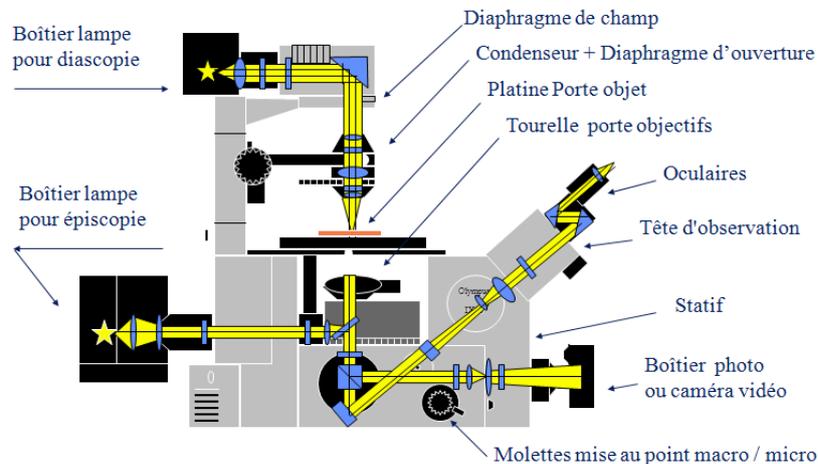




PROCEDURE DE REGLAGE MICROSCOPE INVERSE

TRAJET OPTIQUE DANS UN MICROSCOPE INVERSE



Réglages tête d'observation :

- ✓ **Ecartement inter pupillaire** : régler l'écartement des 2 oculaires jusqu'à superposer les 2 images. Le repère (55 à 75) indique la distance inter pupillaire en mm. Pour un écartement linéaire, reporter ce chiffre sur les portes oculaires gradués.
 - ✓ **Correction dioptrique** : Ajuster la mise au point avec l'œil droit dans l'oculaire droit. Observer avec l'œil gauche dans l'oculaire gauche. Corriger la bague porte oculaire jusqu'à la mise au point de l'image identique à droite et à gauche. ① A défaut, les 2 bagues doivent être sur le même plan, en position intermédiaire (repère médian).
 - ✓ **Sortie trinoculaire** : certaines têtes sont équipées d'une sortie pour photo ou vidéo. Une tirette renvoie l'image vers les oculaires ou vers la caméra.
 - ✓ **Oculaires** : ils doivent être appariés. Certains sont équipés d'une correction dioptrique, de bonnettes et de réticules gradués (échelles x, x-y, quadrillages...).
- L'oculaire est défini par son grossissement (ex. 10x) et son indice de champ en mm (de 18 à 26).

Le diamètre observé correspond au rapport : Indice de champ / grossissement objectif > ex. 22mm/10x = \varnothing 2.2mm

Objectifs :

- ✓ Les objectifs sont définis par leur grossissement (de 1x à 150x), leur qualité (correction d'aberration géométrique ou chromatique), leur ouverture numérique (0.1 à 1.4), à sec ou immersion d'huile (amélioration de la résolution).
- ✓ 2 conceptions : - optiques à 160mm (convergence sortie objectif, plan image à 160mm des oculaires).
- optiques à l'infini (faisceau parallèle et convergence au niveau de la tête) : objectifs modernes.
- ✓ Manipuler les objectifs par le bord cranté de la tourelle (et non pas par les objectifs), du plus faible au plus fort grossissement. ① Attention à ne pas accrocher la lentille de l'objectif sous la platine.

Grossissement total = Grossissement oculaires x grossissement objectifs > Ex. [10x] x [40x] = 400 fois.

Platine porte objet :

Platine à déplacement X-Y avec les molettes (la souplesse du mouvement doit être identique, sans jeu).
La lame placée à l'envers dans le porte échantillon doit se mouvoir sans à-coup ni frottement anormal.

Mise au point :

- ✓ Mise au point macrométrique : grosse molette pour une approche rapide.
- ✓ Mise au point micrométrique : petite molette pour une approche fine (graduation en microns).
- ✓ Certains systèmes sont équipés de butée haute et de frein de serrage de la molette macrométrique.

Eclairage :

① Vérifier que le potentiomètre soit au minimum avant allumage du bouton marche/arrêt.
Baisser le potentiomètre en fin d'utilisation. Lors du remplacement de lampe, respecter sa tension et sa puissance.

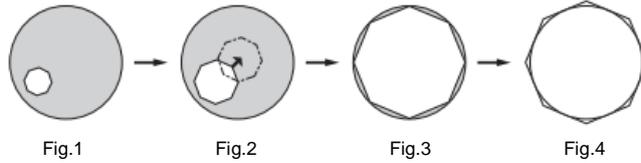
Condenseur :



CLAUDE GONON MICROSCOPIE

Le condenseur permet la transmission de la lumière dans l'objectif et doit être parfaitement réglé.

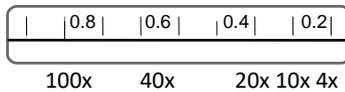
- ✓ **Diaphragme de champ** : (généralement à la base du microscope) permet le réglage de Köhler.



- Placer un échantillon, effectuer la mise au point au grossissement 10x.
- Fermer le diaphragme de champ.
- Monter le condenseur (molette latérale) jusqu'à l'apparition de la netteté des bords du diaphragme (fig. 1)
- Centrer le condenseur en agissant sur les 2 molettes en V devant le condenseur (fig. 2)
- Ouvrir et ajuster le diaphragme de champ tangent au bord externe et affiner le centrage (fig. 3)
- Ouvrir le diaphragme de champ pour que les bords disparaissent complètement (fig.4).

- ✓ **Diaphragme d'ouverture** : (situé dans le condenseur)

Ce diaphragme améliore le contraste de l'image et la profondeur de champ. Trop fermé, l'image se dégrade.



Bague de diaphragme (graduée de 0.1 à 1.1)

Position du diaphragme selon grossissement

- **Méthode théorique** : régler le diaphragme à 80% de l'ouverture numérique de l'objectif utilisé : $D = 0.80 \times O.N$
 - **Méthode empirique** : fermer progressivement le diaphragme jusqu'au point sensible du changement de contraste.
- Contrôle visuel : en retirant un oculaire de son logement, les bords du diaphragme d'ouverture rentrent de 20%.
- ① Réajuster l'intensité lumineuse si nécessaire lors du réglage du diaphragme.

Méthodes d'observation :

- ✓ **Fond clair** : C'est la méthode couramment utilisée : l'éclairage illumine l'échantillon par transmission ou diascopie.
- ① Un filtre bleu (lumière du jour) permet une restitution des couleurs naturelles pour les lampes halogènes.

- ✓ **Contraste de phase et fond noir** :

- L'observation de cellules claires sur un fond clair étant difficile, le contraste de phase permet de distinguer leur contour sur un fond gris. Il est constitué d'un anneau noir "a" gravé dans chaque objectif que l'on superpose à un anneau lumineux "b" de même taille situé dans le condenseur.

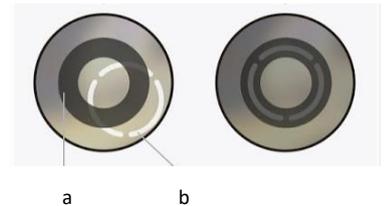
Les anneaux doivent être parfaitement alignés pour que la lumière soit déphasée.

- Sélectionner la bague de phase correspondant à l'objectif (Ph.1, 2, 3 ou 10, 20, 40)

- Pour contrôler le centrage, retirer un oculaire et utiliser une loupe de centrage.

Aligner l'anneau de phase de lumière "b" avec l'anneau noir "a".

Contraste de phase aligné après réglage des molettes de centrage.



- Le fond noir possède un anneau plus large qui donne ce fond noir et inverse le contraste.

- ✓ **Fluorescence** :

La fluorescence permet d'observer des cellules qui fluorescent, non visibles avec l'éclairage halogène en fond clair.

Un boîtier lampe à vapeur de mercure sur l'épi-illuminateur propose un large spectre de lumière.

Des cubes sélectifs permettent l'observation de l'infrarouge à l'ultraviolet. Un filtre d'arrêt protège les yeux.

L'éclairage illumine l'échantillon par réflexion ou épiscopie (Epi-fluorescence).

- ✓ **Conseils de bon usage** :

- Vérifier ces réglages régulièrement.
- Couvrir le microscope avec sa housse en fin de journée (après refroidissement de la lampe).
- Nettoyer les objectifs à immersion d'huile après utilisation (alcool & papier optique).
- Nettoyer régulièrement les optiques avec une lingette imbibée et le microscope avec du papier imbibé d'alcool.

① voir fiche annexe @1 : *Nettoyage des optiques de microscopes : Procédure.*

① voir fiche annexe @2 : *Nettoyage des optiques. Recherche et localisation des taches.*