉ DE COOPÉRATION EN MATIÈRE DE BREVETS (PCT)

(19) Organisation Mondiale de la
Propriété Intellectuelle
Bureau international



(10) Numéro de publication internationale
WO 2015/055809 A1

(43) Date de la publication internationale
23 avril 2015 (23.04.2015)

WIPO | PCT

- (51) Classification internationale des brevets :
G01N 21/45 (2006.01) *G02B 1/11* (2015.01)
G01N 33/50 (2006.01)
- (21) Numéro de la demande internationale :
PCT/EP2014/072307
- (22) Date de dépôt international :
17 octobre 2014 (17.10.2014)
- (25) Langue de dépôt : français
- (26) Langue de publication : français
- (30) Données relatives à la priorité :
1360192 18 octobre 2013 (18.10.2013) FR
- (71) Déposants : CENTRE NATIONAL DE LA RE-
CHERCHE SCIENTIFIQUE [FR/FR]; 3 rue Michel
Ange, F-75016 Paris (FR). UNIVERSITE DU MAINE
[FR/FR]; Avenue Olivier Messiaen, BP 85, F-72085 LE
MANS Cedex 9 (FR).
- (72) Inventeurs : AUSSERRE, Dominique; Les Ardriers, F-
72270 Soullitre (FR). AMRA, Claude; 146 chemin de Pa-
lama, F-13013 Marseille (FR). ZERRAD, Myriam; 7 rue
des 3 Mages, F-13001 Marseille (FR). ABOU KHA-
CHFE, Refahi; Barja El Chouf (LB).
- (74) Mandataires : PRIORI, Enrico et al.; MARKS &
CLERK France, Conseils en Propriété Industrielle, Im-

meuble "Visium", 22 avenue Aristide Briand, F-94117 AR-
CUEIL Cedex (FR).

- (81) États désignés (sauf indication contraire, pour tout titre
de protection nationale disponible) : AE, AG, AL, AM,
AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY,
BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM,
DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT,
HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE, KG, KN, KP, KR,
KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG,
MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM,
PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC,
SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN,
TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.
- (84) États désignés (sauf indication contraire, pour tout titre
de protection régionale disponible) : ARIPO (BW, GH,
GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ,
TZ, UG, ZM, ZW), eurasien (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU,
TJ, TM), européen (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE,
DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU,
LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK,
SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ,
GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Publiée :

— avec rapport de recherche internationale (Art. 21(3))

[Suite sur la page suivante]

(54) Title : CONTRAST AMPLIFYING SUPPORT FOR THE OBSERVATION OF A SAMPLE, PRODUCTION METHODS THEREOF AND USES THEREOF

(54) Titre : SUPPORTS AMPLIFICATEURS DE CONTRASTE POUR L'OBSERVATION D'UN ECHANTILLON, LEUR PRO-
CEDES DE FABRICATION ET LEURS UTILISATIONS

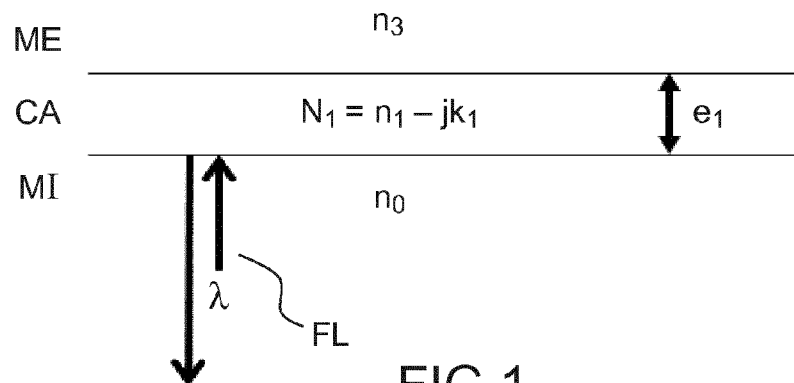


FIG.1

(57) Abstract : The invention relates to a contrast amplifying support (SAC) for the observation of a sample, characterized in that it includes a transparent substrate (MI, SS) supporting at least one absorbing layer (CA), the complex refractive index $N_1=n_1-jk_1$ and thickness of which are selected such that said layer behaves as an antireflection layer when it is illuminated with normal incidence and with an illumination wavelength l through said substrate, the surface of said layer opposite said substrate being in contact with a transparent ambient medium (AM) having a refractive index n_3 that is lower than that of the refractive index n_0 of said substrate. The invention also relates to a method for producing such a contrast amplifying support. The invention further relates to a method for observing a sample, or for detecting or assaying at least one chemical or biological species, using such a contrast amplifying support.

(57) Abrégé :

[Suite sur la page suivante]



WO 2015/055809 A1



-
- *avant l'expiration du délai prévu pour la modification des revendications, sera republiée si des modifications sont reçues (règle 48.2.h)*

Support amplificateur de contraste support amplificateur de contraste (SAC) pour l'observation d'un échantillon, caractérisé en ce qu'il comprend un substrat transparent (MI, SS) portant au moins une couche absorbante (CA) dont l'indice de réfraction complexe $N_1 = n_1 - jk_1$ et l'épaisseur sont choisis de telle sorte que ladite couche se comporte en tant que couche antireflet lorsqu'elle est éclairée en incidence normale à une longueur d'onde d'éclairage λ à travers ledit substrat, la face de ladite couche opposée audit substrat étant en contact avec un milieu dit ambiant (ME) transparent dont l'indice de réfraction n_3 est inférieur à celui de l'indice de réfraction n_0 dudit substrat. Procédé de fabrication d'un tel support amplificateur de contraste. Procédé d'observation d'un échantillon, ou de détection ou dosage d'au moins une espèce chimique ou biologique, utilisant un tel support amplificateur de contraste.

SUPPORTS AMPLIFICATEURS DE CONTRASTE POUR L'OBSERVATION D'UN ECHANTILLON, LEUR PROCEDES DE FABRICATION ET LEURS UTILISATIONS

L'invention porte sur des supports amplificateurs de contraste
5 pour l'observation d'un échantillon, ainsi que sur des procédés de fabrication de
tels supports. L'invention porte également sur des procédés d'observation
d'échantillons et des procédés de détection ou dosage d'espèces chimiques ou
biologiques mettant en œuvre de tels supports.

L'invention est susceptible d'être appliquée à différents
10 domaines techniques, tels que la biologie (détection de biomolécules ou
microorganismes, observation de cultures cellulaires), les nanotechnologies
(visualisation de nano-objets, tels que des nanotubes), la microélectronique, la
science des matériaux, etc.

L'utilisation de couches antireflet (ou couches « $\lambda/4$ ») pour
15 augmenter le contraste optique d'un objet observé en microscopie optique par
réflexion est une technique connue depuis de nombreuses années et très
puissante ; elle a permis notamment la première observation de marches
moléculaires par Langmuir et Blodgett en 1937 et, plus récemment, la
visualisation des couches de graphène par Novoselov et al.

20 Soit I l'intensité lumineuse réfléchie par l'objet à observer,
déposé sur un support, et I_s celle réfléchie par le support seul ; alors, le
contraste avec lequel l'échantillon est observé vaut $C=(I-I_s)/(I+I_s)$. On comprend
que la valeur absolue de ce contraste prend sa valeur maximale (égale à 1)
quand $I_s=0$, c'est-à-dire quand le support a une réflectivité nulle, ou bien quand
25 l'objet supporté à une réflectivité nulle. Dans le cas le plus simple, la condition
 $I_s=0$ est satisfaite en utilisant en tant que support un substrat transparent sur
lequel est déposée une couche mince, également transparente, dont
l'épaisseur et l'indice de réfraction sont choisis de manière opportune. Dans le
cas d'une couche antireflet unique, éclairée en incidence normale avec un
30 milieu incident (dont provient l'éclairage) et un milieu émergent (le substrat)
transparents et semi-infinis, on obtient les conditions suivantes :

$$n_1^2 = n_0 n_3 \quad (1a)$$

$$n_1 e_1 = \lambda/4 \quad (1b)$$

où n_1 est l'indice de réfraction (réel) de la couche, n_0 et n_3 les indices de réfraction (également réels) des milieux incident et émergent, e_1 l'épaisseur de la couche et λ la longueur d'onde d'éclairage.

Pour des milieux incident et émergent donnés, l'équation (1a) détermine de manière univoque l'indice de réfraction de la couche antireflet. Malheureusement, cet indice peut ne pas correspondre à un matériau d'usage courant, ou satisfaisant à diverses contraintes liées à l'application spécifiquement considérée. Par exemple, dans le cas d'une interface air-verre – dont l'intérêt pratique est évident – on obtient $n_1 \cong 1,27$, ce qui nécessite l'utilisation de matériaux composites tels que des aérogels.

L'invention vise à surmonter cet inconvénient de l'art antérieur.

Pour y parvenir, l'invention propose d'utiliser des couches antireflets absorbantes, présentant un indice de réfraction complexe. Le degré de liberté additionnel associé à la présence d'une partie imaginaire de l'indice permet de relâcher la contrainte pesant sur la valeur de sa partie réelle. Par ailleurs, alors qu'il est difficile de modifier la partie réelle de l'indice de réfraction d'un matériau, il est relativement simple de modifier sa partie imaginaire (par exemple, en introduisant des impuretés absorbantes ou diffusantes, la diffusion « simulant » une absorption).

Il convient de noter que – dans le cas des couches « $\lambda/4$ » conventionnelles – l'augmentation du contraste résulte d'un effet interférentiel qui met en jeu des réflexions multiples aux interfaces milieu incident/couche et couche/milieu émergent. Or, l'absorption de la lumière à l'intérieur de la couche tend à supprimer l'interférence entre ces réflexions multiples. Par conséquent, le concept même d'une « couche antireflet absorbante » paraît de prime abord contraire à l'intuition.

L'article de S. G. Moiseev et S. V. Vinogradov « Design of Antireflection Composite Coating Based on Metal Nanoparticle », Physics of Wave Phenomena, 2011, Vol 10, N°1, pages 47 – 51 étudie les conditions que doit satisfaire une couche mince faiblement absorbante déposée sur un substrat transparent pour annuler la réflexion en incidence normale à l'interface air-substrat, l'éclairage étant effectué par l'air. Ce document décrit également une couche mince absorbante en matériau composite contenant des

nanoparticules métalliques satisfaisant de manière approchée à ces conditions. Cette couche réduit la réflexion à l'interface air-substrat, mais ne l'annule pas totalement. En outre, son fonctionnement a été démontré – par une étude analytique limitée aux matériaux à très faible absorption, mais ce résultat est
5 difficilement généralisable. Par ailleurs, un tel revêtement n'est pas destiné à réaliser un support amplificateur de contraste.

Les articles suivants :

- M. A. Kats et al. « Nanometre optical coatings based on strong interference effects in highly absorbing media », Nature Materials, Vol. 12,
10 Janvier 2013, pages 20 – 24; et

- R. M. A. Azzam et al. « Antireflection of an absorbing substrate by an absorbing thin film at normal incidence », Applied Optics, Vol 26, No 4, pages 719 – 722 (1987)

divulguent des couches antireflet absorbantes déposées sur
15 des substrats qui sont à leur tour absorbants. Là encore, seuls des cas particuliers sont décrits, qui sont difficilement généralisables. En outre, dans le cas de l'article de M. A. Kats et al., la suppression de la réflexion n'est que partielle.

Le document US 5,216,542 divulgue un revêtement antireflet
20 pour un substrat en verre comportant, sur une face avant du substrat (destinée à être éclairé), une structure multicouche comprenant des couches transparentes et des couches absorbantes en TiN_x et, sur une face arrière dudit substrat, une couche absorbante unique en TiN_x dont l'épaisseur n'est cependant pas de nature à assurer une réflectivité nulle, mais seulement faible. Un tel
25 revêtement n'est pas destiné à réaliser un support amplificateur de contraste.

Conformément à l'invention, le support amplificateur de contraste comprenant une couche antireflet absorbante est dimensionné de manière à être utilisé dans une configuration « inversée » ou « face arrière », c'est-à-dire avec éclairage et observation à travers le substrat qui a un indice de
30 réfraction supérieur à celui du milieu émergent (ou « milieu ambiant »). Cette configuration est particulièrement adaptée lorsque le substrat forme une fenêtre d'observation et la couche antireflet absorbante est mise en contact avec un milieu aqueux (applications chimiques ou biologiques) ou maintenue dans une

enceinte sous vide ou à atmosphère contrôlée (applications telles que les procédés de dépôt). Elle est opposée à celle décrite dans l'article précité de S. G. Moiseev et S. V. Vinogradov. En outre, l'invention permet de réaliser des supports adaptés à pratiquement tout milieu ambiant transparent, et pas
5 uniquement à l'air.

Par ailleurs, des couches antireflet absorbantes telles que décrites ci-après peuvent également convenir à des applications autres que l'amplification de contraste – en fait, à chaque fois qu'on souhaite supprimer ou atténuer la réflexion de la lumière entre un substrat transparent et un milieu
10 ambiant à plus faible indice, en présence d'un éclairage provenant dudit substrat.

Un objet de l'invention est donc un support amplificateur de contraste pour l'observation d'un échantillon, caractérisé en ce qu'il comprend un substrat transparent portant au moins une couche absorbante dont l'indice
15 de réfraction complexe $N_1 = n_1 - jk_1$ et l'épaisseur sont choisis de telle sorte que ladite couche se comporte en tant que couche antireflet lorsqu'elle est éclairée en incidence normale à une longueur d'onde d'éclairage λ à travers ledit substrat, la face de ladite couche opposée audit substrat étant en contact avec
20 un milieu dit ambiant transparent dont l'indice de réfraction n_3 est inférieur à celui de l'indice de réfraction n_0 dudit substrat. De préférence ladite couche n'est pas en nitrure de titane (TiN_x).

Selon des modes de réalisation particuliers d'un tel support amplificateur de contraste :

- A ladite longueur d'onde d'éclairage λ , l'indice de réfraction
25 n_0 du substrat, les parties réelles et imaginaires de l'indice de réfraction complexe de la couche $N_1 = n_1 - jk_1$ et l'épaisseur e_1 de la couche peuvent satisfaire aux conditions suivantes :

$$a) \quad \nu_1^2 = 1 + \kappa_1^2 ;$$

$$b) \quad \delta_1 = \frac{(n_0/n_3 - 1)}{2\nu_1\kappa_1} \left[1 - e^{-\frac{\kappa_1}{K}} \right] ; \text{ et}$$

30 $c) \quad k_1 \geq 0,001$, et de préférence $k_1 \geq 0,01$, et de manière encore préférée $k_1 \geq 0,1$

où :

- $\delta_1 = \frac{2\pi n_0}{\lambda} e_1$;
- $v_1 = \frac{n_1}{\sqrt{n_0 n_3}}$;
- $\kappa_1 = \frac{k_1}{\sqrt{n_0 n_3}}$; et
- $K = \{[\pi/(n_0/n_3 - 1)]\sqrt{n_0/n_3}\}^{-1}$

5 avec une tolérance inférieure ou égale à 5%, et de préférence inférieure ou égale à 0,3%, pour n_1 et k_1 , et avec une tolérance inférieure ou égale à 30% et de préférence inférieure ou égale à 5% pour e_1 .

- Plus particulièrement, l'indice de réfraction du substrat n_0 , l'indice de réfraction complexe de la couche $N_1=n_1-jk_1$ et l'épaisseur e_1 de la
10 couche peuvent satisfaire, en outre, avec lesdites tolérances et pour ladite longueur d'onde d'éclairage λ , aux conditions suivantes :

a') $v_1^2 = 1 + \kappa_1^2$;

b') $\delta_1 = \frac{n_0/n_3 - 1}{2v_1\kappa_1}$; et

c') $k_1 \geq 0,15$.

15 où :

- $\delta_1 = \frac{2\pi n_0}{\lambda} e_1$;

- $v_1 = \frac{n_1}{\sqrt{n_0 n_3}}$;

- $\kappa_1 = \frac{k_1}{\sqrt{n_0 n_3}}$; et

- $K = \{[\pi/(n_0/n_3 - 1)]\sqrt{n_0/n_3}\}^{-1}$.

20 - Ledit substrat peut être en verre.

- Le rapport n_0/n_3 peut être choisi compris entre 1,1 et 1,3.

- En variante, le rapport n_0/n_3 est choisi compris entre 1,45 et 1,7.

- Ladite couche absorbante peut être choisie parmi : une
25 couche d'impuretés implantées dans ledit substrat ; une couche métallique ; une couche semi-conductrice ; un alliage composite métal/semi-conducteur ; une couche absorbante magnétique ; une couche de nanoparticules métalliques ; une couche conductrice non métallique ; une couche diffusante ; une couche de polymère ou de photoresist contenant des pigments ou

colorants ; une couche diélectrique minérale contenant des centres colorés ; une couche hybride composite comprenant une phase continue dans laquelle sont dispersées des nanoparticules ; et une couche de graphène ou une couche de graphène fonctionnalisée.

5 - Ladite couche absorbante peut comprendre au moins une couche fonctionnalisée, susceptible de fixer au moins une espèce chimique ou biologique.

 - Ledit substrat peut présenter une surface fonctionnalisée susceptible de fixer au moins une espèce chimique ou biologique, ladite couche
10 absorbante étant formée par ladite ou au moins une dite espèce chimique ou biologique fixée par ladite surface fonctionnalisée.

 - Ladite couche absorbante peut présenter une transmittance supérieure ou égale à 80% et de préférence supérieure ou égale à 90%.

 Un autre objet de l'invention est un procédé de fabrication d'un
15 support amplificateur de contraste comprenant un substrat transparent portant au moins une couche absorbante, ledit procédé comprenant une phase de conception dudit support et une phase de fabrication matérielle du support ainsi conçu ; caractérisé en ce que ladite étape de conception comprend les étapes suivantes :

20 i) choisir une longueur d'onde d'éclairage λ ;

 ii) choisir un matériau constituant ledit substrat et présentant, à ladite longueur d'onde d'éclairage λ , un indice de réfraction réel n_0 ;

 iii) choisir un milieu ambiant en contact avec ladite couche du côté opposé audit substrat et présentant, à ladite longueur d'onde d'éclairage λ ,
25 un indice de réfraction réel $n_3 < n_0$;

 iv) déterminer un indice de réfraction complexe nominal $N_1 = n_1 - jk_1$ et une épaisseur nominale e_1 de ladite couche telles qu'elle se comporte en tant que couche antireflet lorsqu'elle est éclairée en incidence normale à ladite longueur d'onde d'éclairage λ à travers ledit substrat, la face
30 de ladite couche opposée audit substrat étant en contact avec ledit milieu ambiant ; et

 v) choisir un matériau constituant ladite couche absorbante et présentant, à ladite longueur d'onde d'éclairage λ , un indice de réfraction

complexe dont les parties réelle et imaginaire coïncident avec celles dudit indice de réfraction complexe nominal à moins d'une tolérance inférieure ou égale à 5%, et de préférence inférieure ou égale à 0,3%.

Selon des modes de réalisation particuliers d'un tel procédé :

- 5 - Lors de ladite étape iv), ledit indice de réfraction complexe nominal et ladite épaisseur nominale peuvent être choisis satisfaisant aux conditions suivantes :

a) $v_1^2 = 1 + \kappa_1^2$;

b) $\delta_1 = \frac{(n_0/n_3 - 1)}{2v_1\kappa_1} \left[1 - e^{-\frac{\kappa_1}{K}} \right]$; et

10 c) $k_1 \geq 0,01$, et de préférence $k_1 \geq 0,1$

où :

- $\delta_1 = \frac{2\pi n_0}{\lambda} e_1$;

- $v_1 = \frac{n_1}{\sqrt{n_0 n_3}}$;

- $\kappa_1 = \frac{k_1}{\sqrt{n_0 n_3}}$; et

15 - $K = \left\{ \left[\pi / (n_0/n_3 - 1) \right] \sqrt{n_0/n_3} \right\}^{-1}$

- L'indice de réfraction complexe nominal et l'épaisseur nominal de la couche peuvent être déterminés de manière à satisfaire, pour ladite longueur d'onde d'éclairage λ , aux conditions suivantes :

20 a') $v_1^2 = 1 + \kappa_1^2$;

b') $\delta_1 = \frac{n_0/n_3 - 1}{2v_1\kappa_1}$; et

c') $k_1 \geq 0,15$.

où :

- $\delta_1 = \frac{2\pi n_0}{\lambda} e_1$;

25 - $v_1 = \frac{n_1}{\sqrt{n_0 n_3}}$;

- $\kappa_1 = \frac{k_1}{\sqrt{n_0 n_3}}$; et

- $K = \left\{ \left[\pi / (n_0/n_3 - 1) \right] \sqrt{n_0/n_3} \right\}^{-1}$.

Encore un autre objet de l'invention est un procédé d'observation d'un échantillon comportant les étapes suivantes :

5 A. Disposer ledit échantillon sur une couche absorbante d'épaisseur e_1 présentant un indice de réfraction complexe $N_1=n_1-jk_1$, comprise entre un premier milieu transparent, dit incident, ayant un indice de réfraction réel n_0 et un deuxième milieu transparent, dit émergent, ayant un indice de réfraction réel $n_3 < n_0$;

B. éclairer ledit échantillon en incidence normale au moins à ladite longueur d'onde d'éclairage λ à travers ledit milieu incident ;

10 C. observer l'échantillon ainsi éclairé, également à travers ledit milieu incident ;

dans lequel ladite couche absorbante présente un indice de réfraction complexe et une épaisseur tels que :

- 15 a) $v_1^2 = 1 + \kappa_1^2$;
- b) $\delta_1 = \frac{(n_0/n_3-1)}{2v_1\kappa_1} \left[1 - e^{-\frac{\kappa_1}{K}} \right]$; et
- c) $k_1 \geq 0,001$, et de préférence $k_1 \geq 0,01$, et de manière encore préférée $k_1 \geq 0,1$

où :

- 20 - $\delta_1 = \frac{2\pi n_0}{\lambda} e_1$;
- $v_1 = \frac{n_1}{\sqrt{n_0 n_3}}$;
- $\kappa_1 = \frac{k_1}{\sqrt{n_0 n_3}}$; et
- $K = \left\{ \left[\pi / (n_0 / n_3 - 1) \right] \sqrt{n_0 / n_3} \right\}^{-1}$

25 avec une tolérance inférieure ou égale à 5%, et de préférence inférieure ou égale à 0,3%, pour n_0 , n_1 et k_1 et avec une tolérance inférieure ou égale à 30% et de préférence inférieure ou égale à 5% pour e_1 .

Selon des modes de réalisation particuliers d'un tel procédé :

- Ladite étape A peut être mise en œuvre au moyen d'un support amplificateur de contraste tel que mentionné plus haut, dont le substrat constitue ledit milieu incident.

- Ledit échantillon peut être éclairé au moins à ladite longueur d'onde d'éclairage λ par un faisceau de lumière parallèle ou focalisé de manière à former un cône d'éclairage présentant un demi-angle d'ouverture inférieure ou égale à 20°.

5 - Ledit échantillon peut être éclairé au moins à ladite longueur d'onde d'éclairage λ par un faisceau laser focalisé.

Encore un autre objet de l'invention est un procédé de détection ou dosage d'au moins une espèce chimique ou biologique comportant les étapes suivantes :

10 I. procurer un support amplificateur de contraste tel que mentionné plus haut, comprenant une couche ou surface fonctionnalisée, susceptible de fixer au moins une espèce chimique ou biologique ;

II. placer ladite couche ou surface fonctionnalisée en contact avec au moins une solution contenant une espèce chimique ou biologique
15 marquée par des nanoparticules métalliques ou un marqueur absorbant ou diffusant, ladite espèce étant susceptible de se fixer sur ladite couche ou surface fonctionnalisée, soit directement, soit par l'intermédiaire d'une ou plusieurs autres espèces chimiques ou biologiques, moyennant quoi lesdites
20 particules forment une couche métallique, absorbante ou diffusante continue ou discontinue ;

III. éclairer ledit support amplificateur de contraste en incidence normale au moins à ladite longueur d'onde d'éclairage λ à travers ledit substrat ;

25 IV. observer ledit support amplificateur de contraste ainsi éclairé, également à travers ledit substrat.

Encore un autre objet de l'invention est un procédé de détection ou dosage d'au moins une espèce chimique ou biologique comportant les étapes suivantes :

30 I. procurer un substrat transparent portant une couche ou surface fonctionnalisée, susceptible de fixer au moins une espèce chimique ou biologique ;

II. placer ladite couche ou surface fonctionnalisée en contact avec au moins une solution contenant une espèce chimique ou biologique

marquée par des nanoparticules métalliques ou un marqueur absorbant ou diffusant, ladite espèce étant susceptible de se fixer sur ladite couche ou surface fonctionnalisée – soit directement, soit par l'intermédiaire d'une ou plusieurs autres espèces chimiques ou biologiques – pour former une couche
5 métallique, absorbante ou diffusante continue ou discontinue, ledit substrat transparent formant, avec ladite couche ou surface fonctionnalisée et la couche métallique, absorbante ou diffusante ainsi formée, un support amplificateur de contraste tel que mentionné plus haut ;

10 III. éclairer ledit support amplificateur de contraste en incidence normale au moins à ladite longueur d'onde d'éclairage λ à travers ledit substrat ;

IV. observer ledit support amplificateur de contraste ainsi éclairé, également à travers ledit substrat.

Selon des modes de réalisation particuliers d'un tel procédé :

15 - Ladite étape II peut comprendre les sous-étapes consistant à :

20 II-1) Placer ladite couche ou surface fonctionnalisée en contact avec une première solution contenant l'espèce chimique ou biologique à détecter ou doser, de manière à former une couche dite intermédiaire ; et

25 II-2) Placer ladite couche intermédiaire en contact avec une deuxième solution, contenant une espèce chimique ou biologique dite auxiliaire, marquée par des nanoparticules métalliques ou un marqueur absorbant ou diffusant et susceptible de se fixer sur ladite couche intermédiaire pour former ladite couche métallique, absorbante ou diffusante continue ou discontinue.

- En variante, ladite étape II peut comprendre les sous-étapes consistant à :

30 II-1') Placer ladite couche ou surface fonctionnalisée en contact avec une première solution contenant une espèce chimique ou biologique, dite espèce intermédiaire, marquée par des nanoparticules métalliques ou un marqueur absorbant ou diffusant et

susceptible de se fixer sur ladite couche de fonctionnalisation pour former ladite couche métallique, absorbante ou diffusante continue ou discontinue ; et

5 II-2') Placer ladite couche ou surface fonctionnalisée et ladite couche métallique, absorbante ou diffusante en contact avec une deuxième solution contenant ladite espèce chimique ou biologique à détecter ou doser, laquelle présente une affinité avec ladite couche ou surface fonctionnalisée supérieure à celle de ladite espèce intermédiaire, moyennant quoi ladite espèce intermédiaire est déplacée
10 et ladite couche métallique, absorbante ou diffusante est supprimée au moins en partie.

- Lors de ladite étape II, on peut placer ladite couche ou surface fonctionnalisée en contact avec une solution contenant l'espèce chimique ou biologique à doser, ainsi que ladite espèce chimique ou biologique
15 concurrente, l'une des deux espèces étant marquée par des nanoparticules métalliques ou un marqueur absorbant ou diffusant, moyennant quoi on obtient une couche métallique, absorbante ou diffusante continue ou discontinue dont l'épaisseur effective dépend du rapport entre la concentration de ladite espèce chimique ou biologique concurrente et celle de la dite espèce chimique ou
20 biologique à doser.

Conventionnellement, on considèrera qu'un matériau est transparent à une longueur d'onde λ lorsque la partie imaginaire de son indice de réfraction à cette longueur d'onde est inférieure à 0,01, voire à 0,001, voire à
25 0,0001.

D'autres caractéristiques, détails et avantages de l'invention ressortiront à la lecture de la description faite en référence aux dessins annexés donnés à titre d'exemple et qui représentent, respectivement :

- La figure 1, une structure constituée par une couche mince entre deux milieu semi-infinis ;
30 - Les figures 2A à 2D, des graphiques illustrant la relation entre les parties réelles et imaginaires des indices de réfraction de couches antireflet absorbantes selon différents modes de réalisation de l'invention ;

- Les figures 3A à 3C, des graphiques illustrant la relation entre les épaisseurs et les parties imaginaires des indices de réfraction de couches antireflet absorbantes selon différents modes de réalisation de l'invention ;

5 - Les figures 4A à 4F, des graphiques illustrant la relation entre les épaisseurs et les réflectances (4A – 4D) ou absorbances (4E, 4F) de couches antireflet absorbantes selon différents modes de réalisation de l'invention ;

10 - Les figures 5A et 5B, des graphiques illustrant les contrastes d'observation d'un échantillon obtenus grâce à des supports selon différents modes de réalisation de l'invention ;

- Les figures 5C et 5D, des graphiques illustrant les contrastes d'observation d'échantillons d'épaisseurs différentes obtenus grâce à un support selon un mode de réalisation de l'invention ;

15 - La figure 6, une application d'un support amplificateur de contraste selon un mode de réalisation de l'invention ;

- Les figures 7A à 7E, des procédés de détection ou dosage d'au moins une espèce chimique ou biologique selon différents modes de réalisation de l'invention ; et

20 - La figure 8, un support amplificateur de contraste illustré à titre d'exemple mais ne relevant pas de l'invention, mettant en œuvre un substrat absorbant.

La figure 1 illustre un faisceau de lumière parallèle FL (pouvant être assimilé localement à une onde plane) et monochromatique à une longueur d'onde (dans le vide) λ , en incidence normale sur une structure constituée par :
25 un milieu semi-infini dit incident MI, dont provient le faisceau de lumière, transparent et caractérisé par un indice de réfraction réel n_0 ; une couche absorbante CA d'épaisseur e_1 , caractérisée par un indice de réfraction complexe $N_1=n_1-jk_1$ (« j » étant l'unité imaginaire) ; et un milieu semi-infini dit émergent ME, situé du côté de la couche opposé à celui dont provient la
30 lumière, transparent et caractérisé par un indice de réfraction réel $n_3 < n_0$. Le milieu incident peut notamment être un substrat, par exemple en verre, sur lequel est déposée la couche CA. Un échantillon (non représenté) d'indice de

réfraction réel n_2 – ou d'indice de réfraction complexe $N_2=n_2-jk_2$ – peut être déposé sur la couche CA, du côté du milieu émergent. Comme cela a été expliqué plus haut, afin de maximiser le contraste avec lequel l'échantillon est observé, il faut annuler la réflectance de l'ensemble milieu incident MI / couche CA / milieu émergent ME en l'absence d'échantillon.

Le coefficient de réflexion complexe d'une structure du type illustré sur la figure 1 (couche d'épaisseur e_1 comprise entre deux milieux semi-infinis) est donné par la formule d'Airy :

$$r_{013} = \frac{r_{01} + r_{13} e^{-2j\beta_1}}{1 + r_{01} r_{13} e^{-2j\beta_1}} \quad (2)$$

où r_{ij} est le coefficient de Fresnel à l'interface $i-j$ ($j=0, 1$ ou 3 , « 0 » correspondant au milieu incident, « 1 » à la couche CA et « 3 » au milieu émergent) et $\beta_1 = 2\pi n_1 e_1 \cos\theta_1 / \lambda$ est le facteur de phase associé à ladite couche, θ_1 étant l'angle de réfraction dans la couche. Dans un premier temps, on considère une couche transparente d'indice réel n_1 , la généralisation au cas d'une couche absorbante sera traitée plus loin. Toujours dans un premier temps, on considère une incidence qui peut ne pas être normale.

Les coefficients de Fresnel pour les polarisations « p » (TM) et « s » (TE) sont :

$$r_{ij}^{(p)} = \frac{(n_j \cos \theta_i - n_i \cos \theta_j)}{(n_j \cos \theta_i + n_i \cos \theta_j)}$$

et

$$r_{ij}^{(s)} = \frac{(n_i \cos \theta_i - n_j \cos \theta_j)}{(n_i \cos \theta_i + n_j \cos \theta_j)}$$

La condition antireflet correspond à $r_{013}=0$ ce qui, dans le cas de milieux transparents (indices réels) donne deux familles de solutions :

- les couches dites « $\lambda/2$ », pour lesquelles $e_1 = \frac{m\lambda}{(2n_1 \cos\theta_1)}$

où m est un entier, qui existent seulement si $n_0=n_3$; et

- les couches dites « $\lambda/4$ », pour lesquelles $n_1 e_1 = (2p + 1) \frac{\lambda}{4}$

(p entier).

Dans le cas où le milieu 1 (couche CA) est absorbant, son indice de réfraction $N_1=n_1-jk_1$ est complexe ; l'angle de réfraction – que l'on

indique alors par Θ_1 – et le coefficient de phase – B_1 – sont également complexes. Dans ce cas, $r_{013}=0$ impose : $r_{01,s}r_{13,p}=r_{01,p}r_{13,s}$; cette égalité ne peut être vraie que si une des trois conditions suivantes : $\Theta_1=0$ (incidence normale), $N_1^2=n_0^2$ (pas de couche) ou $n_0^2=n_3^2$ (milieux incident et émergent identiques) est
 5 satisfaite. Par conséquent, dans le cas de milieux extrêmes quelconques, la condition antireflet ne peut être satisfaite qu'en incidence normale. Sachant que $r_{011,p}=-r_{01,s}$ et que $r_{13,p}=-r_{13,s}$, l'équation (2) devient :

$$N_1^2 - j \frac{(n_3 - n_0)}{\tan B_1} N_1 - n_0 n_3 = 0 \quad (3)$$

L'équation (3) est transcendante et n'admet pas de solution
 10 analytique. Toutefois, on peut trouver des solutions correspondant aux cas extrêmes : couche fortement absorbante et couche faiblement absorbante.

Dans le cas fortement absorbant, on peut supposer que $e_1 \ll \lambda$ car la lumière ne se propagerait pas à travers une couche très absorbante et épaisse ; par conséquent, $|B_1| \ll 1$ et on peut alors écrire, au second ordre en
 15 B_1 : $\tan B_1 \cong B_1 = \sqrt{n_3/n_0} (N_1/\sqrt{n_0 n_3}) \delta_1$, où $\delta_1 = (2\pi n_0/\lambda) e_1$. Il est utile de séparer les parties réelles et imaginaires de l'équation, et d'utiliser les variables « réduites » $\nu_1 = n_1/\sqrt{n_0 n_3}$ and $\kappa_1 = k_1/\sqrt{n_0 n_3}$. L'équation (3) peut alors s'écrire sous la forme du système suivant :

$$\nu_1^2 = 1 + \kappa_1^2 \quad (4a)$$

$$20 \quad \delta_1 = \frac{\left(\frac{n_0}{n_3} - 1\right)}{2\nu_1 \kappa_1} \quad (4b)$$

Etant donné que δ_1 doit être réel et positif, on a la condition $n_0 > n_3$ (« géométrie inversée »). En prenant $n_0=1,52$ et $n_3=1,34$ – ce qui correspond au cas verre/eau couramment utilisé en biophotonique – on trouve une épaisseur $e_1 = (\lambda/2\pi)(n_0 - n_3)/2n_1 k_1$ de l'ordre du nanomètre, ce qui
 25 confirme l'hypothèse initiale. Il est intéressant – et inattendu – que l'équation (4a) tend à la condition d'indice classique quand κ_1 – et donc k_1 – tend vers zéro. Une comparaison avec des résultats numériques permet de vérifier que l'équation (4a), bien que dérivée dans l'hypothèse d'une couche fortement absorbante, est approximativement valable pour toute valeur de k_1 . Par contre,

la valeur de e_1 obtenue à partir de l'équation (4b) ne tend pas vers $\lambda/4n_1$; par conséquent, l'équation (4b) n'a pas une validité générale.

Dans le cas faiblement absorbant on pose $B_1 = \pi/2 - \varepsilon_1$ (où ε_1 est une variable complexe), ce qui implique : $\varepsilon_1 = \pi/2 - \sqrt{\frac{n_3}{n_0}}(v_1 - j\kappa_1)\delta_1$. On peut

5 alors écrire, au second ordre en κ_1 :

$$v_1^2 = 1 + \frac{\pi}{2} \sqrt{\frac{n_3}{n_0}} \left(\frac{n_0}{n_3} - 1 \right) \kappa_1 - 3\kappa_1^2 + o(\kappa_1^3) \quad (5a)$$

$$\delta_1 \simeq \frac{\pi}{2} \sqrt{\frac{n_0}{n_3}} \frac{1}{v_1} \left\{ 1 - \frac{4}{\pi} \frac{\sqrt{n_0/n_3}}{(n_0/n_3 - 1)} \kappa_1 + \kappa_1^2 + o(\kappa_1^3) \right\} \quad (5b)$$

En pratique, l'équation (5a) – dont le domaine de validité
10 s'avère très réduit – a peu d'intérêt car, comme mentionné plus haut, l'équation (4a) constitue une approximation satisfaisante pour toute valeur de k_1 . Cela est illustré par la figure 2A, qui montre la relation $v_1(\kappa_1)$; les courbes correspondant à une solution numérique de l'équation (3) et à l'équation (4a) ne peuvent pas être distinguées. La figure 2B montre l'erreur – en pourcentage –
15 de l'équation (4a) par rapport à la solution numérique : on peut voir que cette erreur est très faible. Les figures 2C et 2D sont des agrandissements de la figure 2A qui permettent d'étudier plus en détail le régime de faible absorption ; sur ces figures la courbe c4a correspond à l'équation (4a) valable pour une forte absorption, c3 à la solution numérique de l'équation (3), c5a à l'équation
20 (5a) et c5a' à l'équation (5a) tronquée au premier ordre. On peut voir que l'équation (5a) et sa version au premier ordre constituent effectivement une meilleure approximation que l'équation 4a pour des faibles valeurs de κ_1 , mais que l'équation (4a) demeure une assez bonne approximation dans tous les cas, tandis que l'équation (5a) perd rapidement toute pertinence.

25 Les figures 3A et 3B illustrent la relation $\delta_1(\kappa_1)$; la courbe cN correspond à la solution numérique de l'équation 3, c4b correspond à l'équation 4b, valable pour k_1 grand, et c5b correspond à l'équation 5b. On peut voir que, dans ce cas, la solution obtenue pour k_1 élevé ne constitue pas une approximation acceptable pour κ_1 petit. Par contre, il existe une équation semi-empirique – correspondant à la courbe c6b – qui s'avère satisfaisante dans tous
30

les cas. La figure 3C illustre l'erreur de cette solution semi-empirique par rapport à la solution numérique : elle n'excède jamais 3,5%. La solution semi-empirique est donnée par l'équation 6b ci-dessous ; l'équation 6a est simplement l'équation 4a qui, comme cela a été montré plus haut, peut être
 5 considérée générale et utilisée en remplacement de 5b même pour κ_1 petit :

$$v_1^2 = 1 + \kappa_1^2 \quad (6a)$$

$$\delta_1 \cong \frac{(n_0/n_3 - 1)}{2v_1\kappa_1} \left[1 - e^{-\frac{\kappa_1}{K}} \right] \quad (6b).$$

$$\text{où } K = \{[\pi/(n_0/n_3 - 1)]\sqrt{n_0/n_3}\}^{-1}$$

La figure 4A montre les courbes de réflectance en fonction de
 10 δ_1 pour différentes valeurs de κ_1 ; la figure 4B montre les courbes de réflectance en fonction de $1/\delta_1$. Comme $1/\delta_1$ est proportionnel à λ , la figure 4B illustre comment la réflectance d'un substrat donné varie en fonction de la longueur d'onde d'éclairage. On peut remarquer qu'une couche antireflet absorbante dimensionnée pour opérer à une longueur d'onde λ atténue la réflexion
 15 également à des longueurs d'onde $\lambda' > \lambda$. Cela permet d'utiliser ces supports également en éclairage polychromatique ; dans ce dernier cas, il convient d'effectuer le dimensionnement de la couche antireflet absorbante par rapport à la plus petite longueur d'onde utilisée pour l'éclairage.

Les figures 4C et 4D sont des agrandissements des figures 4A
 20 et 4B, respectivement, montrant plus spécifiquement la région des faibles réflectances. Les figures 4E et 4F montrent les courbes d'absorbance pour différentes valeurs de κ_1 , respectivement en fonction de δ_1 et $1/\delta_1$.

Les figures 4A à 4D montrent que l'épaisseur réduite δ_1 d'une
 25 couche antireflet absorbante est d'autant plus faible que la partie imaginaire réduite κ_1 de son indice de réfraction est important. En d'autres termes, plus la couche est absorbante, plus elle doit être mince. Les courbes 4E et 4F permettent de vérifier que l'absorbance à l'épaisseur δ_1 donnée par l'équation 6b est pratiquement indépendante de κ_1 et vaut environ 0,1.

Dans leur article précité, G. Moiseev et S. V. Vinogradov ont
 30 étudié une couche antireflet absorbante utilisée en configuration non inversée (éclairage provenant du milieu de plus faible indice) ; ils ont trouvé une

épaisseur d'autant plus grande que la partie imaginaire de l'indice de réfraction de la couche est élevée, conduisant à une absorbance qui augmente rapidement avec cette dernière. Dans ces conditions, la couche ANtiRefllet ne peut exister que pour des valeurs très faibles de κ_1 il ne serait pas possible
5 d'utiliser une couche antireflet très absorbante en tant que couche amplificatrice de contraste. Ce problème ne se pose pas dans le cas considéré ici.

Les figures 5A à 5D permettent d'étudier le contraste avec lequel un échantillon peut être observé grâce à des supports comprenant une couche antireflet absorbante telle que décrite ci-dessus. On considère un
10 substrat en verre, un milieu émergent constitué par de l'eau ($n_0/n_3=1,14$) et un échantillon constitué par une couche transparente d'indice de réfraction $n_2=1,46$. La figure 5A montre la valeur du contraste C avec lequel un échantillon d'épaisseur $e_2=1$ nm est observé, en fonction de l'épaisseur réduite δ_1 pour les
mêmes valeurs de κ_1 que celles considérées dans les figures 4A – 4F : $\kappa_1=0$
15 (couche antireflet non absorbante, ne faisant pas partie de l'invention) ; 0,1 ; 0,3 ; 0,6 ; 1 et 2. La figure 5B montre la valeur de ce contraste en fonction de $1/\delta_1$.

On remarque que :

- seule la couche non absorbante permet une véritable
20 inversion du contraste (échantillon sombre sur fond clair) ; la couche $\kappa_1=0,1$ permet une telle inversion mais seulement à un niveau de contraste très faible ;
- la largeur des pics de contraste est d'autant plus faible – et donc la tolérance sur l'épaisseur réduite de la couche antireflet – que κ_1 est élevée. Dans le cas d'un objet à observer ayant une épaisseur de 1nm, pour
25 $\kappa_1=0,1$ le contraste reste acceptable (0,4) même lorsque δ_1 s'écarte de $\pm 10\%$ de sa valeur optimale, mais cette tolérance peut difficilement dépasser 1% pour $\kappa_1=1$.

Les figures 5C et 5D permettent d'étudier l'influence de l'épaisseur de l'échantillon : elles montrent la valeur du contraste C en fonction
30 de δ_1 et de $1/\delta_1$ respectivement, dans le cas $\kappa_1=0,1$ et pour $e_2=1$ nm, 0,1 nm et 0,01 nm (il s'agit d'épaisseurs effectives d'échantillons pouvant être constitués d'atomes ou molécules éparses, disposés sur la surface de la

couche amplificatrice de contraste). On remarque que le contraste C peut toujours atteindre une valeur de 1, mais que la tolérance sur δ_1 est d'autant plus réduite que l'épaisseur e_2 est faible. Concrètement, comme δ_1 dépend tant de l'épaisseur de la couche antireflet absorbante que de la longueur d'onde d'éclairage, dans le cas d'échantillons très fins il pourra être avantageux d'ajuster finement cette longueur d'onde pour maximiser le contraste.

Il peut être aussi avantageux de choisir une longueur d'onde d'éclairage et/ou une épaisseur de la couche antireflet absorbante telle que δ_1 soit légèrement supérieure à sa valeur optimale, afin que le contraste devienne une fonction monotone de l'épaisseur de l'objet, ce qui en permet la cartographie.

La figure 6 représente un support amplificateur de contraste SAC comprenant un substrat transparent SS – par exemple en verre - servant de milieu incident, une couche absorbante antireflet CA déposée sur le dit substrat et en contact avec un milieu émergent ME, par exemple une solution aqueuse ou l'air. Un échantillon ECH est déposé sur une portion de la couche CE, du côté du milieu émergent. Le substrat est éclairé en incidence normale par un faisceau lumineux FL qui est, dans l'exemple considéré ici, un faisceau laser à profil gaussien, focalisé par une lentille LE au niveau de la couche antireflet. On sait en effet que, dans sa région focale (« beam waist »), un faisceau gaussien présente un front de phase plan, et peut donc être assimilé localement à une onde plane (cas considéré dans les développements théoriques qui précèdent). Un miroir semi-transparent MST dévie une portion de la lumière réfléchiée par l'ensemble substrat SS/couche CA/échantillon ECH/milieu émergent ME, pour la diriger vers un objectif LO, permettant l'observation dudit échantillon. L'observation peut se faire par balayage ou « plein champ ». En variante, il est été possible d'utiliser un faisceau de lumière parallèle ou un système de vision télécentrique. Il convient de noter que la cohérence spatiale de la lumière incidente et son état de polarisation n'ont pas d'importance. En revanche, si on veut observer un contraste d'intensité, il convient d'utiliser un éclairage à bande étroite ; un éclairage polychromatique conduit à un contraste qui n'est pas tant d'intensité que de couleur (échantillon

observé avec une couleur différente de celle du fond et couleurs différentes selon l'épaisseur de l'échantillon).

Dans le montage de la figure 6, les lentilles LO et LE sont interchangeable. Par ailleurs, la réflexion parasite sur la face avant du substrat
5 peut être utilement atténuée par des techniques telles que : immersion dans une huile, l'existence d'un biseau entre la face avant et la face arrière, un filtrage spatial, un traitement antireflet classique.

Pour concevoir un support amplificateur de contraste du type illustré sur la figure 6 on peut procéder de la façon suivante :

10 - Premièrement, on détermine la longueur d'onde d'éclairage (ou la plus petite longueur d'onde d'éclairage, si ce dernier est polychromatique) λ , en fonction de l'application considérée ou de différentes contraintes technologiques.

- Ensuite, on choisit un premier matériau destiné à constituer
15 le substrat et un matériau destiné à constituer le « milieu ambiant » ou « émergent ». Souvent, le choix du milieu ambiant est déterminé par l'application considérée (généralement une solution aqueuse pour les applications biologiques) ; le choix du matériau constituant le substrat est dicté par des considérations technologiques et par la contrainte $n_3 < n_0$ à la longueur
20 d'onde λ . Souvent, on choisira un substrat en verre, et un milieu ambiant constitué par l'air (rapport n_3/n_0 compris entre 1,45 et 1,7) ou l'eau (rapport n_3/n_0 compris entre 1,1 et 1,3).

- Puis, l'équation 6a est utilisée pour déterminer la relation
25 liant la partie réelle et la partie imaginaire de l'indice de réfraction du matériau constituant la couche antireflet absorbante. Un matériau satisfaisant cette relation est alors choisi – ou conçu. Par exemple, on peut choisir un matériau de départ transparent en fonction de considérations technologiques diverses – par exemple un polymère ; prendre la partie réelle de son indice de réfraction comme une donnée imposée ; et modifier la partie imaginaire dudit indice de
30 réfraction par l'ajut d'impuretés (colorants, nanoparticules...) pour que l'équation 6a soit satisfaite.

- Enfin, l'épaisseur de ladite couche est déterminée en appliquant l'équation 6b (ou l'une des équations 4b ou 5b, qui en constituent des cas particuliers).

5 On procède ensuite à la fabrication du support, par des techniques conventionnelles, telles que le revêtement à la tournette, par immersion, au rouleau, par sédimentation ou par évaporation ; le dépôt chimique ou physique en phase vapeur, l'implantation ionique, le dépôt électrolytique, etc.

10 La couche antireflet absorbante peut être métallique (et notamment en or), semi-conductrice, conductrice non-métallique, en polymère contenant des pigments ou colorants, en matériau inorganique (minéral) contenant des centres colorés, etc. Parmi les matériaux semi-conducteurs convenant à la réalisation de couches antireflet absorbantes on peut mentionner : le germanium (pour des applications dans l'ultraviolet (UV) proche, par exemple à 354 nm), le TiO_2 (également dans l'UV proche), le siliciure de molybdène, de nickel ou de titane (dans le visible), le siliciure de tungstène (dans le proche infrarouge ou dans le proche UV), le siliciure de zirconium (dans le visible ou le proche UV) le tantale ou le vanadium (dans le visible), etc. Elle peut également contenir des nanoparticules métalliques. Elle peut être
20 magnétique, ce qui présente un intérêt pour l'étude d'échantillons qui sont à leur tour magnétiques. L'utilisation de couches conductrices – métalliques ou pas – permet d'appliquer une différence de potentiel contrôlée à l'échantillon et/ou de réaliser une « imagerie électrochimique » permettant d'étudier des phénomènes d'électrodépôt, corrosion, catalyse, etc. Une variante
25 particulièrement intéressante consiste à réaliser un support monolithique, dans lequel la couche antireflet absorbante est une couche d'impuretés implantées – par exemple par implantation ionique – à la surface du substrat ; un tel substrat peut être nettoyé et réutilisé, sans danger d'abimer la couche. Une couche antireflet « absorbante » ne doit pas nécessairement être absorbante au sens
30 propre : en variante, il peut s'agir d'une couche diffusante, la diffusion « imitant » l'absorption et pouvant également être modélisée par un indice de réfraction complexe.

Un substrat amplificateur de contraste tel que décrit ci-dessus permet également la réalisation de biopuces pour la détection et/ou le dosage d'espèces chimiques ou biologique. Par exemple, comme illustré sur la figure 7, il est possible de déposer une couche fonctionnalisée CF sur la couche amplificatrice de contraste CA. Cette couche fonctionnalisée est mise en contact avec une solution S, par exemple aqueuse, contenant l'espèce chimique ou biologique à détecter ECD. Cette dernière est fixée par la couche fonctionnalisée et forme une couche mince supplémentaire CE, constituant l'échantillon à observer. En pratique, dans le cas d'une biopuce, on déposera plusieurs plots fonctionnalisés différents, permettant de fixer sélectivement des espèces chimiques ou biologiques différentes. En observant la biopuce au microscope, dans les conditions décrites ci-dessus, on peut identifier facilement les espèces effectivement présentes dans la solution. Dans certains modes de réalisation, une même couche peut réaliser à la fois la fonction chimique de fixation sélective et la fonction optique d'amplification du contraste.

De préférence, en dehors des plots on peut prévoir une couche de passivation empêchant la fixation de toute espèce chimique ou biologique contenue dans ladite solution (« passivation chimique »). On peut utiliser par exemple un polyéthylène glycol, un polymère fluoré, ou un alkyl fluoré, par exemple fonctionnalisés par des thiols dans le cas de l'or. Cette couche de passivation peut être déposée en phase vapeur ou en phase liquide après la fabrication des plots. En variante ou en complément on peut utiliser une couche antireflet absorbante discontinue, présente (ou présentant une épaisseur optimale) seulement en correspondance des plots ; on parle alors de « passivation optique ».

Lorsqu'on souhaite détecter ou déposer des espèces chimiques ou biologiques, il est également possible d'utiliser un substrat uniquement pourvu de la couche fonctionnalisée CF. Dans ce cas, la couche antireflet absorbante est constituée par les espèces fixées par ladite couche CF.

Selon un premier mode de réalisation, illustré sur la figure 7B, la couche fonctionnalisée est mise en contact avec une solution contenant une espèce chimique ou biologique ECD à détecter ou doser, marquée par des nanoparticules métalliques NPM et susceptible de se fixer sur ladite couche

fonctionnalisée de manière à former une couche métallique CM. Cette couche peut être en réalité discontinue, mais elle apparaît continue à l'échelle de la longueur d'onde de la lumière visible (plusieurs centaines de nanomètres), avec une épaisseur effective qui peut être une fraction du diamètre de la nanoparticule, et avec un indice de réfraction effectif. L'observation se fait de la manière décrite plus haut, la couche métallique ainsi constituée servant à la fois de couche amplificatrice de contraste et d'échantillon. Pour un temps de contact déterminé entre la solution et la couche fonctionnalisée, l'épaisseur de la couche métallique dépend de la teneur en espèce chimique ou biologique, ce qui permet de réaliser un dosage.

En variante, les nanoparticules métalliques peuvent être remplacées par un marqueur absorbant, par exemple une molécule fluorescente (à noter que la fluorescence, en soi, n'est pas exploitée, mais une molécule fluorescente est fortement absorbante).

L'inconvénient du premier mode de réalisation est de ne permettre que la détection d'une espèce chimique ou biologique marquée. Les modes de réalisation suivants ne présentent pas cet inconvénient.

Selon le deuxième mode de réalisation (figure 7C), la couche fonctionnalisée est placée en contact avec une première solution S1 contenant l'espèce chimique ou biologique à détecter ou doser, de manière à former une couche dite intermédiaire CI. Cette couche intermédiaire n'est pas observable. Pour la révéler, on la met en contact avec une deuxième solution S2, contenant une espèce chimique ou biologique dite auxiliaire ECA, marquée par des nanoparticules métalliques (ou un marqueur absorbant) et susceptible de se fixer sur ladite couche intermédiaire pour former la couche métallique (ou absorbante) CM.

La technique peut être quantitative si l'espèce à détecter est présente en quantité insuffisante pour saturer la couche fonctionnalisée et, par contre, l'espèce auxiliaire est présente en excès. Dans ce cas, en effet, l'épaisseur et l'indice effectifs de la couche CM – et donc l'intensité du signal lumineux observé – dépendront de la concentration de l'espèce à détecter.

Ce deuxième mode de réalisation ne peut être utilisé que si l'espèce chimique ou biologique à détecter présente au moins deux sites actifs,

il ne s'applique donc pas, par exemple, aux haptènes. En outre, il est assez complexe à mettre en œuvre.

Les modes de réalisation suivants ne présentent pas cet inconvénient.

5 Selon le troisième mode de réalisation (figure 7D), la couche fonctionnalisée est placée en contact avec une première solution (S1) contenant une espèce chimique ou biologique, dite espèce intermédiaire ECI, marquée par des nanoparticules métalliques ou un marqueur absorbant et susceptible de se fixer sur ladite couche de fonctionnalisation pour former ladite
10 couche métallique ou absorbante (CM) continue ou discontinue. Ensuite, l'ensemble ainsi obtenu est mis en contact avec une deuxième solution (S2) contenant l'espèce chimique ou biologique à détecter ou doser, laquelle présente une affinité avec ladite couche de fonctionnalisation supérieure à celle de ladite espèce intermédiaire. Ainsi, l'espèce intermédiaire est déplacée et
15 ladite couche métallique ou absorbante est supprimée au moins en partie, ce qui se traduit par une augmentation du signal lumineux. La technique s'applique à la fois à un niveau qualitatif à la détection et à un niveau quantitatif au dosage des espèces ciblées. Un avantage de cette approche est que ses deux étapes peuvent être dissociées : les supports peuvent être fournis avec la
20 couche CM déjà formée, prêts à être utilisés comme capteurs chimiques ou biologiques.

Selon un quatrième mode de réalisation (figure 7E), l'on place ladite couche fonctionnalisée en contact avec une solution S contenant l'espèce chimique ou biologique à doser, ainsi que ladite espèce chimique ou biologique
25 concurrente ECC, l'une des deux espèces (de préférence l'espèce concurrente) étant marquée par des nanoparticules métalliques ou un marqueur absorbant. Ainsi, l'on obtient une couche métallique ou absorbante CM dont l'épaisseur effective et l'indice effectif dépendent du rapport entre la concentration de ladite espèce chimique ou biologique concurrente et celle de la dite espèce chimique
30 ou biologique à doser. Comme dans les autres modes de réalisation, le signal dépend de cette épaisseur effective et de cet indice effectif.

Les espèces chimiques ou biologiques peuvent être, par exemple, anticorps, antigènes, protéines, ADN, ARN, saccharides, enzymes,

ions métalliques (notamment pour des applications au contrôle des eaux), molécules aromatiques, molécules organiques telles que des hydrocarbures, microorganismes, etc.

5 Au lieu d'être métallique ou absorbant, le marqueur peut être diffusant. En effet, comme cela a été expliqué plus haut, l'effet de la diffusion peut être exprimé par un indice de réfraction ayant une partie imaginaire. Ainsi, des nanoparticules diélectriques telles que des nanoparticules minérales de silice ou d'alumine, des dendrimères, des nanoparticules de latex, des vésicules, ou des virus peuvent jouer le même rôle que les nanoparticules
10 métalliques.

Les techniques de détection ou dosage décrites ci-dessus s'appliquent également lorsque la couche fonctionnalisée est déposée sur une couche d'amplification de contraste telle que décrite plus haut. La couche fonctionnalisée, et le cas échéant la couche d'amplification de contraste,
15 peuvent être structurées en plots, et la surface en dehors de ces plots peut être passivée chimiquement et/ou optiquement, comme expliqué plus haut.

Jusqu'ici on a considéré uniquement le cas où l'éclairage et l'observation se font à travers d'un substrat présentant un indice de réfraction (réel) supérieur à celui du milieu ambiant – ce qu'on appelle une « géométrie
20 inversée » ou « face arrière ». En variante, il est également possible d'opérer en configuration « face avant », c'est-à-dire en effectuant l'éclairage et l'observation à travers du milieu ambiant ; dans ce cas, le substrat doit présenter un indice de réfraction plus faible que celui dudit milieu ambiant : $n_0 < n_3$.

25 Une autre généralisation consiste à considérer un milieu incident et/ou un milieu émergent absorbant. Le cas le plus intéressant est celui où le milieu incident est transparent et le milieu émergent absorbant : en effet, si le milieu incident était fortement absorbant, la lumière ne pourrait pas s'y propager pour parvenir à la couche antireflet.

30 En partant de l'équation (3), dans le cas $\kappa_1 > 0,15$ et en remplaçant n_3 par $N_3 = n_3 - j\kappa_3$ on obtient :

$$v_1^2 - \kappa_1^2 = 1 + \sqrt{\frac{n_0}{n_3}} \kappa_3 \frac{2v_1 \kappa_1 - \sqrt{\frac{n_0}{n_3}} \kappa_3}{\left(\frac{n_0}{n_3} - 1\right)} \quad (7a)$$

$$\delta_1 = \frac{\left(\frac{n_0}{n_3} - 1\right)}{2v_1 \kappa_1 - \sqrt{\frac{n_0}{n_3}} \kappa_3} \quad (7b)$$

$$\text{où } \kappa_3 = k_3 / \sqrt{n_0 n_3}.$$

On remarque que, dans l'équation 7b, une valeur élevée de κ_3 peut inverser le signe de δ_1 . Par conséquent, on peut réaliser une couche antireflet absorbante déposée sur un substrat qui est à son tour absorbant, éclairée par sa face opposée audit substrat (configuration « face avant »). Il peut s'agir par exemple d'une couche métallique déposée sur un substrat semi-conducteur ou l'inverse, ce qui a des applications par exemple en micro-

10 électronique. Des couches de ce type ont été décrites par l'article précité de R. M. A. Azzam et al. L'article précité de M. A. Kats et al., en outre, a décrit des couches semblables mais n'annulant pas totalement la réflexion. Ces publications, cependant, ne fournissent aucune méthode générale et systématique de conception de telles couches.

15 La théorie exposée ci-dessus permet de concevoir et fabriquer un support amplificateur de contraste comprenant une couche absorbante déposée sur un substrat absorbant comme cela a été décrit plus haut pour le cas d'un substrat transparent – mais en utilisant les équations 7a/7b au lieu des équations 6a/6b.

20 Un support amplificateur de contraste SAC' de ce type, comprenant un substrat absorbant SA et une couche antireflet absorbante CA' décrite par les équations 7a et 7b, est représenté sur la figure 8. L'observation se fait « face avant » (du côté de la couche opposé au substrat) au moyen d'un faisceau de lumière parallèle FL, ou d'un faisceau laser gaussien focalisé

25 comme dans le cas de la figure 6. Les matériaux mentionnés en référence à la couche CA peuvent également être utilisés pour la réalisation d'une couche CA'. Cette dernière peut également être fonctionnalisée ou être réalisée par des espèces chimiques ou biologiques, éventuellement marquées, fixées par une

couche de fonctionnalisation, en particulier pour des applications de détection ou dosage.

REVENDEICATIONS

1. Support amplificateur de contraste (SAC) pour l'observation d'un échantillon, caractérisé en ce qu'il comprend un substrat transparent (MI, SS) portant au moins une couche absorbante (CA) dont l'indice de réfraction complexe $N_1=n_1-jk_1$ et l'épaisseur sont choisis de telle sorte que ladite couche se comporte en tant que couche antireflet lorsqu'elle est éclairée en incidence normale à une longueur d'onde d'éclairage λ à travers ledit substrat, la face de ladite couche opposée audit substrat étant en contact avec un milieu dit ambiant (ME) transparent dont l'indice de réfraction n_3 est inférieur à celui de l'indice de réfraction n_0 dudit substrat.

2. Support amplificateur de contraste selon la revendication 1 dans lequel, à ladite longueur d'onde d'éclairage λ , l'indice de réfraction n_0 du substrat, les parties réelles et imaginaires de l'indice de réfraction complexe de la couche $N_1=n_1-jk_1$ et l'épaisseur e_1 de la couche satisfont aux conditions suivantes :

$$d) \quad v_1^2 = 1 + \kappa_1^2 ;$$

$$e) \quad \delta_1 = \frac{(n_0/n_3-1)}{2v_1\kappa_1} \left[1 - e^{-\frac{\kappa_1}{K}} \right] ; \text{ et}$$

f) $k_1 \geq 0,001$, et de préférence $k_1 \geq 0,01$, et de manière encore préférée $k_1 \geq 0,1$

où :

$$- \quad \delta_1 = \frac{2\pi n_0}{\lambda} e_1 ;$$

$$- \quad v_1 = \frac{n_1}{\sqrt{n_0 n_3}} ;$$

$$- \quad \kappa_1 = \frac{k_1}{\sqrt{n_0 n_3}} ; \text{ et}$$

$$- \quad K = \left\{ \left[\pi / (n_0/n_3 - 1) \right] \sqrt{n_0/n_3} \right\}^{-1}$$

avec une tolérance inférieure ou égale à 5%, et de préférence inférieure ou égale à 0,3%, pour n_1 et k_1 , et avec une tolérance inférieure ou égale à 30% et de préférence inférieure ou égale à 5% pour e_1 .

3. Support amplificateur de contraste selon la revendication 2 dans lequel l'indice de réfraction du substrat n_0 , l'indice de réfraction complexe de la couche $N_1=n_1-jk_1$ et l'épaisseur e_1 de la couche satisfont, en outre, avec lesdites tolérances et pour ladite longueur d'onde d'éclairage λ , aux conditions

5 suivantes :

$$d') \quad v_1^2 = 1 + \kappa_1^2 ;$$

$$e') \quad \delta_1 = \frac{n_0/n_3 - 1}{2v_1\kappa_1}; \text{ et}$$

$$f') \quad k_1 \geq 0,15.$$

où :

10

$$- \quad \delta_1 = \frac{2\pi n_0}{\lambda} e_1;$$

$$- \quad v_1 = \frac{n_1}{\sqrt{n_0 n_3}} ;$$

$$- \quad \kappa_1 = \frac{k_1}{\sqrt{n_0 n_3}} ; \text{ et}$$

$$- \quad K = \{[\pi/(n_0/n_3 - 1)]\sqrt{n_0/n_3}\}^{-1} .$$

15

4. Support amplificateur de contraste selon l'une des revendications précédentes dans lequel ledit substrat est en verre.

5. Support amplificateur de contraste selon la revendication 4 dans lequel le rapport n_0/n_3 est choisi compris entre 1,1 et 1,3.

20

6. Support amplificateur de contraste selon la revendication 4 dans lequel le rapport n_0/n_3 est choisi compris entre 1,45 et 1,7.

25

7. Support amplificateur de contraste selon l'une des revendications précédentes dans lequel ladite couche absorbante est choisie parmi :

30

- une couche d'impuretés implantées dans ledit substrat ;
- une couche métallique ;
- une couche semi-conductrice;
- un alliage composite metal/semi-conducteur
- une couche absorbante magnétique.

- une couche de nanoparticules métalliques;
- une couche conductrice non métallique ;
- une couche diffusante;
- une couche de polymère ou de photoresist contenant des pigments ou colorants ;
- une couche diélectrique minérale contenant des centres colorés ;
- une couche hybride composite comprenant une phase continue dans laquelle sont dispersées des nanoparticules ; et
- une couche de graphène ou une couche de graphène fonctionnalisée.

8. Support amplificateur de contraste selon l'une des revendications 1 à 7 dans lequel ladite couche absorbante comprend au moins une couche fonctionnalisée, susceptible de fixer au moins une espèce chimique ou biologique.

9. Support amplificateur de contraste selon l'une des revendications 1 à 6 dans lequel ledit substrat présente une surface fonctionnalisée (CF) susceptible de fixer au moins une espèce chimique ou biologique (ECI, ECC, ECD), ladite couche absorbante étant formée par ladite ou au moins une dite espèce chimique ou biologique fixée par ladite surface fonctionnalisée.

10. Support amplificateur de contraste selon l'une des revendications précédentes dans lequel ladite couche absorbante présente une transmittance supérieure ou égale à 80% et de préférence supérieure ou égale à 90%.

11. Procédé de fabrication d'un support amplificateur de contraste comprenant un substrat transparent (MI, S) portant au moins une couche absorbante (CA), ledit procédé comprenant une phase de conception dudit support et une phase de fabrication matérielle du support ainsi conçu ;

caractérisé en ce que ladite étape de conception comprend les étapes suivantes :

- i) choisir une longueur d'onde d'éclairage λ ;
- ii) choisir un matériau constituant ledit substrat et présentant, à ladite longueur d'onde d'éclairage λ , un indice de réfraction réel n_0 ;
- iii) choisir un milieu ambiant (ME) en contact avec ladite couche du côté opposé audit substrat et présentant, à ladite longueur d'onde d'éclairage λ , un indice de réfraction réel $n_3 < n_0$;
- iv) déterminer un indice de réfraction complexe nominal $N_1 = n_1 - jk_1$ et une épaisseur nominale e_1 de ladite couche telles qu'elle se comporte en tant que couche antireflet lorsqu'elle est éclairée en incidence normale à ladite longueur d'onde d'éclairage λ à travers ledit substrat, la face de ladite couche opposée audit substrat étant en contact avec ledit milieu ambiant ; et
- v) choisir un matériau constituant ladite couche absorbante et présentant, à ladite longueur d'onde d'éclairage λ , un indice de réfraction complexe dont les parties réelle et imaginaire coïncident avec celles dudit indice de réfraction complexe nominal à moins d'une tolérance inférieure ou égale à 5%, et de préférence inférieure ou égale à 0,3%.

20

12. Procédé selon la revendication 11 dans lequel, lors de ladite étape iv), ledit indice de réfraction complexe nominal et ladite épaisseur nominale sont choisis satisfaisant aux conditions suivantes :

- d) $v_1^2 = 1 + \kappa_1^2$;
- e) $\delta_1 = \frac{(n_0/n_3 - 1)}{2v_1\kappa_1} \left[1 - e^{-\frac{\kappa_1}{K}} \right]$; et
- f) $k_1 \geq 0,01$, et de préférence $k_1 \geq 0,1$

25

où :

- $\delta_1 = \frac{2\pi n_0}{\lambda} e_1$;
- $v_1 = \frac{n_1}{\sqrt{n_0 n_3}}$;
- $\kappa_1 = \frac{k_1}{\sqrt{n_0 n_3}}$; et
- $K = \left\{ \left[\pi / (n_0 / n_3 - 1) \right] \sqrt{n_0 / n_3} \right\}^{-1}$

30

13. Procédé selon la revendication 11 dans lequel l'indice de réfraction complexe nominal et l'épaisseur nominal de la couche sont déterminés de manière à satisfaire, pour ladite longueur d'onde d'éclairage λ ,
5 aux conditions suivantes :

$$d') \quad \nu_1^2 = 1 + \kappa_1^2 ;$$

$$e') \quad \delta_1 = \frac{n_0/n_3 - 1}{2\nu_1\kappa_1}; \text{ et}$$

$$f') \quad k_1 \geq 0,15.$$

où :

$$10 \quad - \quad \delta_1 = \frac{2\pi n_0}{\lambda} e_1;$$

$$- \quad \nu_1 = \frac{n_1}{\sqrt{n_0 n_3}} ;$$

$$- \quad \kappa_1 = \frac{k_1}{\sqrt{n_0 n_3}} ; \text{ et}$$

$$- \quad K = \left\{ \left[\pi / (n_0/n_3 - 1) \right] \sqrt{n_0/n_3} \right\}^{-1}.$$

15 14. Procédé d'observation d'un échantillon comportant les étapes suivantes :

A. Disposer ledit échantillon sur une couche absorbante (CA) d'épaisseur e_1 présentant un indice de réfraction complexe $N_1 = n_1 - jk_1$, comprise entre un premier milieu transparent, dit incident (MI, SS), ayant un indice de réfraction réel n_0 et un deuxième milieu transparent, dit émergent (ME), ayant
20 un indice de réfraction réel $n_3 < n_0$;

B. éclairer ledit échantillon en incidence normale au moins à ladite longueur d'onde d'éclairage λ à travers ledit milieu incident ;

25 C. observer l'échantillon ainsi éclairé, également à travers ledit milieu incident ;

dans lequel ladite couche absorbante présente un indice de réfraction complexe et une épaisseur tels que :

$$d) \quad \nu_1^2 = 1 + \kappa_1^2 ;$$

$$e) \quad \delta_1 = \frac{(n_0/n_3-1)}{2\nu_1\kappa_1} \left[1 - e^{-\frac{\kappa_1}{K}} \right] \quad ; \text{ et}$$

f) $\kappa_1 \geq 0,001$, et de préférence $\kappa_1 \geq 0,01$, et de manière encore préférée $\kappa_1 \geq 0,1$

où :

$$5 \quad - \quad \delta_1 = \frac{2\pi n_0}{\lambda} e_1;$$

$$- \quad \nu_1 = \frac{n_1}{\sqrt{n_0 n_3}} ;$$

$$- \quad \kappa_1 = \frac{\kappa_1}{\sqrt{n_0 n_3}} ; \text{ et}$$

$$- \quad K = \left\{ \left[\pi / (n_0 / n_3 - 1) \right] \sqrt{n_0 / n_3} \right\}^{-1}$$

avec une tolérance inférieure ou égale à 5%, et de préférence inférieure ou égale à 0,3%, pour n_0 , n_1 et κ_1 et avec une tolérance inférieure ou égale à 30% et de préférence inférieure ou égale à 5% pour e_1 .

15 15. Procédé selon la revendication 14 dans lequel ladite étape A est mise en œuvre au moyen d'un support amplificateur de contraste (SAC) selon l'une des revendications 1 à 9, dont le substrat constitue ledit milieu incident.

20 16. Procédé selon l'une des revendications 14 ou 15 dans lequel ledit échantillon est éclairé au moins à ladite longueur d'onde d'éclairage λ par un faisceau (FL) de lumière parallèle ou focalisé de manière à former un cône d'éclairage présentant un demi-angle d'ouverture inférieure ou égale à 20°.

25 17. Procédé selon la revendication 15 dans lequel ledit échantillon est éclairé au moins à ladite longueur d'onde d'éclairage λ par un faisceau laser focalisé.

18. Procédé de détection ou dosage d'au moins une espèce chimique ou biologique comportant les étapes suivantes :

I. procurer un support amplificateur de contraste (SAC) selon la revendication 8, comprenant une couche ou surface fonctionnalisée (CF), susceptible de fixer au moins une espèce chimique ou biologique ;

5 II. placer ladite couche ou surface fonctionnalisée en contact avec au moins une solution (S0, S0', S1, S1', S2) contenant une espèce chimique ou biologique marquée par des nanoparticules métalliques (NPM) ou un marqueur absorbant ou diffusant, ladite espèce étant susceptible de se fixer sur ladite couche ou surface fonctionnalisée, soit directement, soit par l'intermédiaire d'une ou plusieurs autres espèces chimiques ou biologiques,
10 moyennant quoi lesdites particules forment une couche métallique, absorbante ou diffusante continue ou discontinue ;

III. éclairer ledit support amplificateur de contraste en incidence normale au moins à ladite longueur d'onde d'éclairage λ à travers ledit substrat ;

15 IV. observer ledit support amplificateur de contraste ainsi éclairé, également à travers ledit substrat.

19. Procédé de détection ou dosage d'au moins une espèce chimique ou biologique comportant les étapes suivantes :

20 I. procurer un substrat transparent (SS) portant une couche ou surface fonctionnalisée (CF), susceptible de fixer au moins une espèce chimique ou biologique ;

II. placer ladite couche ou surface fonctionnalisée en contact avec au moins une solution (S0, S0', S1, S1', S2) contenant une espèce
25 chimique ou biologique marquée par des nanoparticules métalliques (NPM) ou un marqueur absorbant ou diffusant, ladite espèce étant susceptible de se fixer sur ladite couche ou surface fonctionnalisée – soit directement, soit par l'intermédiaire d'une ou plusieurs autres espèces chimiques ou biologiques – pour former une couche métallique, absorbante ou diffusante continue ou
30 discontinue, ledit substrat transparent formant, avec ladite couche ou surface fonctionnalisée (CF) et la couche métallique, absorbante ou diffusante ainsi formée, un support amplificateur de contraste selon la revendication 9 ;

III. éclairer ledit support amplificateur de contraste en incidence normale au moins à ladite longueur d'onde d'éclairage λ à travers ledit substrat ;

5 IV. observer ledit support amplificateur de contraste ainsi éclairé, également à travers ledit substrat.

20. Procédé de détection ou dosage d'au moins une espèce chimique ou biologique selon la revendication 19, dans lequel ladite étape II comprend les sous-étapes consistant à :

10 II-1) Placer ladite couche ou surface fonctionnalisée en contact avec une première solution (S1) contenant l'espèce chimique ou biologique à détecter ou doser (ECD), de manière à former une couche dite intermédiaire (CI); et

15 II-2) Placer ladite couche intermédiaire en contact avec une deuxième solution (S2), contenant une espèce chimique ou biologique dite auxiliaire (ECA), marquée par des nanoparticules métalliques ou un marqueur absorbant ou diffusant et susceptible de se fixer sur ladite couche intermédiaire pour former ladite couche métallique, absorbante ou diffusante continue ou discontinue.

20 21. Procédé de détection ou dosage d'au moins une espèce chimique ou biologique selon la revendication 19, dans lequel ladite étape II comprend les sous-étapes consistant à :

25 II-1') Placer ladite couche ou surface fonctionnalisée en contact avec une première solution (S1') contenant une espèce chimique ou biologique, dite espèce intermédiaire (ECI), marquée par des nanoparticules métalliques ou un marqueur absorbant ou diffusant et susceptible de se fixer sur ladite couche de fonctionnalisation pour former ladite couche métallique, absorbante ou diffusante continue ou discontinue ; et

30 II-2') Placer ladite couche ou surface fonctionnalisée et ladite couche métallique, absorbante ou diffusante en contact avec une deuxième solution (S2) contenant ladite espèce chimique ou biologique à détecter ou doser, laquelle présente une affinité avec ladite couche ou surface

fonctionnalisée supérieure à celle de ladite espèce intermédiaire, moyennant quoi ladite espèce intermédiaire est déplacée et ladite couche métallique, absorbante ou diffusante est supprimée au moins en partie.

5 22. Procédé de dosage d'au moins une espèce chimique ou biologique selon la revendication 19, dans lequel, lors de ladite étape II, on place ladite couche ou surface fonctionnalisée en contact avec une solution (S0') contenant l'espèce chimique ou biologique à doser (ECD), ainsi que ladite espèce chimique ou biologique concurrente (ECC), l'une des deux espèces
10 étant marquée par des nanoparticules métalliques ou un marqueur absorbant ou diffusant, moyennant quoi on obtient une couche métallique, absorbante ou diffusante continue ou discontinue dont l'épaisseur effective dépend du rapport entre la concentration de ladite espèce chimique ou biologique concurrente et celle de la dite espèce chimique ou biologique à doser.

15

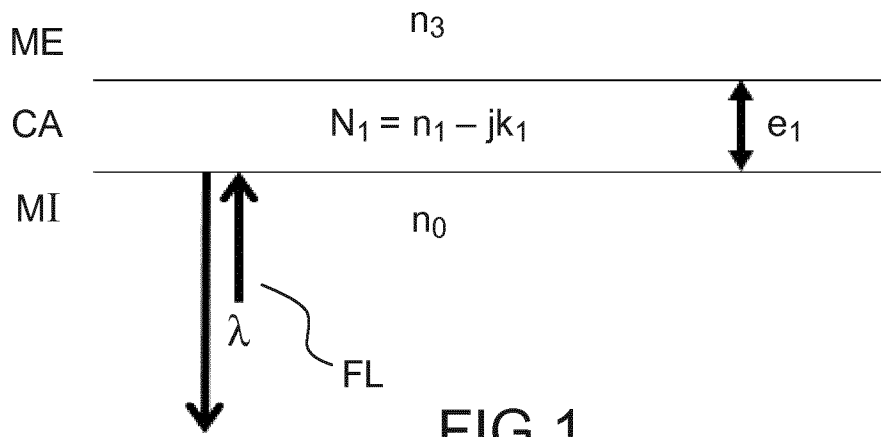


FIG.1

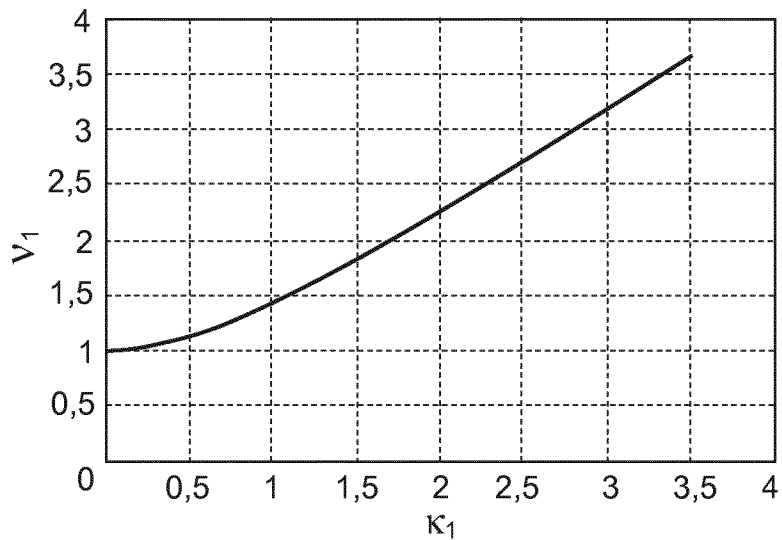


FIG.2A

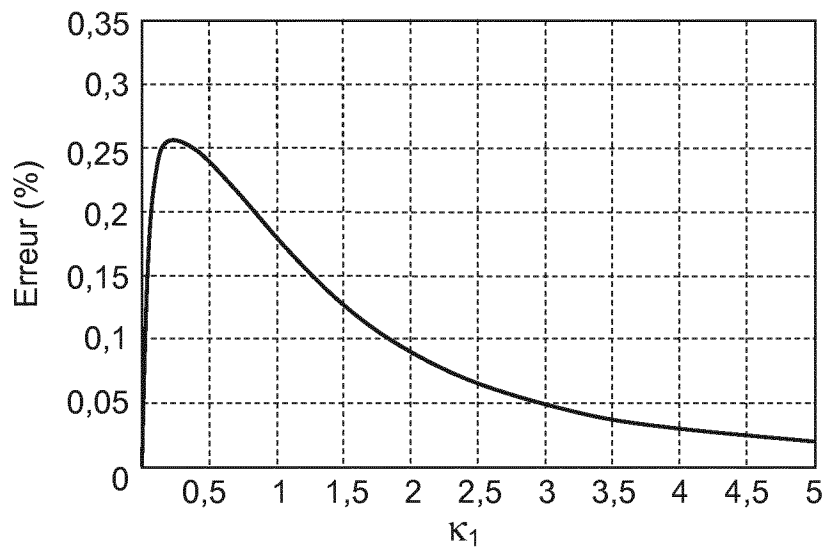


FIG.2B

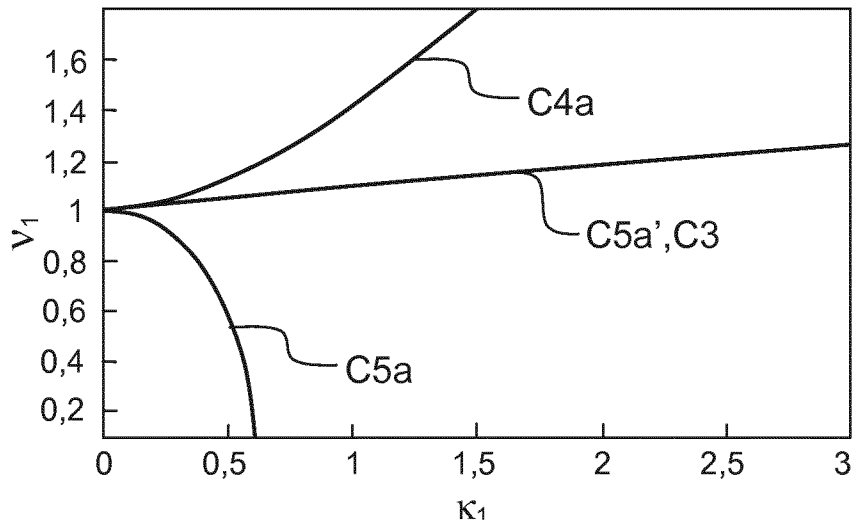


FIG.2C

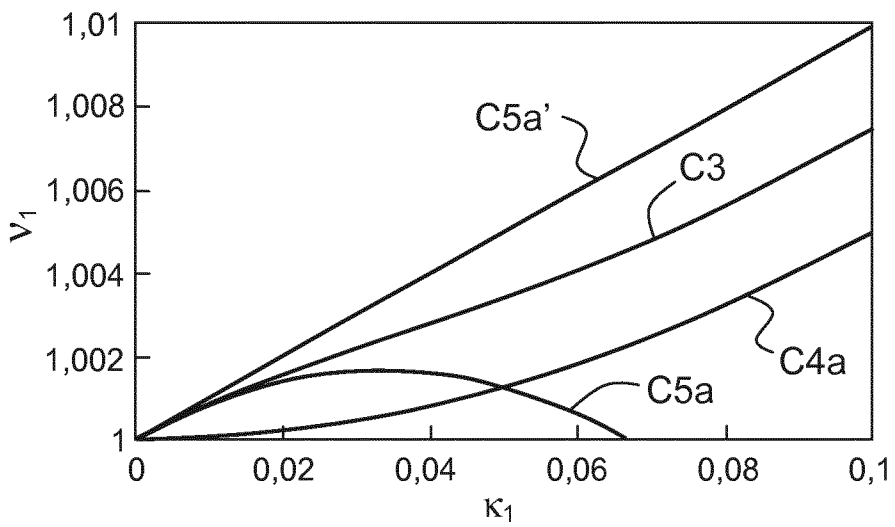


FIG.2D

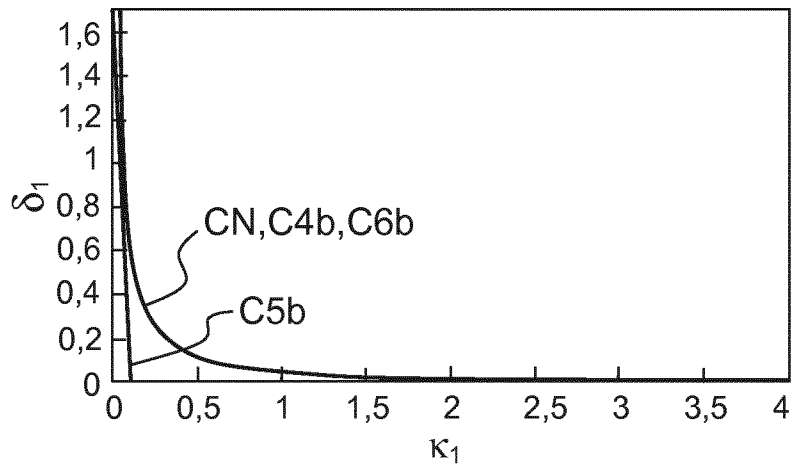


FIG.3A

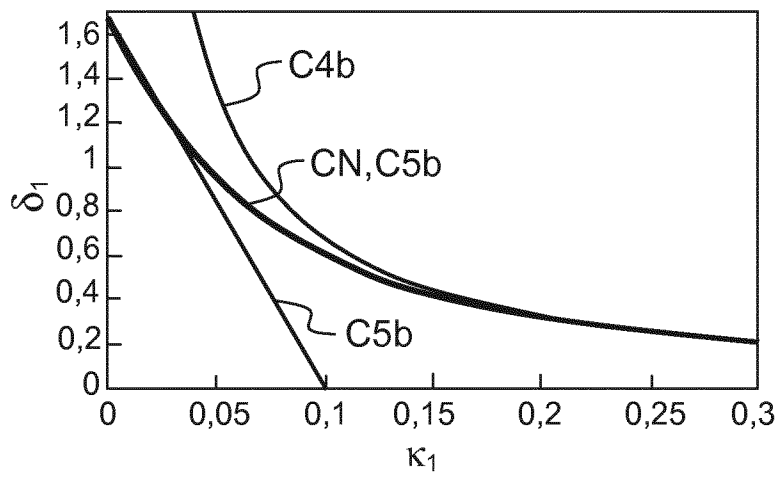


FIG.3B

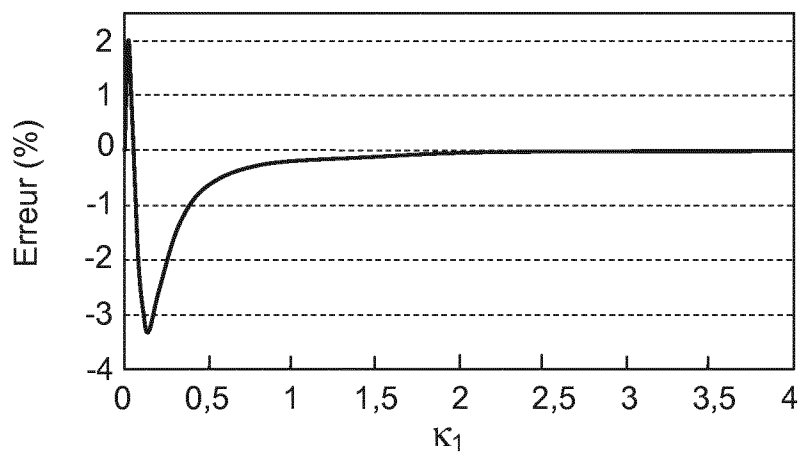


FIG.3C

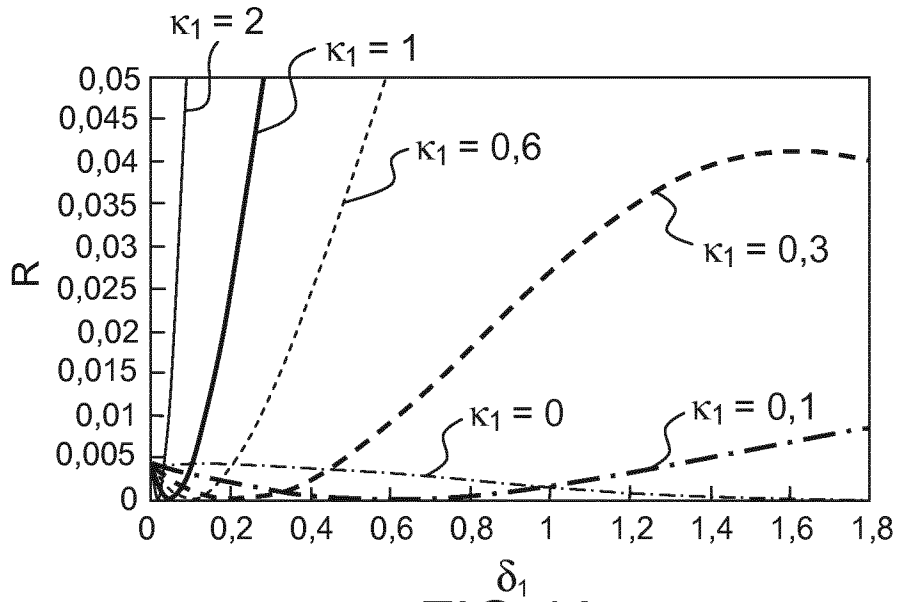


FIG.4A

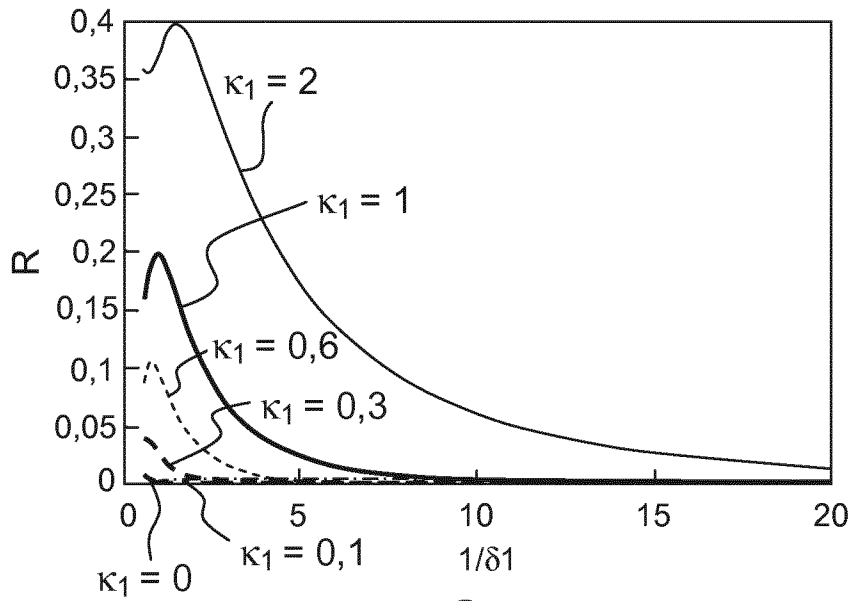


FIG.4B

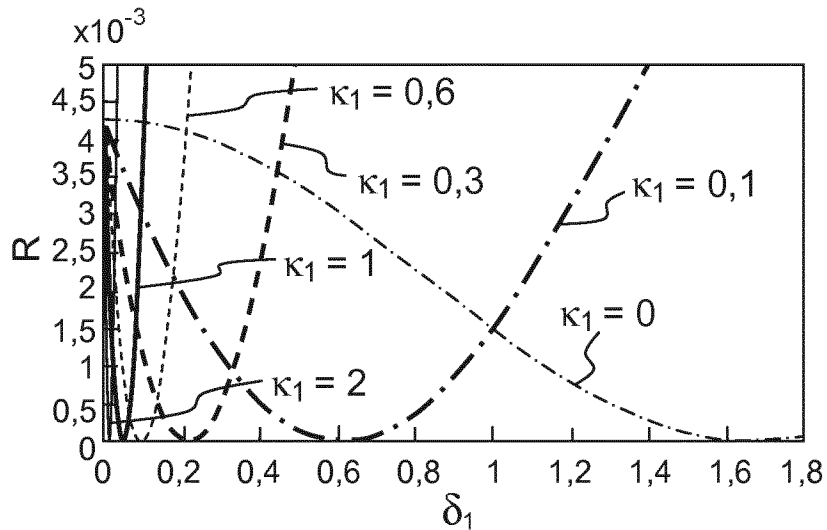


FIG.4C

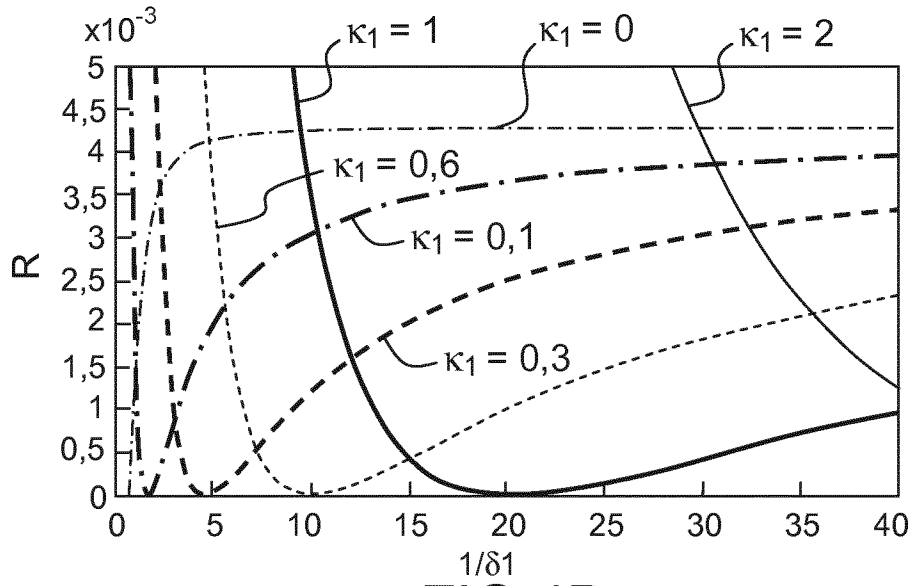


FIG.4D

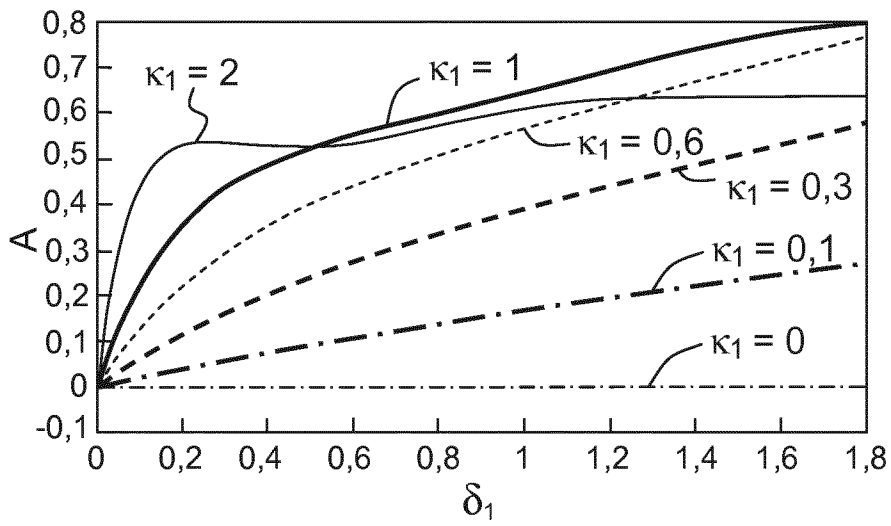


FIG.4E

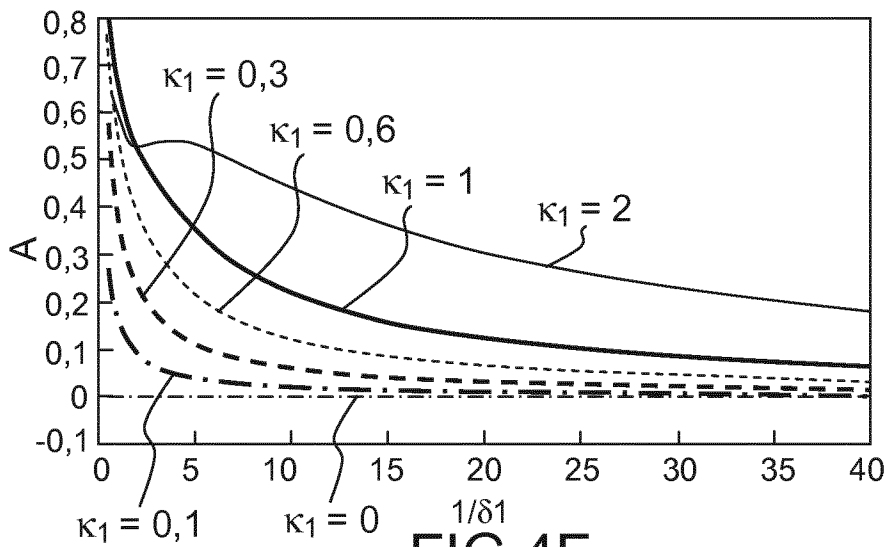


FIG.4F

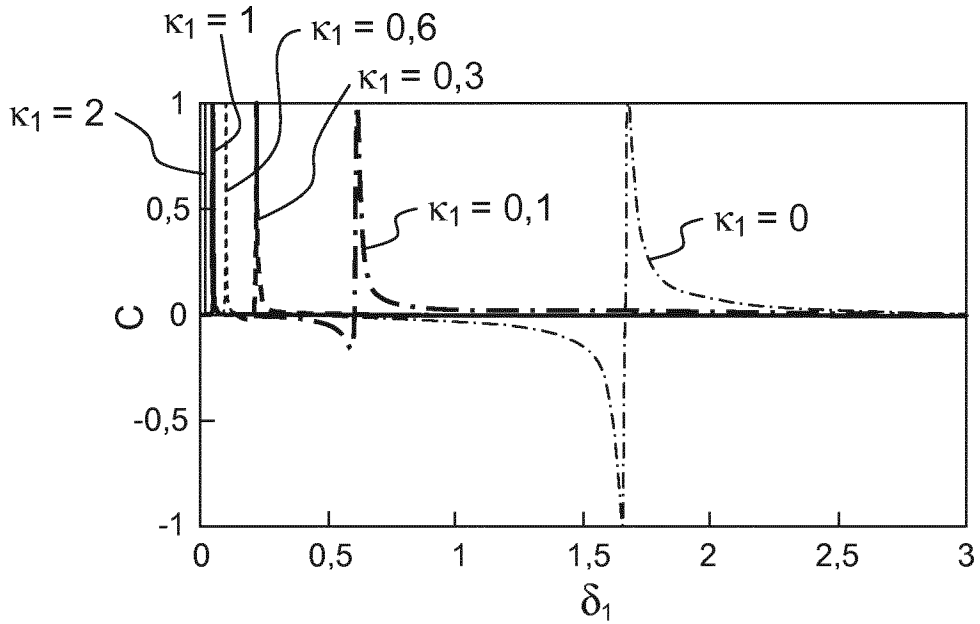


FIG.5A

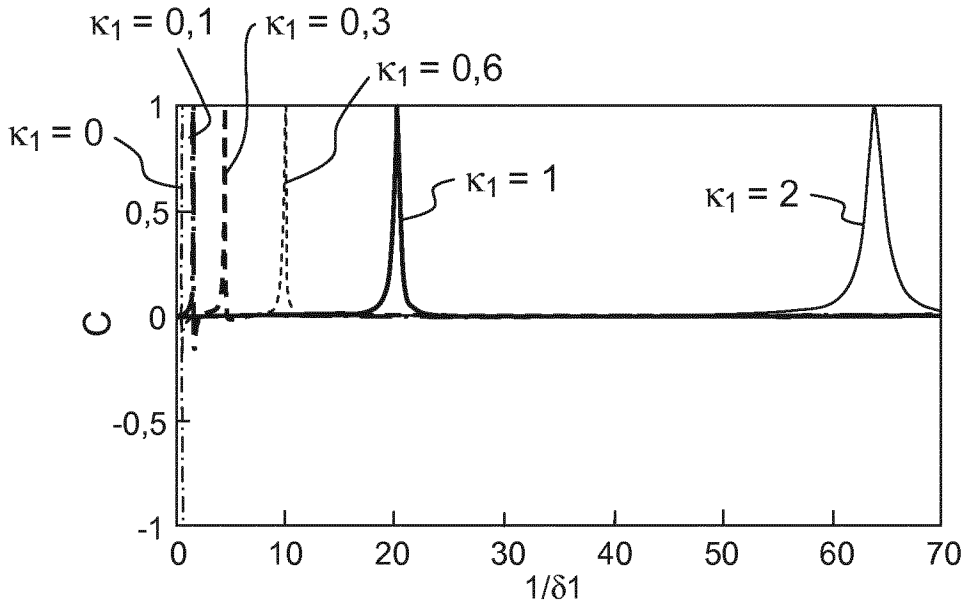


FIG.5B

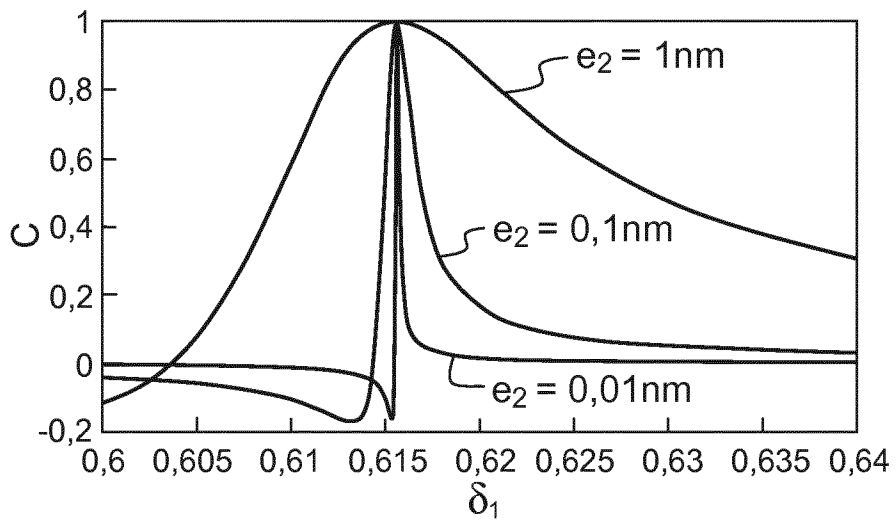


FIG.5C

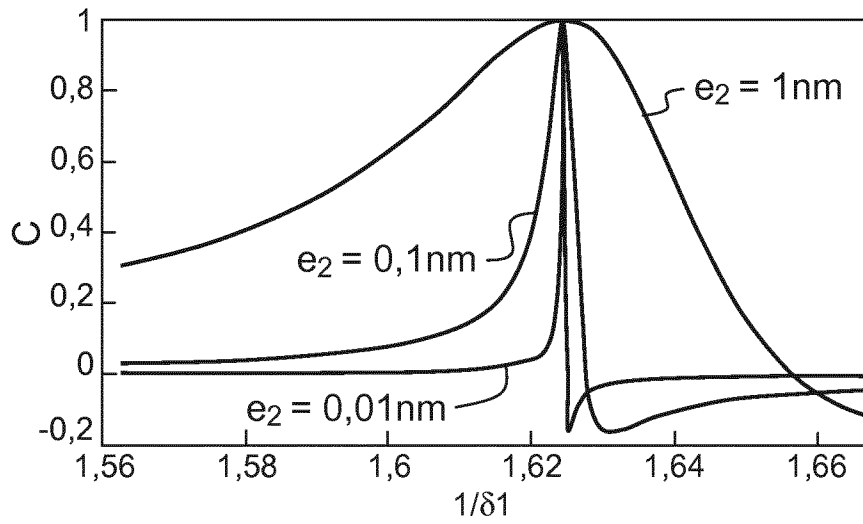


FIG.5D

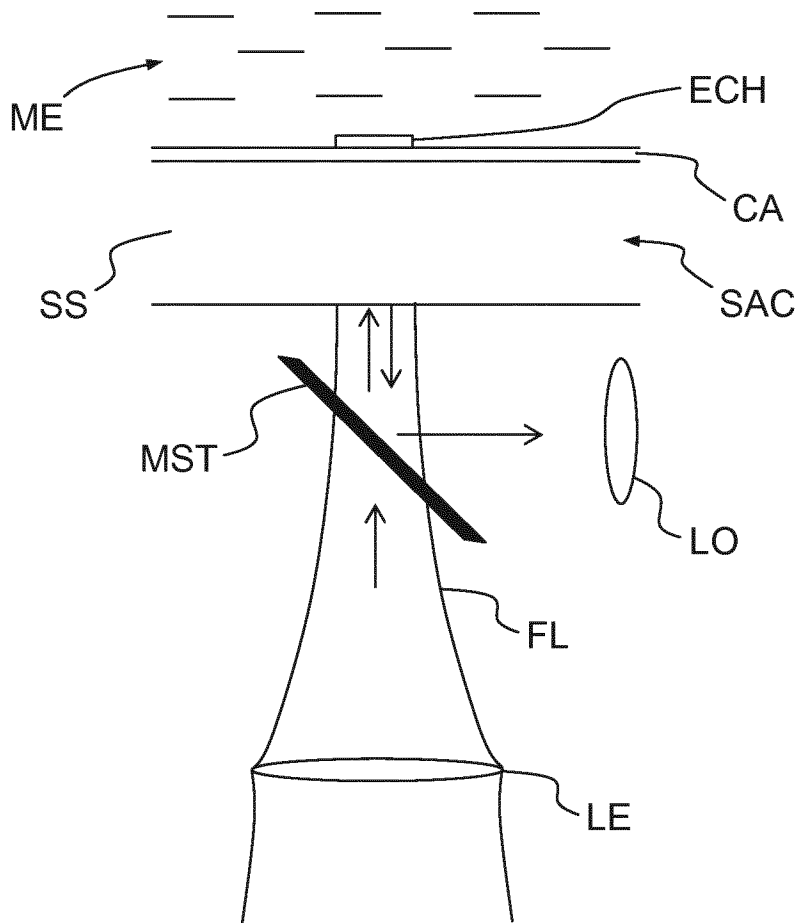


FIG.6

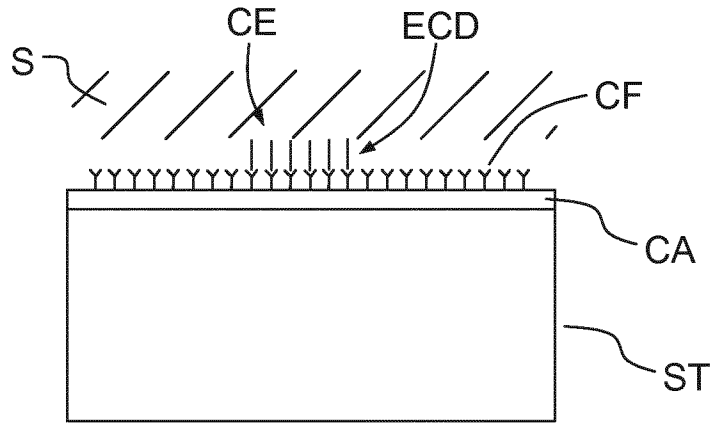


FIG.7A

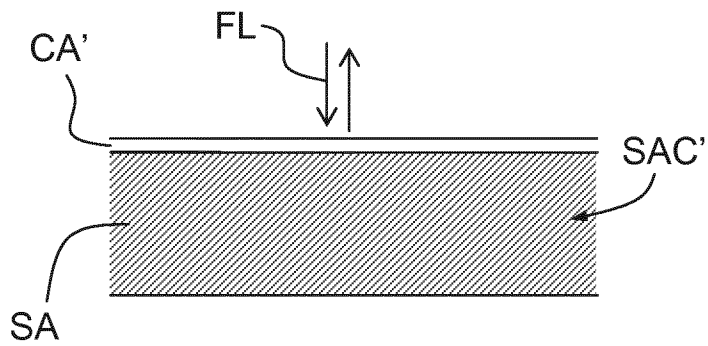
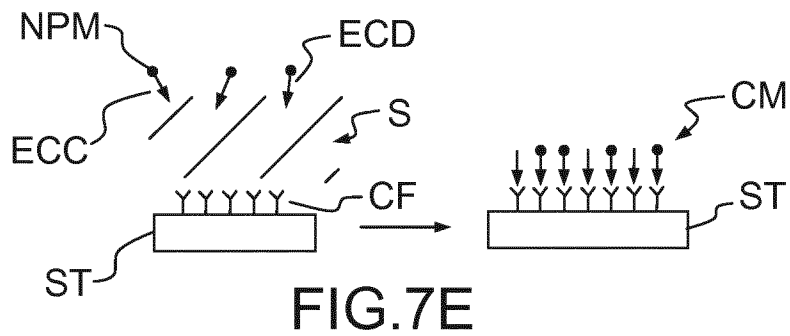
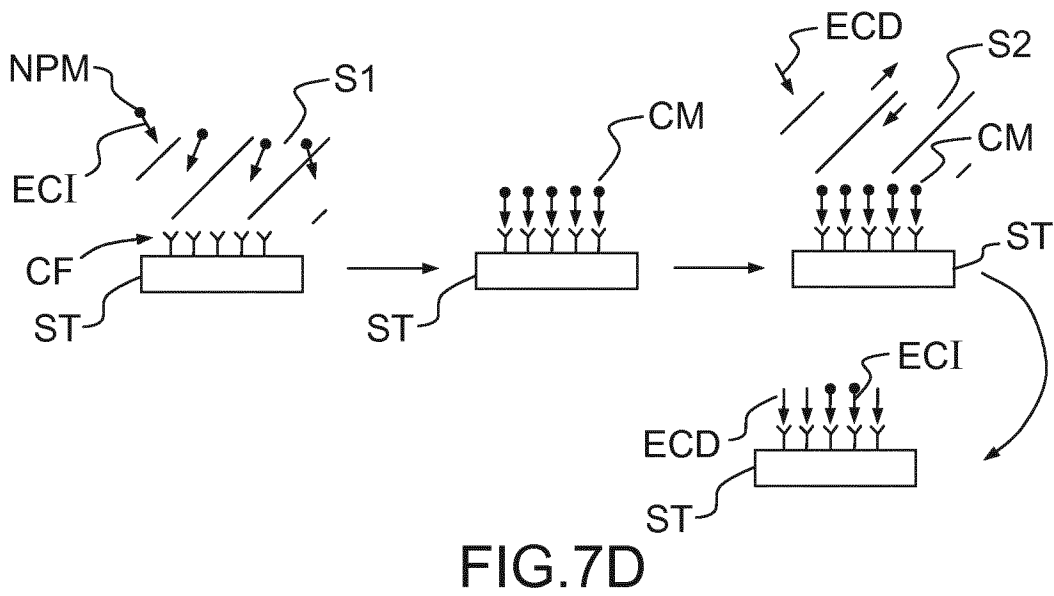
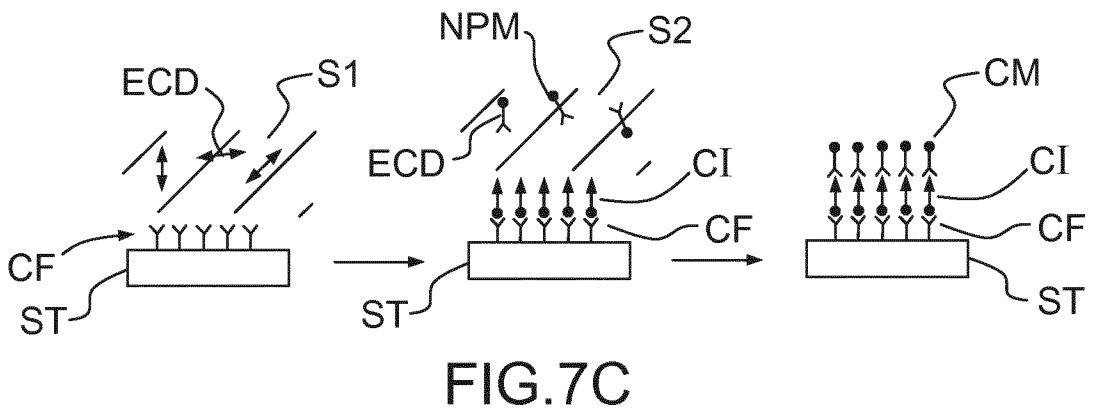
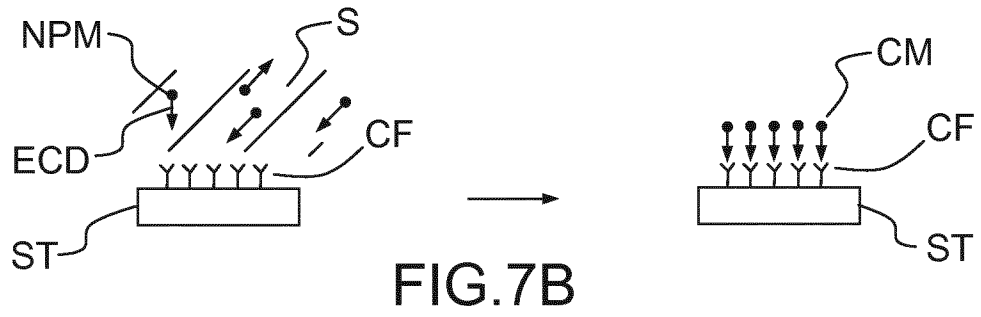


FIG.8



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2014/072307

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
INV. G01N21/45 G01N33/50 G02B1/11
ADD.
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
G01N G02B
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
EPO-Internal, WPI Data, COMPENDEX, INSPEC

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US 5 812 405 A (MEREDITH JR WILLIAM A [US]) 22 September 1998 (1998-09-22) column 3, line 15 - line 26 figures 1,2 claim 1 -----	1-7, 10-13
A	WO 2006/013287 A1 (NANORAPTOR [FR]; AUSSERRE DOMINIQUE [FR]) 9 February 2006 (2006-02-09) paragraphs [0054], [0055], [0154] -----	1-7, 11-13
A,P	WO 2014/016813 A1 (CENTRE NAT RECH SCIENT [FR]; UNIV MAINE [FR]; UNIV AIX MARSEILLE [FR]) 30 January 2014 (2014-01-30) the whole document -----	1-7, 11-13

Further documents are listed in the continuation of Box C.

See patent family annex.

* Special categories of cited documents :

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date	"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	"&" document member of the same patent family
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	

Date of the actual completion of the international search 13 January 2015	Date of mailing of the international search report 23/03/2015
--	--

Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016	Authorized officer Girardin, François
--	--

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/EP2014/072307

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

- 1. Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

- 2. Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

- 3. Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

see extra sheet

- 1. As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
- 2. As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
- 3. As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
- 4. No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.: 1-7, 10-13

Remark on Protest

- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- No protest accompanied the payment of additional search fees.

The International Searching Authority has found that the international application contains multiple (groups of) inventions, as follows:

1. Claims 1-7, 10-13

A contrast amplifying carrier, comprising a transparent substrate and a partially absorbent layer forming an antireflection treatment at a given wavelength, the refraction index of the substrate being higher than that of the ambient medium. The antireflection layer is optimised in order to broaden the choice of potential materials.

2. Claims 8, 9, 18-22

A method for detecting or assaying a chemical species, involving the use of a substrate and a layer having a functionalised surface suitable for bonding said species, wherein steps of lighting and viewing through the substrate are carried out.

3. Claims 14-17

A method for viewing a sample placed on a carrier comprising a transparent substrate and a partially absorbent layer, the refraction index of the substrate being higher than that the ambient medium, wherein the absorbent layer, the substrate and the ambient medium meet specific conditions and the sample is viewed and lit through the substrate. Specific lighting conditions are specified.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No PCT/EP2014/072307

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 5812405	A	22-09-1998	NONE	
WO 2006013287	A1	09-02-2006	CN 101031789 A	05-09-2007
			EP 1779092 A1	02-05-2007
			FR 2872910 A1	13-01-2006
			JP 2008506098 A	28-02-2008
			US 2010062422 A1	11-03-2010
			WO 2006013287 A1	09-02-2006
WO 2014016813	A1	30-01-2014	FR 2993987 A1	31-01-2014
			WO 2014016813 A1	30-01-2014

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demande internationale n°

PCT/EP2014/072307

A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE INV. G01N21/45 G01N33/50 G02B1/11 ADD.		
Selon la classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB		
B. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTE		
Documentation minimale consultée (système de classification suivi des symboles de classement) G01N G02B		
Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où ces documents relèvent des domaines sur lesquels a porté la recherche		
Base de données électronique consultée au cours de la recherche internationale (nom de la base de données, et si cela est réalisable, termes de recherche utilisés) EPO-Internal, WPI Data, COMPENDEX, INSPEC		
C. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		
Catégorie*	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
X	US 5 812 405 A (MEREDITH JR WILLIAM A [US]) 22 septembre 1998 (1998-09-22) colonne 3, ligne 15 - ligne 26 figures 1,2 revendication 1 -----	1-7, 10-13
A	WO 2006/013287 A1 (NANORAPTOR [FR]; AUSSERRE DOMINIQUE [FR]) 9 février 2006 (2006-02-09) alinéas [0054], [0055], [0154] -----	1-7, 11-13
A,P	WO 2014/016813 A1 (CENTRE NAT RECH SCIENT [FR]; UNIV MAINE [FR]; UNIV AIX MARSEILLE [FR]) 30 janvier 2014 (2014-01-30) le document en entier -----	1-7, 11-13
<input type="checkbox"/> Voir la suite du cadre C pour la fin de la liste des documents		
<input checked="" type="checkbox"/> Les documents de familles de brevets sont indiqués en annexe		
* Catégories spéciales de documents cités:		
"A" document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent "E" document antérieur, mais publié à la date de dépôt international ou après cette date "L" document pouvant jeter un doute sur une revendication de priorité ou cité pour déterminer la date de publication d'une autre citation ou pour une raison spéciale (telle qu'indiquée) "O" document se référant à une divulgation orale, à un usage, à une exposition ou tous autres moyens "P" document publié avant la date de dépôt international, mais postérieurement à la date de priorité revendiquée	"T" document ultérieur publié après la date de dépôt international ou la date de priorité et n'appartenant pas à l'état de la technique pertinent, mais cité pour comprendre le principe ou la théorie constituant la base de l'invention "X" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive par rapport au document considéré isolément "Y" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier "&" document qui fait partie de la même famille de brevets	
Date à laquelle la recherche internationale a été effectivement achevée 13 janvier 2015		Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale 23/03/2015
Nom et adresse postale de l'administration chargée de la recherche internationale Office Européen des Brevets, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016		Fonctionnaire autorisé Girardin, François

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALEDemande internationale n°
PCT/EP2014/072307**Cadre n° II Observations - lorsqu'il a été estimé que certaines revendications ne pouvaient pas faire l'objet d'une recherche (suite du point 2 de la première feuille)**

Le rapport de recherche internationale n'a pas été établi en ce qui concerne certaines revendications conformément à l'article 17.2)a) pour les raisons suivantes :

1. Les revendications n^{os} se rapportent à un objet à l'égard duquel l'administration chargée de la recherche internationale n'est pas tenue de procéder à la recherche, à savoir :

2. Les revendications n^{os} parce qu'elles se rapportent à des parties de la demande internationale qui ne remplissent pas suffisamment les conditions prescrites pour qu'une recherche significative puisse être effectuée, en particulier :

3. Les revendications n^{os} parce qu'elles sont des revendications dépendantes et ne sont pas rédigées conformément aux dispositions de la deuxième et de la troisième phrases de la règle 6.4.a).

Cadre n° III Observations - lorsqu'il y a absence d'unité de l'invention (suite du point 3 de la première feuille)

L'administration chargée de la recherche internationale a trouvé plusieurs inventions dans la demande internationale, à savoir:

voir feuille supplémentaire

1. Comme toutes les taxes additionnelles exigées ont été payées dans les délais par le déposant, le présent rapport de recherche internationale porte sur toutes les revendications pouvant faire l'objet d'une recherche.

2. Comme toutes les revendications qui se prêtent à la recherche ont pu faire l'objet de cette recherche sans effort particulier justifiant des taxes additionnelles, l'administration chargée de la recherche internationale n'a sollicité le paiement d'aucunes taxes de cette nature.

3. Comme une partie seulement des taxes additionnelles demandées a été payée dans les délais par le déposant, le présent rapport de recherche internationale ne porte que sur les revendications pour lesquelles les taxes ont été payées, à savoir les revendications n^{os}:

4. Aucune taxes additionnelles demandées n'ont été payées dans les délais par le déposant. En conséquence, le présent rapport de recherche internationale ne porte que sur l'invention mentionnée en premier lieu dans les revendications; elle est couverte par les revendications n^{os}:
1-7, 10-13

- Remarque quant à la réserve**
- Les taxes additionnelles étaient accompagnées d'une réserve de la part du déposant et, le cas échéant, du paiement de la taxe de réserve.
- Les taxes additionnelles étaient accompagnées d'une réserve de la part du déposant mais la taxe de réserve n'a pas été payée dans le délai prescrit dans l'invitation.
- Le paiement des taxes additionnelles n'était assorti d'aucune réserve.

SUITE DES RENSEIGNEMENTS INDIQUES SUR PCT/ISA/ 210

L'administration chargée de la recherche internationale a trouvé plusieurs (groupes d') inventions dans la demande internationale, à savoir:

1. revendications: 1-7, 10-13

Support amplificateur de contraste comprenant un substrat transparent et une couche partiellement absorbante formant un traitement antireflet à une longueur d'onde donnée l'indice de réfraction du substrat étant supérieur à celui du milieu ambiant. La couche antireflet est optimisée de manière à élargir le choix possible des matériaux.

2. revendications: 8, 9, 18-22

Procédé de détection ou dosage d'une espèce chimique impliquant un substrat et une couche ayant une surface fonctionnalisée susceptible de fixer ladite espèce, dans lequel un éclairage et une observation à travers le substrat sont utilisés.

3. revendications: 14-17

Procédé d'observation d'un échantillon placé sur un support comprenant un substrat transparent et une couche partiellement absorbante, l'indice de réfraction du substrat étant supérieur à celui du milieu ambiant, dans lequel la couche absorbante, le substrat et le milieu ambiant remplissent des conditions particulières et dans lequel l'échantillon est observé et éclairé à travers le substrat. Des conditions d'éclairage particulières étant spécifiées.

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Renseignements relatifs aux membres de familles de brevets

Demande internationale n°

PCT/EP2014/072307

Document brevet cité au rapport de recherche		Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
US 5812405	A	22-09-1998	AUCUN	

WO 2006013287	A1	09-02-2006	CN 101031789 A	05-09-2007
			EP 1779092 A1	02-05-2007
			FR 2872910 A1	13-01-2006
			JP 2008506098 A	28-02-2008
			US 2010062422 A1	11-03-2010
			WO 2006013287 A1	09-02-2006

WO 2014016813	A1	30-01-2014	FR 2993987 A1	31-01-2014
			WO 2014016813 A1	30-01-2014
