

1. Introduction

L'instrumentation biotechnologique désigne les outils et les machines utilisés en biotechnologie pour analyser, manipuler et comprendre les systèmes biologiques. Ces instruments jouent un rôle crucial dans la recherche et le développement dans des secteurs tels que la médecine, l'agriculture et les sciences environnementales. Les équipements essentiels comprennent les spectrophotomètres, les centrifugeuses et les machines PCR, qui contribuent chacun aux progrès de l'ingénierie génétique, de la découverte de médicaments et de l'analyse des données biologiques.

2. Définition d'instrumentation biotechnologique :

C'est un outil et dispositifs utilisés en biotechnologie pour analyser et manipuler des matériaux biologiques.

I. INSTRUMENTS DE MICROSCOPIE

1. Le microscope optique

Les microscopes optiques utilisent la lumière pour visualiser les images. Cette catégorie comprend plusieurs types d'instruments, notamment :

- Les microscopes à champ clair
- les microscopes à champ sombre
- les microscopes à contraste de phase
- les microscopes à contraste interférentiel différentiel,
- les microscopes à fluorescence,
- les microscopes confocaux à balayage laser,
- les microscopes à deux photons.
- Les microscopes stéréoscopiques

1.1. Microscopes à champ clair

Le microscope à champ clair, qui est le type de microscope le plus couramment utilisé, est un microscope composé de deux lentilles ou plus qui produisent une image sombre sur un fond clair. Certains microscopes à champ clair sont monoculaires (ils ont un seul oculaire), mais la plupart des microscopes à champ clair récents sont binoculaires (ils ont deux oculaires) ; dans les deux cas, chaque oculaire contient une lentille appelée lentille oculaire. Les lentilles oculaires grossissent généralement les images 10 fois (10×). À l'autre extrémité du tube se

Chapitre 1 : Instrument de microscopie

trouve un ensemble de lentilles objectives sur un nez rotatif. Le grossissement de ces lentilles objectives varie généralement de $4\times$ à $100\times$, le grossissement de chaque lentille étant indiqué sur le boîtier métallique de l'objectif. Les lentilles oculaires et objectives fonctionnent ensemble pour créer une image agrandie.

Le grossissement total est le produit du grossissement oculaire par le grossissement objectif : grossissement oculaire $\times$ grossissement objectif. Par exemple, si une lentille objective $40\times$ est sélectionnée et que la lentille oculaire est $10\times$, le grossissement total sera : $(40\times) (10\times) = 400$.

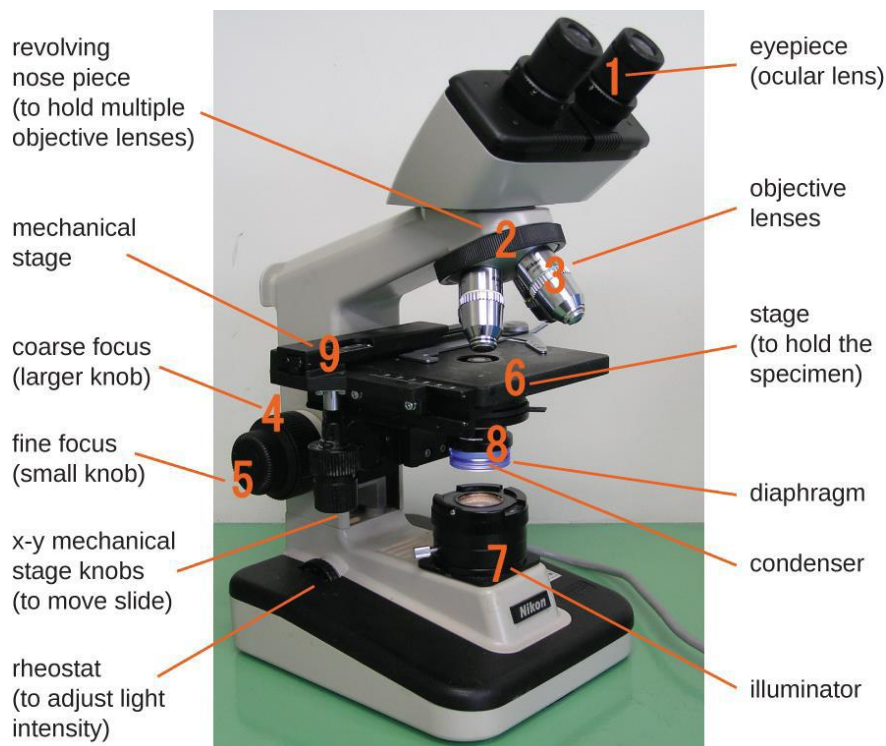


Fig 1: Components of a typical brightfield microscope.
https://ecampusontario.pressbooks.pub/app/uploads/sites/159/2018/07/OSC_Microbio_02_03_Brightfiel.jpg

A. Application de la microscopie

L'échantillon est placé sur une lame de verre, qui est ensuite fixée sur la platine (une plateforme) du microscope. Une fois la lame fixée, les boutons mécaniques x-y de la platine permettent de déplacer la lame sur la surface de la platine, mais sans la soulever ni l'abaisser. Une fois l'échantillon centré sur la lumière, la position de la platine peut être relevée ou abaissée pour faire la mise au point de l'image. Le bouton de mise au point grossière est utilisé pour les mouvements à grande échelle avec des objectifs $4\times$ et $10\times$; le bouton de mise au point fine est utilisé pour les mouvements à petite échelle, en particulier avec des objectifs $40\times$ ou $100\times$.

Lorsque les images sont agrandies, elles deviennent plus sombres car il y a moins de lumière par unité de surface de l'image. Les images fortement agrandies produites par les microscopes nécessitent donc un éclairage intense. Dans un microscope à champ clair, cette lumière est fournie par un illuminateur, qui est généralement une ampoule à haute intensité située sous la platine. La lumière provenant de l'illuminateur passe à travers la lentille du condenseur (située sous la platine), qui focalise tous les rayons lumineux sur l'échantillon afin de maximiser l'éclairage. La position du condenseur peut être optimisée à l'aide du bouton de mise au point du condenseur ; une fois la distance optimale établie, le condenseur ne doit pas être déplacé pour régler la luminosité. Si des niveaux de lumière inférieurs au maximum sont nécessaires, la quantité de lumière frappant l'échantillon peut être facilement ajustée en ouvrant ou en fermant un diaphragme situé entre le condenseur et l'échantillon. Dans certains cas, la luminosité peut également être réglée à l'aide du rhéostat, un variateur qui contrôle l'intensité de l'éclairage.

Un microscope à champ clair crée une image en dirigeant la lumière provenant de l'illuminateur vers l'échantillon ; cette lumière est transmise, absorbée, réfléchie ou réfractée de manière différentielle par différentes structures. Les différentes couleurs peuvent se comporter différemment lorsqu'elles interagissent avec les chromophores (pigments qui absorbent et réfléchissent des longueurs d'onde particulières de la lumière) dans certaines parties de l'échantillon. Souvent, des chromophores sont ajoutés artificiellement à l'échantillon à l'aide de colorants, qui servent à augmenter le contraste et la résolution. En général, les structures de l'échantillon apparaissent plus sombres, à des degrés divers, que le fond clair, ce qui permet d'obtenir des images d'une netteté maximale à des grossissements pouvant atteindre environ 1 000. Un grossissement supplémentaire permettrait d'obtenir une image plus grande, mais sans augmentation de la résolution. Cela nous permet de voir des objets aussi petits que des bactéries, qui sont visibles à environ 400, mais pas des objets plus petits tels que des virus.

À des grossissements très élevés, la résolution peut être compromise lorsque la lumière traverse la petite quantité d'air entre l'échantillon et la lentille. Cela est dû à la grande différence entre les indices de réfraction de l'air et du verre ; l'air diffuse les rayons lumineux avant qu'ils ne puissent être focalisés par la lentille. Pour résoudre ce problème, une goutte d'huile peut être utilisée pour remplir l'espace entre l'échantillon et une lentille à immersion dans l'huile, une lentille spéciale conçue pour être utilisée avec des huiles d'immersion. Comme l'huile a un indice de réfraction très similaire à celui du verre, elle augmente l'angle maximal auquel la lumière sortant de l'échantillon peut frapper la lentille. Cela augmente la quantité de lumière

collectée et, par conséquent, la résolution de l'image (figure 2). Diverses huiles peuvent être utilisées pour différents types de lumière.

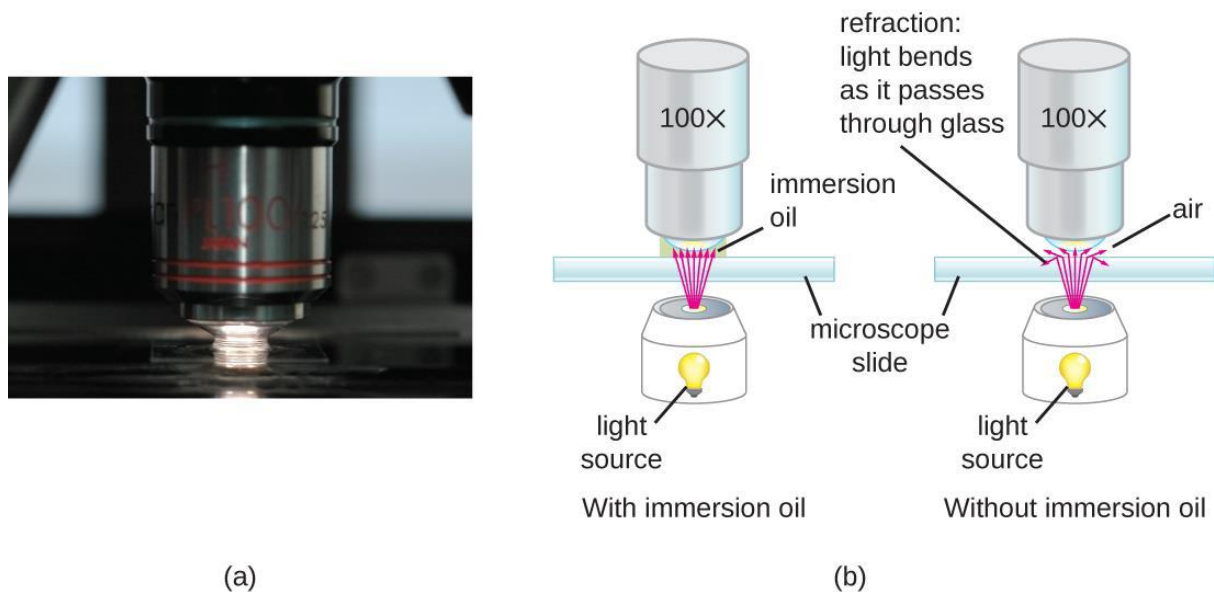


Fig. 2 : (a) Les lentilles à immersion dans l'huile comme celle-ci sont utilisées pour améliorer la résolution. (b) L'huile d'immersion et le verre ayant des indices de réfraction très similaires, la réfraction est minime avant que la lumière n'atteigne la lentille. Sans huile d'immersion, la lumière se disperse lorsqu'elle traverse l'air au-dessus de la lame, ce qui dégrade la résolution de l'image. <https://ecampusontario.pressbooks.pub/microbio/chapter/instruments-of-microscopy/>

1.2. Microscopie en champ sombre

Un microscope en champ sombre est un microscope en champ clair qui présente une modification mineure mais significative au niveau du condenseur. Un petit disque opaque (d'environ 1 cm de diamètre) est placé entre l'illuminateur et la lentille du condenseur. Ce diaphragme opaque, comme on appelle ce disque, bloque la majeure partie de la lumière provenant de l'illuminateur lorsqu'elle traverse le condenseur. Sur son chemin vers la lentille objective, produisant un cône de lumière creux qui est focalisé sur l'échantillon. La seule lumière qui atteint l'objectif est celle qui a été réfractée ou réfléchiée par les structures de l'échantillon. L'image obtenue montre généralement des objets lumineux sur un fond sombre (figure 3).

Chapitre 1 : Instrument de microscopie

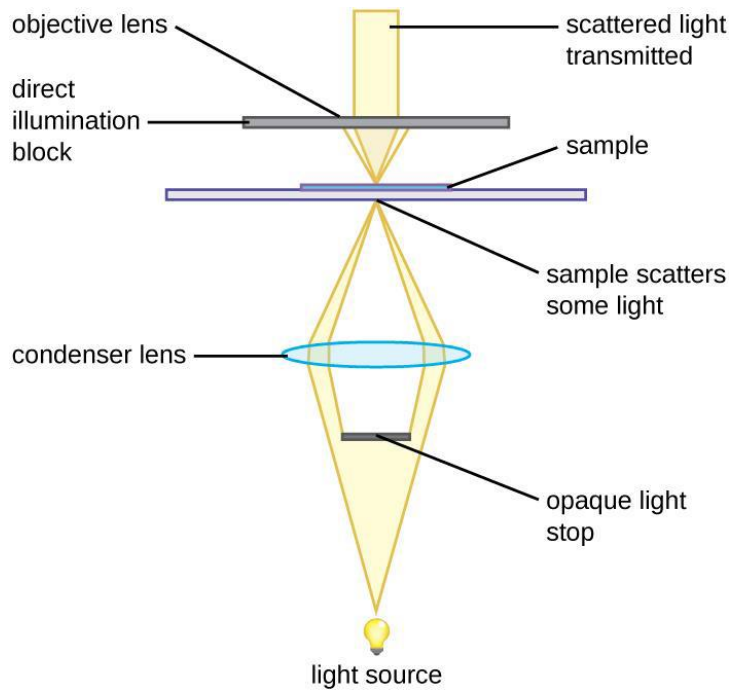


Fig. 3 : Un diaphragme opaque inséré dans un microscope à champ clair est utilisé pour produire une image en champ sombre. Le diaphragme bloque la lumière qui se propage directement de l'illuminateur vers la lentille de l'objectif, ne laissant passer que la lumière réfléchiée ou réfractée par l'échantillon.

https://ecampusontario.pressbooks.pub/app/uploads/sites/159/2018/07/OSC_Microbio_02_03_Darkfield.jpg

Ce champ sombre offre un contraste élevé et permet aux échantillons de se détacher facilement sur des arrière-plans complexes.

Les échantillons présentant un très faible contraste inhérent à la microscopie en champ clair brillent en champ sombre. L'éclairage en champ sombre est particulièrement adapté à l'observation de minuscules organismes aquatiques vivants, de diatomées, de petits insectes, d'os, de fibres, de poils, de bactéries non colorées, de levures, de cellules de culture tissulaire et de protozoaires. (Figure 4)

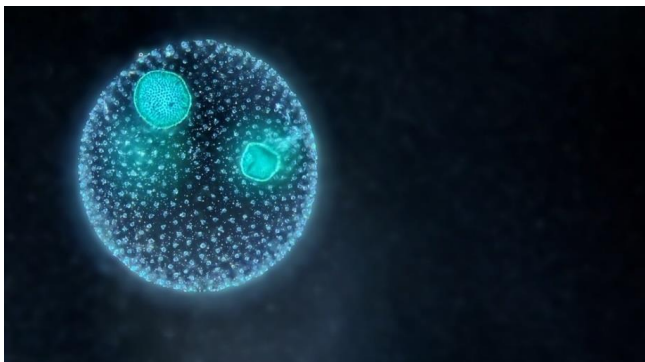


Fig. 4 : Une colonie d'algues planctoniques vertes Volvox sous un microscope à fond noir. Crédit image : D. Kucharski K. Kucharska/Shutterstock.com

1.3. Microscopes à contraste de phase

Les microscopes à contraste de phase utilisent la réfraction et l'interférence causées par les structures d'un échantillon pour créer des images à contraste élevé et haute résolution sans coloration. Il s'agit du type de microscope le plus ancien et le plus simple, qui crée une image en modifiant les longueurs d'onde des rayons lumineux traversant l'échantillon. Pour créer des trajets de longueurs d'onde modifiés, un diaphragme annulaire est utilisé dans le condenseur. Le diaphragme annulaire produit un cône de lumière creux qui est focalisé sur l'échantillon avant d'atteindre la lentille de l'objectif. L'objectif contient une lame de phase comportant un anneau de phase. En conséquence, la lumière provenant directement de l'illuminateur passe à travers l'anneau de phase, tandis que la lumière réfractée ou réfléchie par l'échantillon passe à travers la plaque. Cela fait que les ondes traversant l'anneau sont déphasées d'environ la moitié d'une longueur d'onde par rapport à celles qui traversent la plaque. Comme les ondes ont des crêtes et des creux, elles peuvent s'additionner (si elles sont en phase) ou s'annuler (si elles sont déphasées). Lorsque les longueurs d'onde sont déphasées, les creux des ondes annulent les pics, ce qui s'appelle une interférence destructive. Les structures qui réfractent la lumière apparaissent alors sombres sur un fond clair composé uniquement de lumière non réfractée. De manière plus générale, les structures qui diffèrent par des caractéristiques telles que l'indice de réfraction présenteront des niveaux de noirceur différents (Figure 5).

- 4 Wavelengths in phase or out of phase either add together or cancel out each other.
- 3 Light traveling directly from the condenser lens and light traveling through the specimen are out of phase when they pass through the objective and phase plates.
- 2 Object or specimen refracts or reflects light.
- 1 Annular stop in the condenser produces a cone of light focused on the specimen.

- Illuminating light
- Diffracted light
- Undiffracted light
- Combined diffracted and undiffracted light

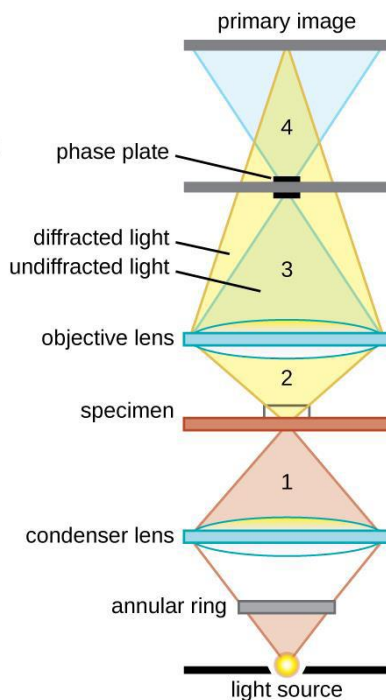


Fig. 5 : Ce schéma d'un microscope à contraste de phase illustre les différences de phase entre la lumière traversant l'objet et celle traversant l'arrière-plan. Ces différences sont produites en faisant passer les rayons à travers différentes parties d'une lame de phase. Les rayons lumineux se superposent dans le plan image, produisant un contraste dû à leur interférence.

https://ecampusontario.pressbooks.pub/app/uploads/sites/159/2018/07/OSC_Microbio_02_03_Phasecontr.jpg

Comme elle augmente le contraste sans nécessiter de colorants, la microscopie à contraste de phase est souvent utilisée pour observer des spécimens vivants. Certaines structures, telles que les organites des cellules eucaryotes et les endospores des cellules procaryotes, sont particulièrement bien visualisées avec la microscopie à contraste de phase. (Figure 6)



Fig. 6 : Photographie d'une cellule épithéliale de joue vue au microscope à contraste de phase.
https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/7/7e/Cheek_cell_phase_contrast.jpg/220px-Cheek_cell_phase_contrast.jpg

1.4. Microscopes à contraste interférentiel différentiel

Dans un microscope à contraste interférentiel différentiel, deux faisceaux lumineux sont créés, dont la direction du mouvement des ondes (polarisation) diffère. Une fois que les faisceaux ont traversé l'échantillon ou l'espace sans échantillon, ils sont recombinaisonnés et les effets des échantillons provoquent des différences dans les motifs d'interférence générés par la combinaison des faisceaux. Il en résulte des images très contrastées d'organismes vivants avec un aspect tridimensionnel. Ces microscopes sont particulièrement utiles pour distinguer les structures au sein d'échantillons vivants non colorés (figure 3.2).

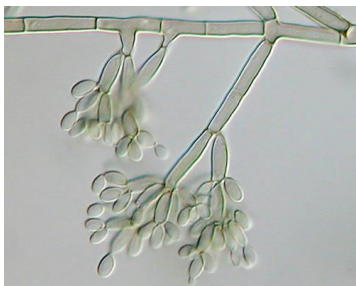


Fig. 2 : Image DIC de *Fonsecaea pedrosoi* cultivé sur gélose Leonian modifiée. Ce champignon provoque la chromoblastomycose, une infection cutanée chronique courante dans les climats tropicaux et subtropicaux. ecampusontario.pressbooks.pub

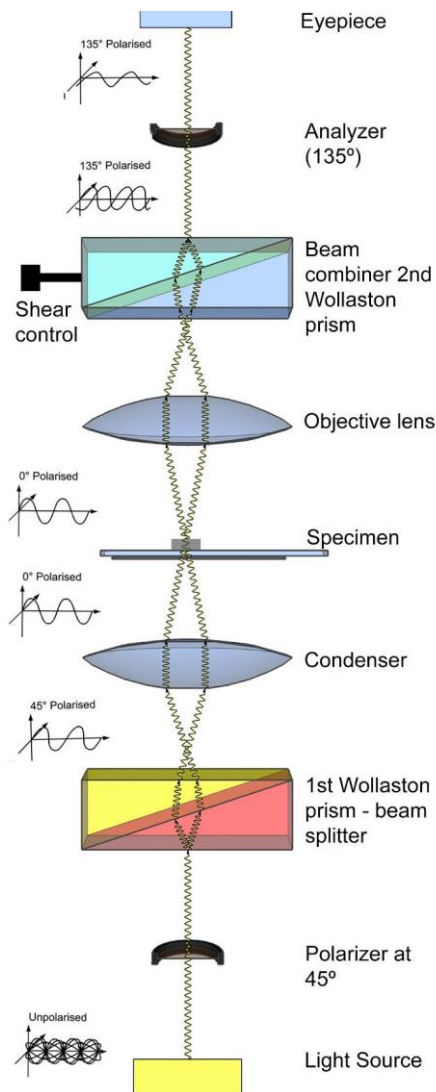


Fig. 3 : Microscope à contraste interférentiel différentiel (DIC). Schéma modifié - original de Richard Wheeler (Zephyris) – Domaine public Wikipédia
https://commons.wikimedia.org/wiki/File:DIC_Light_Path.png

1.5. Microscopes à fluorescence

Un microscope à fluorescence utilise des chromophores fluorescents appelés fluorochromes, qui sont capables d'absorber l'énergie d'une source lumineuse, puis de la réémettre sous forme de lumière visible.

Le microscope transmet une lumière d'excitation vers l'échantillon ; les chromophores absorbent la lumière d'excitation et émettent une lumière visible avec des longueurs d'onde plus longues. La lumière d'excitation est ensuite filtrée (en partie parce que la lumière ultraviolette

est nocive pour les yeux) afin que seule la lumière visible passe à travers la lentille oculaire. Cela produit une image de l'échantillon dans des couleurs vives sur un fond sombre.

Les microscopes à fluorescence sont particulièrement utiles en microbiologie clinique. Ils peuvent être utilisés pour identifier des agents pathogènes, pour trouver des espèces particulières dans un environnement ou pour localiser des molécules et des structures particulières dans une cellule. Des approches ont également été développées pour distinguer les cellules vivantes des cellules mortes à l'aide de la microscopie à fluorescence, en fonction de leur capacité à absorber certains fluorochromes. Parfois, plusieurs fluorochromes sont utilisés sur le même échantillon pour montrer différentes structures ou caractéristiques.

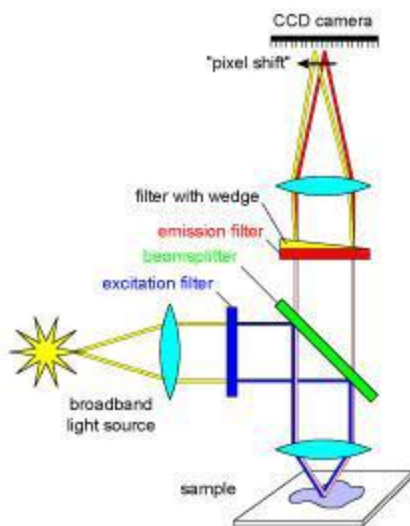


Fig. 4 : Dans un microscope à épifluorescence, un angle de coin sur le dichroïque ou l'émetteur provoque une déviation du faisceau (trajet doré) qui entraîne un décalage des pixels. Les angles de coin et de déviation du faisceau sont exagérés à des fins d'illustration. <https://www.idexhs.com>

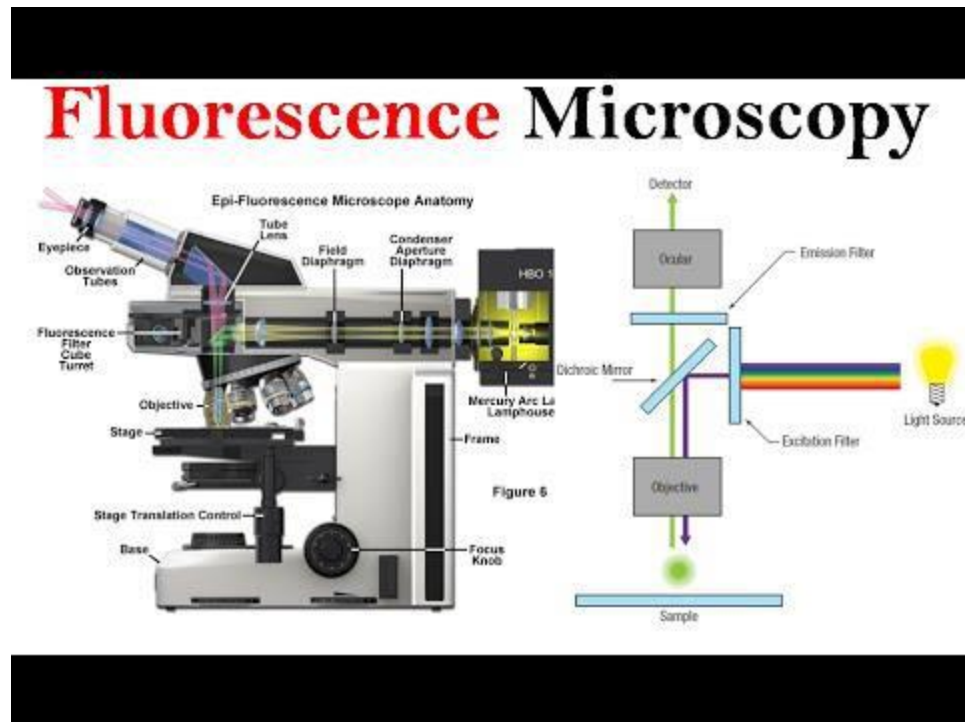


Fig 5: Epi-fluorescences microscopy.

<http://zeiss-campus.magnet.fsu.edu/articles/basics/fluorescence.html>.



Fig 6: A fluorescence microscopy image of a mitochondrion. <https://img.freepik.com>

1.6. Microscopes confocaux

Un microscope confocal utilise un laser pour balayer successivement plusieurs plans z. Cela permet d'obtenir de nombreuses images bidimensionnelles haute résolution à différentes profondeurs, qui peuvent être assemblées par ordinateur pour former une image tridimensionnelle. Comme pour les microscopes à fluorescence, des colorants fluorescents sont généralement utilisés pour augmenter le contraste et la résolution. La clarté de l'image est encore améliorée par une ouverture étroite qui élimine toute lumière ne provenant pas du plan z. Les microscopes confocaux sont donc très utiles pour examiner des échantillons épais tels que les biofilms, qui peuvent être examinés vivants et non fixés.

a. Principe des microscopes confocaux

Tout comme le microscope à champ large, le microscope confocal utilise l'optique à fluorescence. Au lieu d'éclairer l'ensemble de l'échantillon en une seule fois, la lumière laser est focalisée sur un point défini à une profondeur spécifique dans l'échantillon. Cela entraîne l'émission de lumière fluorescente exactement à cet endroit. Un sténopé à l'intérieur du trajet optique coupe les signaux qui ne sont pas nets, permettant ainsi uniquement aux signaux de fluorescence provenant du point éclairé d'entrer dans le détecteur de lumière.

En scannant l'échantillon selon un motif tramé, on obtient des images d'un seul plan optique. Les objets 3D peuvent être visualisés en scannant plusieurs plans optiques et en les empilant à l'aide d'un logiciel de déconvolution microscopique adapté (z-stack). Il est également possible d'analyser des colorations immunofluorescentes multicolores à l'aide de microscopes confocaux de pointe équipés de plusieurs lasers et filtres d'émission/excitation.

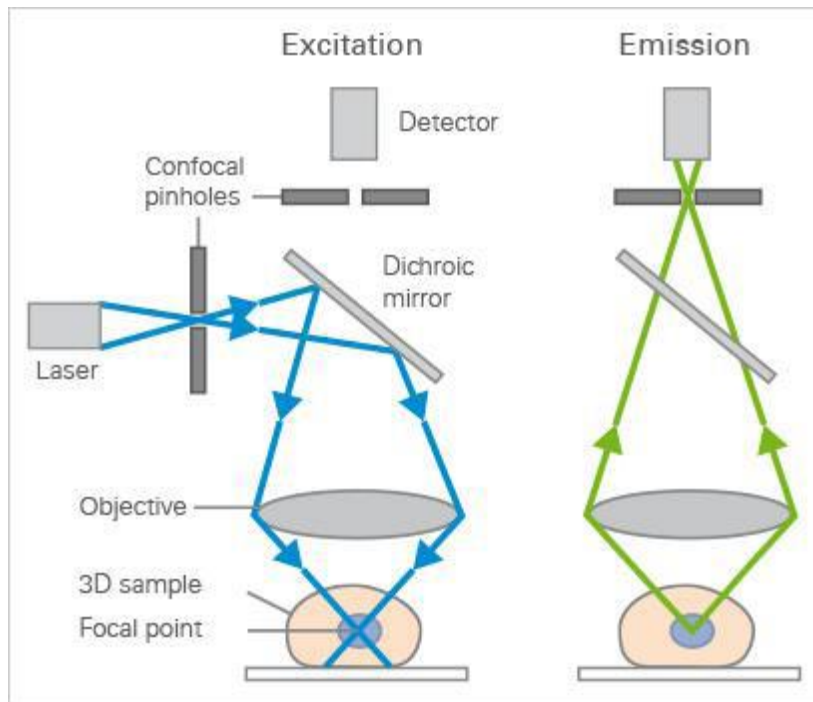


Fig 6: Excitation and emission light pathways in a basic confocal microscope configuration.
https://ibidi.com/img/cms/applications/technical_aspects/microscopy_techniques/TA_CF_Principle.jpg

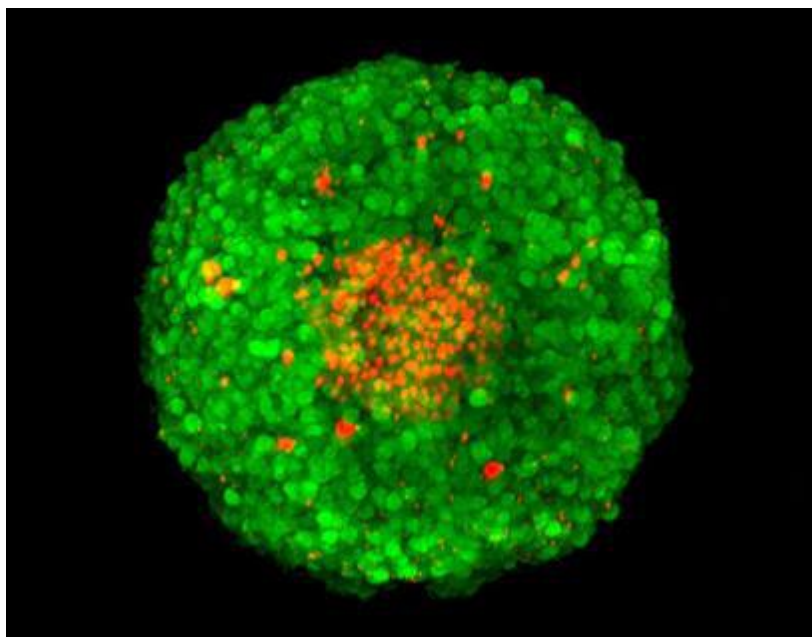


Fig 7 : Z-stack of an FDA/PI-stained MCF-7 spheroid, acquisition by confocal microscopy.
Green: FDA-stained living cells. Red: PI-stained dead cells in the necrotic center of the spheroid. <https://ibidi.com>

1.7. Microscopes à deux photons

Le microscope à deux photons utilise une technique de balayage, des fluorochromes et une lumière à longue longueur d'onde (telle que l'infrarouge) pour visualiser les échantillons. La faible énergie associée à la lumière à longue longueur d'onde signifie que deux photons doivent frapper un endroit en même temps pour exciter le fluorochrome. La faible énergie de la lumière d'excitation est moins nocive pour les cellules, et la longue longueur d'onde de la lumière d'excitation pénètre plus facilement en profondeur dans les échantillons épais. Cela rend le microscope à deux photons utile pour examiner des cellules vivantes dans des tissus intacts : coupes de cerveau, embryons, organes entiers et même animaux entiers.

Actuellement, l'utilisation des microscopes à deux photons est limitée aux laboratoires cliniques et de recherche de pointe en raison du coût élevé des instruments. Un seul microscope à deux photons coûte généralement entre 300 000 et 500 000 dollars américains, et les lasers utilisés pour exciter les colorants utilisés sur les échantillons sont également très coûteux. Cependant, à mesure que la technologie s'améliore, les microscopes à deux photons pourraient devenir plus facilement accessibles dans les milieux cliniques.

a) Principe des microscopes à deux photons

Tout comme la microscopie à fluorescence à champ large ou confocale, la microscopie à deux photons repose sur l'excitation des fluorophores, qui entraîne l'émission de lumière. Dans la microscopie à fluorescence classique, un fluorophore est excité en absorbant un seul photon d'une certaine longueur d'onde. Dans la microscopie à deux photons, deux ou trois photons d'une longueur d'onde plus élevée font le travail d'un seul : lorsqu'ils frappent le fluorophore au même moment (généralement en quelques femtosecondes), ils sont absorbés, ce qui entraîne l'excitation du fluorophore et l'émission de lumière.

Au cours de ce processus, les photons combinent leur énergie, ce qui permet aux photons infrarouges à faible énergie d'exciter des fluorophores standard, tels que la GFP. La lumière infrarouge pénètre plus profondément dans les tissus que la lumière d'excitation standard utilisée en microscopie à fluorescence. En raison de son faible niveau d'énergie, la lumière infrarouge est moins nocive et donc particulièrement utile pour travailler avec des échantillons vivants.

Afin d'augmenter la probabilité que deux photons frappent simultanément le fluorophore, des lasers à très haute intensité sont nécessaires. Leur lumière infrarouge ne provoque une excitation

qu'au point focal de l'objectif, car ce n'est que dans cette zone que le nombre critique de photons par unité de temps et d'espace est atteint. Par conséquent, toute la lumière émise provient d'un seul point focal dans l'échantillon, ce qui réduit considérablement le bruit de fond. L'image est créée comme en microscopie confocale : le laser balaye l'échantillon et enregistre l'intensité de l'image point par point.

1.8. Microscope stéréoscopique

1. Définition

Les microscopes stéréoscopiques sont un type de microscopes optiques numériques conçus avec un faible grossissement (5x-250x), qui utilisent la lumière réfléchie par la surface de l'échantillon et non la lumière réfractée par l'échantillon. Leur rôle principal est de disséquer des échantillons, de les observer et d'analyser qualitativement les échantillons disséqués.

a) Composants d'un microscope à dissection ou d'un stéréomicroscope

- **Éclairages LED** : certains microscopes à dissection sont équipés d'un éclairage LED intégré qui sert de source lumineuse.
- **Oculaires** : ils sont équipés de deux oculaires qui focalisent chacun différents chemins lumineux entrant et sortant de l'échantillon, chacun avec son propre grossissement. Pour augmenter le grossissement, il est possible d'utiliser des oculaires auxiliaires.
- **Objectifs** - Ils ont également différents grossissements, focalisant l'image sur l'appareil photo numérique, et pour améliorer le grossissement, on utilise des objectifs auxiliaires supplémentaires.
- **Platine** - Il s'agit de l'appareil servant à placer l'échantillon. Ils sont grands et peuvent donc accueillir des appareils à échantillons de grande taille.
- **Système optique** - Il s'agit du système qui se trouve entre le grossissement fixe et le zoom et qui offre une lentille à focale fixe.
- **Appareil photo numérique** - Il est fixé temporairement sur la plupart des microscopes de dissection pour capturer des images et enregistrer le résultat. Il capture des images en 2D et en 3D selon le type d'appareil photo numérique installé.

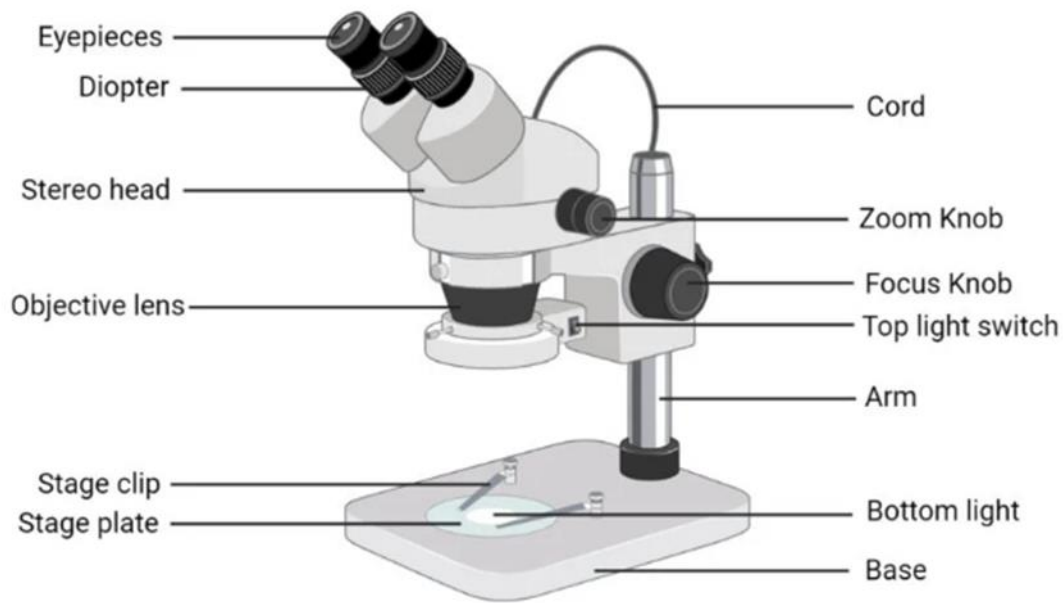


Fig 1: stereoscopic microscope parts. <https://microbenotes.com>

B. Principe du stéréo microscope

Le principe de fonctionnement du microscope à dissection repose sur les deux types de chemins lumineux utilisés par les objectifs et l'oculaire du microscope. Chaque chemin lumineux offre un angle de vision différent. Ils disposent d'un éclairage supérieur utilisé pendant la dissection et d'un éclairage inférieur utilisé pour visualiser les images. Cet éclairage est rendu possible par la construction de deux oculaires (stéréoscope binoculaire) présentant chacun un type de trajet lumineux différent, chacun offrant une zone de confort visuel. S'agissant d'un microscope numérique, les images sont visualisées en direct sur un écran d'ordinateur en 3 dimensions. Ils permettent également d'observer de très près de petits spécimens tels que des insectes, l'image produite étant généralement plus grande que la taille de l'échantillon, un effet connu sous le nom de macrophotographie. L'image est enregistrée et, dans le cas d'échantillons complexes, la topographie (surface) est analysée en 3D. Le microscope à dissection fonctionne avec deux systèmes de grossissement : le grossissement fixe (primaire), où deux lentilles objectives fournissent un certain degré de grossissement, et le grossissement zoom (pancratique), qui offre un grossissement continu à différentes distances, en utilisant des objectifs auxiliaires dont la fonction est d'augmenter le grossissement total en fonction de certains facteurs. La variance entre le zoom et le grossissement fixe peut être obtenue en changeant les lentilles de l'oculaire. Entre le grossissement fixe et le zoom se trouve un système optique appelé système optique galiléen, qui comporte des lentilles à focale fixe pour différents jeux de grossissement, par exemple

deux jeux de grossissement offrent quatre grossissements, trois jeux offrent six grossissements, etc.

C. Comment utiliser un stéréomicroscope

- Placez le microscope sur une surface plane dans une position stable et confortable.
- Allumez l'éclairage transmis/oblique. Placez un petit échantillon solide sur la platine, tel qu'une carte, une pièce de monnaie ou tout autre objet plat et détaillé.
- Tournez le bouton de réglage du grossissement sur la puissance la plus faible et faites la mise au point de l'image à l'aide de la molette de mise au point.
- Réglez les oculaires à la distance interpupillaire qui vous convient. Pour ce faire, rapprochez ou éloignez les oculaires jusqu'à obtenir un champ de vision unique (B). Réglez maintenant les bagues de réglage dioptrique des deux oculaires sur la position zéro (A).
- Utilisez le bouton de réglage du grossissement pour régler le grossissement maximal. Faites la mise au point de l'image à l'aide du bouton de mise au point. Centrez l'image sur un point clair et détaillé de l'échantillon.
- Réglez le microscope sur le grossissement minimal à l'aide du bouton de réglage du grossissement. L'image peut être légèrement floue.
- Ne réglez pas la mise au point à l'aide du bouton de mise au point. Réglez la mise au point pour chaque œil séparément à l'aide des bagues de réglage dioptrique des oculaires. Votre microscope est désormais « parfocal ». Cela signifie que lorsque vous passez d'un grossissement élevé à un grossissement faible, l'image reste nette sur toute la plage. Chaque individu aura un réglage différent.

D. Types de microscopes à dissection ou stéréoscopiques

- **Microscope stéréoscopique à zoom** - Il s'agit de microscopes à dissection trinoculaires ou binoculaires avec une plage de zoom de 6,7x à 45x. Ils peuvent être connectés à un appareil photo numérique qui prend des photos des images observées. Ils sont équipés d'un éclairage à double LED et peuvent pivoter à 360°. Le grossissement peut être modifié en ajoutant des objectifs auxiliaires ou différents oculaires.
- **Microscope de dissection à tablette numérique** - Il s'agit de microscopes de dissection haut de gamme. Ils sont équipés d'une caméra à écran tactile LCD avec un grossissement continu de 6,7x à 45x. Ils disposent d'oculaires auxiliaires dont le grossissement peut être augmenté ou diminué. Des lentilles auxiliaires peuvent également être ajoutées au objectifs permettant de modifier le grossissement. Ils sont équipés d'un appareil photo numérique de 5,0 mégapixels permettant de capturer des images et d'enregistrer des

vidéos directement sur la tablette ou via un câble USB. Ils disposent d'éclairages LED intégrés à la fois en haut et en bas du microscope, chacun fonctionnant séparément.

- c. Microscopes stéréoscopiques à zoom et à bras articulé - Ils sont dotés d'une large base et d'une grande platine permettant d'observer des échantillons de grande taille. Ils sont équipés d'un éclairage LED ou d'un éclairage à double tube en option. Ils ont une plage de zoom de 6x à 45x qui peut être augmentée en ajoutant des lentilles auxiliaires ou des oculaires.
- d. Microscope stéréoscopique à zoom pour dissection - Il s'agit d'un microscope stéréoscopique à zoom compact avec une plage de zoom de 10x à 30x produisant des images nettes et parfocales. Ils sont équipés d'une tête rotative qui permet de positionner l'oculaire à distance ou à proximité de l'échantillon. Ils sont équipés d'une lampe halogène de 10 watts et d'un éclairage fluorescent de 5 watts.
- e. Microscope à double puissance - Il s'agit d'un microscope à double puissance de 10x et 30x, avec une capacité de rotation à 360°, pour la mise au point et l'observation. Ils sont équipés d'une paire d'objectifs doubles, parfocaux, parcentrés et achromatiques. La rotation des lentilles permet de modifier le grossissement de l'image. Il utilise également un anneau lumineux à haute intensité LED qui éclaire toute la surface. Grâce à son support flexible, il peut être relevé pour permettre l'observation de spécimens plus grands.
- **Microscope stéréoscopique à puissance unique** - ils ont un grossissement très faible allant de 10x à 40x avec des oculaires inclinés à 45°C. Ils disposent également d'un réglage dioptrique de 50 mm à 70 mm.
- **Microscope de poche à grossissement unique** - Il s'agit d'un microscope de dissection portable à puissance unique avec deux grossissements et qui ne nécessite pas de lumière. Fabriqué au Japon, il est doté d'un verre de haute qualité optique, très facile à utiliser, et sa taille compacte le rend portable.

E. Applications du microscope stéréoscopique ou du microscope à dissection

Comme la plupart des microscopes, il est utilisé dans un large éventail de domaines, notamment la fabrication, la médecine, le contrôle qualité, l'inspection et les études biomédicales telles que l'étude entomologique des insectes. Voici quelques-unes de ses fonctions :

- Étude de la topographie d'échantillons solides
- Pour la dissection

- Pour les procédures microchirurgicales
- Pour la fabrication de montres, de circuits imprimés et leur inspection
- Utilisé pour l'inspection des fractures (fractographie)
- Utilisé en ingénierie médico-légale

F. Entretien du stéréo microscope

L'entretien régulier d'un stéréo microscope est essentiel pour sa longévité et ses performances optimales.

- La maintenance quotidienne comprend le nettoyage des lentilles à l'aide d'une solution spécifique et d'un chiffon en microfibre, ainsi que la prévention de la poussière en utilisant une housse et en le rangeant dans un endroit propre et sec.
- Le maniement correct est crucial : tenez toujours le microscope par sa base et son bras, portez-le à deux mains et évitez de toucher les lentilles avec les doigts (utilisez des gants).
- La maintenance mensuelle implique l'inspection et la lubrification des mécanismes de mise au point et de la platine avec un lubrifiant recommandé, ainsi que la vérification du bon fonctionnement de tous les composants électriques (lumières, connexions).
- Un nettoyage annuel en profondeur est recommandé. Il nécessite un démontage soigné, un nettoyage minutieux de chaque pièce (en étant extrêmement prudent avec les optiques) et un remontage. Le service professionnel doit être sollicité pour les problèmes complexes.

3. Entretien du microscope : meilleures pratiques

Même un microscope très puissant ne peut fournir des images hautes résolution s'il n'est pas correctement nettoyé et entretenu. Les lentilles étant soigneusement conçues et fabriquées pour réfracter la lumière avec une grande précision, même une lentille légèrement sale ou rayée réfractera la lumière de manière imprévue, dégradant ainsi l'image de l'échantillon. De plus, les microscopes sont des instruments assez délicats, et il faut prendre grand soin d'éviter d'endommager leurs pièces et leurs surfaces. Entre autres choses, l'entretien adéquat d'un microscope comprend les éléments suivants :

- nettoyer les lentilles avec du papier spécial
- éviter que les lentilles n'entrent en contact avec la lame (par exemple, en changeant rapidement la mise au point)
- protéger l'ampoule (le cas échéant) contre les bris
- ne pas enfoncer un objectif dans une lame

- ne pas utiliser le bouton de mise au point grossière lorsque vous utilisez des objectifs de 40× ou plus
- n'utiliser de l'huile d'immersion qu'avec un objectif spécialisé, généralement l'objectif 100×
- nettoyer l'huile des lentilles d'immersion après avoir utilisé le microscope
- nettoyer toute huile accidentellement transférée à partir d'autres lentilles
- couvrir le microscope ou le placer dans une armoire lorsqu'il n'est pas utilisé

8. Microscope stéréoscopique

1. Définition

Les microscopes stéréoscopiques sont un type de microscope optique numérique conçu avec un faible grossissement (5x-250x), utilisant la lumière réfléchie par la surface de l'échantillon, et non la lumière réfléchie par l'échantillon. Leur rôle principal est de disséquer des échantillons, de les observer et d'analyser qualitativement les échantillons disséqués.

2. Composants d'un microscope à dissection ou d'un microscope stéréoscopique

A. Éclairages LED - Certains microscopes à dissection sont équipés d'un éclairage LED intégré comme source de lumière.

B. Oculaires - Ils sont équipés de deux oculaires qui focalisent chacun différents chemins de lumière entrant et sortant de l'échantillon, chacun avec son propre grossissement. Pour augmenter le grossissement, il est possible d'utiliser des oculaires auxiliaires.

C. Objectifs - Ils ont également différents grossissements, focalisant l'image sur l'appareil photo numérique, et pour améliorer le grossissement, on utilise des objectifs auxiliaires supplémentaires.

D. Platine - Il s'agit de l'appareil servant à placer l'échantillon. Ils sont grands et peuvent donc accueillir des appareils à échantillons de grande taille.

E. Système optique - Il s'agit du système qui se trouve entre le grossissement fixe et le zoom et qui offre une lentille à focale fixe.

F. Appareil photo numérique - Il est fixé temporairement sur la plupart des microscopes de dissection pour capturer des images et enregistrer le résultat des images. Il capture des images en 2D et en 3D selon le type d'appareil photo numérique installé.

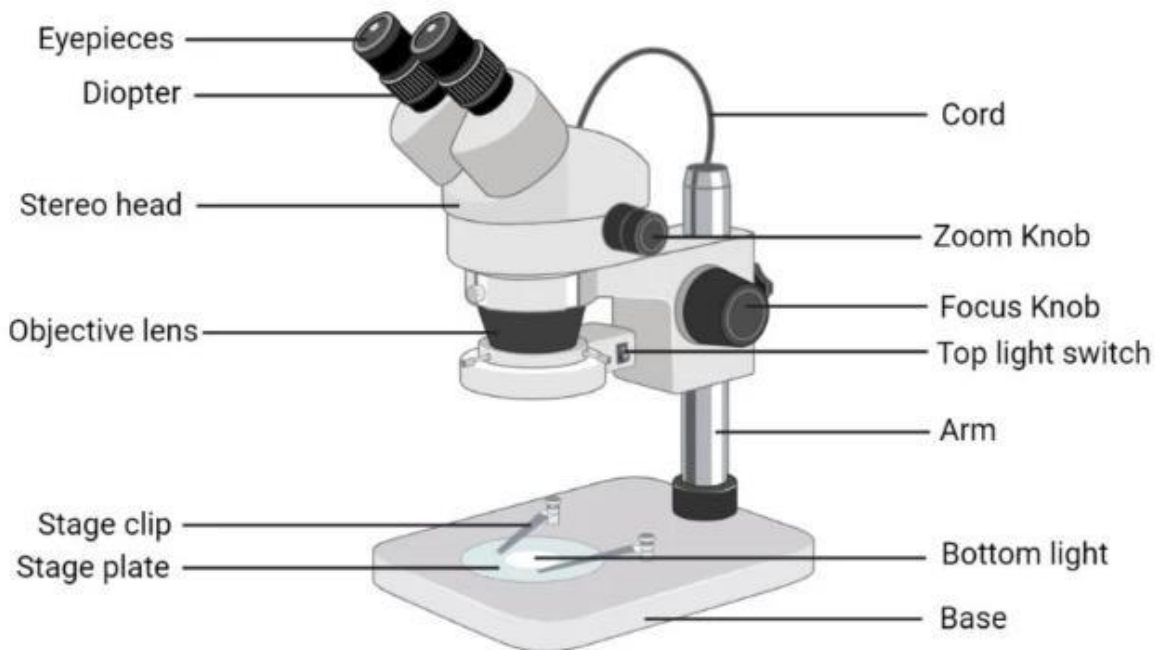


Fig. 1 : Composants d'un microscope stéréoscopique. <https://microbenotes.com/>

4. Principe du stéréomicroscope

Le principe de fonctionnement du microscope à dissection repose sur les deux types de chemins lumineux utilisés par les objectifs et l'oculaire du microscope. Chaque chemin lumineux offre un angle de vision différent. Ils disposent d'un éclairage supérieur utilisé pendant la dissection et d'un éclairage inférieur utilisé pour visualiser les images. Cet éclairage est rendu possible par la construction de deux oculaires (stéréoscope binoculaire) présentant chacun un type de trajet lumineux différent, chacun offrant une zone de confort visuel. S'agissant d'un microscope numérique, les images sont visualisées en direct sur un écran d'ordinateur en 3 dimensions. Ils permettent également d'observer de très près de petits spécimens tels que des insectes, l'image produite étant généralement plus grande que la taille de l'échantillon, un effet connu sous le nom de macrophotographie. L'image est enregistrée et, dans le cas d'échantillons complexes, la topographie (surface) est analysée en 3D. Le microscope à dissection fonctionne avec deux systèmes de grossissement : le grossissement fixe (primaire), où deux lentilles objectives fournissent un certain degré de grossissement, et le grossissement zoom (pancratique), qui offre un grossissement continu à différentes distances, en utilisant des objectifs auxiliaires dont la fonction est d'augmenter le grossissement total en fonction de certains facteurs. La variance

entre le zoom et le grossissement fixe peut être obtenue en changeant les lentilles de l'oculaire. Entre le grossissement fixe et le zoom se trouve un système optique appelé système optique galiléen, qui comporte des lentilles à focale fixe qui confèrent un grossissement fixe magnification.

pour différents jeux de grossissement, par exemple deux jeux de grossissement offrent quatre grossissements, trois jeux offrent six grossissements, etc.

4. Comment utiliser un stéréomicroscope

- ☐ Placez le microscope sur une surface plane dans une position stable et confortable.
- ☐ Allumez l'éclairage transmis/oblique. Placez un petit échantillon solide sur la platine, par exemple une carte, une pièce de monnaie ou tout autre objet plat et détaillé.
- ☐ Tournez le bouton de réglage du grossissement sur la puissance la plus faible et faites la mise au point de l'image à l'aide du contrôle de mise au point.
- ☐ Réglez les oculaires à la distance interpupillaire qui vous convient. Pour ce faire, rapprochez ou éloignez les oculaires jusqu'à obtenir un champ de vision unique (B). Réglez ensuite les bagues de réglage dioptrique des deux oculaires sur la position zéro (A).
- ☐ Utilisez la molette de réglage du grossissement pour régler le grossissement maximal. Faites la mise au point sur l'image à l'aide de la molette de mise au point. Centrez l'image sur un point clair et détaillé de l'échantillon.
- ☐ Réglez le microscope sur le grossissement minimal à l'aide de la molette de réglage du grossissement. L'image peut être légèrement floue.
- ☐ Ne réglez pas la mise au point à l'aide du bouton de mise au point. Réglez la mise au point pour chaque œil séparément à l'aide des bagues de réglage dioptrique des oculaires. Votre microscope est désormais « parfocal ». Cela signifie que lorsque vous passez d'un grossissement élevé à un grossissement faible, l'image reste nette sur toute la plage. Chaque personne aura un réglage différent.

5. Types de microscopes à dissection ou stéréoscopiques

a. Microscope stéréoscopique à zoom - Il s'agit de microscopes à dissection trinoculaires ou binoculaires avec une plage de zoom de 6,7x à 45x. Ils peuvent être connectés à un

appareil photo numérique qui prend des photos des images observées. Ils sont équipés d'un éclairage à double LED et peuvent pivoter à 360°. Le grossissement peut être modifié en ajoutant des objectifs auxiliaires ou différents oculaires.

b. Microscope de dissection à tablette numérique - Il s'agit de microscopes de dissection haut de gamme. Ils sont équipés d'une caméra à écran tactile LCD avec un grossissement continu de 6,7x à 45x. Ils disposent d'oculaires auxiliaires dont le grossissement peut être augmenté ou diminué. Des lentilles auxiliaires peuvent également être ajoutées au l'objectifs permettant de modifier le grossissement. Ils sont équipés d'un appareil photo numérique de 5,0 mégapixels permettant de capturer des images et d'enregistrer des vidéos directement sur la tablette ou via un câble USB. Ils disposent d'éclairages LED intégrés en haut et en bas du microscope, chacun fonctionnant séparément.

c. Microscopes stéréoscopiques à zoom et à bras articulé- Ils sont dotés d'une large base et d'une grande platine permettant d'observer des échantillons de grande taille. Ils sont équipés d'un éclairage LED ou d'un éclairage à double tube en option. Ils ont une plage de zoom de 6x à 45x qui peut être augmentée en ajoutant des lentilles auxiliaires ou des oculaires.

d. Microscope stéréoscopique à zoom pour dissection - Il s'agit d'un microscope stéréoscopique à zoom compact avec une plage de zoom de 10x à 30x produisant des images nettes et parfocales. Ils sont équipés d'une tête rotative, ce qui permet de positionner l'oculaire à distance ou près de l'échantillon. Il est équipé d'une lampe halogène de 10 watts et d'un éclairage fluorescent de 5 watts.

e. Microscope à double puissance - Il s'agit d'un microscope à double puissance de 10x et 30x, avec une capacité de rotation à 360°, pour la mise au point et l'observation. Il est équipé d'une paire d'objectifs doubles, parfocaux, parcentrés et achromatiques. La rotation des lentilles permet de modifier le grossissement de l'image. Il utilise également un anneau lumineux à haute intensité LED qui éclaire toute la surface. Grâce à son support flexible, il peut être relevé pour observer des spécimens plus grands.

f. Microscope stéréoscopique à puissance unique - Il dispose d'un grossissement très faible allant de 10x à 40x avec des oculaires inclinés à 45°C. Il dispose également d'un réglage dioptrique.

- Étude de la topographie d'échantillons solides

- Pour la dissection
- Pour les procédures microchirurgicales
- Pour la fabrication de montres, de circuits imprimés et leur inspection
- Utilisé pour l'inspection des fractures (fractographie)
- Utilisation en ingénierie médico-légale

7. Entretien du stéréomicroscope

L'entretien de votre stéréomicroscope est essentiel pour garantir sa longévité et ses performances optimales. Un entretien régulier prolonge non seulement la durée de vie de votre équipement, mais garantit également des résultats clairs et précis lors de son utilisation. Ce guide fournit un aperçu complet des tâches d'entretien essentielles qui devraient faire partie de votre routine.

A. Entretien quotidien

Il est essentiel de mettre en place un entretien quotidien de votre stéréomicroscope afin de préserver ses performances et sa longévité. Ces tâches simples et quotidiennes permettent d'éviter les dommages et de garantir que votre microscope est toujours prêt à l'emploi, vous offrant à chaque fois des observations claires et précises.

□ Nettoyage des lentilles

Les lentilles sont les composants les plus critiques de votre microscope. Les garder propres garantit clarté et précision.

□ Utilisation d'une solution de nettoyage pour lentilles et d'un chiffon en microfibre:

Utilisez toujours une solution de nettoyage spécialement conçue pour les lentilles et un chiffon en microfibre pour nettoyer les lentilles. Cela permet d'éviter les rayures et de préserver la qualité des composants optiques. N'utilisez jamais de produits ménagers ou de matériaux rugueux qui pourraient endommager les surfaces délicates des lentilles. Assurez-vous que la solution de nettoyage est spécialement formulée pour les lentilles optiques, car d'autres solutions pourraient laisser des résidus

Utilisation de housses anti-poussière et stockage approprié :

Couvrez toujours votre microscope avec une housse anti-poussière lorsque vous ne l'utilisez pas. Cette mesure simple empêche la poussière de se déposer sur les lentilles et les autres composants. Rangez-le dans un endroit propre et sec pour éviter l'accumulation de

poussière. L'espace de stockage doit être éloigné des fenêtres et des bouches d'aération, qui peuvent introduire de la poussière et de l'humidité.

☐ **Choisir la bonne housse anti-poussière :**

Choisissez une housse anti-poussière fabriquée dans un matériau respirant afin d'éviter de retenir l'humidité, ce qui peut entraîner la formation de moisissures. Une bonne housse anti-poussière doit s'ajuster parfaitement autour du microscope et le recouvrir entièrement.

☐ **Emplacement approprié :**

Si possible, placez le microscope dans une armoire ou une boîte de rangement dédiée. Cela ajoute une couche de protection supplémentaire contre la poussière et les polluants environnementaux.

C. Manipulation correcte

Il est essentiel de manipuler correctement votre microscope pour éviter de l'endommager. Une manipulation correcte garantit que votre microscope reste en bon état et fonctionne de manière optimale pendant de nombreuses années.

☐ **Éviter les empreintes digitales et les rayures :**

Utilisez des gants ou manipulez le microscope par sa base et son bras pour éviter les empreintes digitales sur les lentilles et le corps. Les empreintes digitales peuvent laisser des résidus huileux difficiles à nettoyer et susceptibles d'attirer la poussière et la saleté.

☐ **Port de gants :**

Lorsque vous manipulez le microscope, en particulier les lentilles, le port de gants en coton ou en latex peut empêcher le transfert de graisse et de saleté sur le microscope. Ceci est particulièrement important lors du nettoyage et des réglages.

☐ **Tenir le microscope :**

Tenez toujours le microscope par sa base et son bras. Cela garantit une Façons correctes de manipuler et de déplacer le microscope :

Transportez toujours le microscope à deux mains, en tenant le bras d'une main et en soutenant la base de l'autre. Cette technique assure la stabilité et réduit le risque d'accident.

☐ **Transport du microscope :**

Avant de déplacer le microscope, assurez-vous que toutes les pièces sont bien fixées. Transportez-le près de votre corps pour maintenir votre équilibre et garder le contrôle. Veillez à ce que le chemin soit dégagé de tout obstacle afin d'éviter de trébucher ou de heurter quoi que ce soit.

□ Pose du microscope :

Posez délicatement le microscope sur une surface stable et plane. Assurez-vous que la surface est suffisamment solide pour supporter le poids du microscope sans vaciller ni basculer.

D. Tâches d'entretien mensuelles

Les tâches d'entretien mensuelles sont essentielles pour garantir le bon fonctionnement et la longévité de votre stéréomicroscope. Ces contrôles et réglages de routine permettent d'identifier et de résoudre les problèmes mineurs avant qu'ils ne deviennent majeurs, garantissant ainsi que votre microscope reste en parfait état de fonctionnement.

□ Inspection des mécanismes

Des inspections mécaniques régulières garantissent un fonctionnement fluide et permettent d'éviter les problèmes qui pourraient perturber votre travail. En vérifiant et en entretenant régulièrement les pièces mécaniques de votre microscope, vous pouvez vous assurer qu'il reste en parfait état.

□ Vérification du bon fonctionnement du mécanisme de mise au point et de la platine :

Testez les boutons de mise au point et la platine pour vérifier qu'ils fonctionnent correctement. Si vous remarquez une résistance ou des irrégularités, il est peut-être temps de les lubrifier.

o Mécanisme de mise au point :

Tournez doucement les boutons de mise au point pour vérifier qu'ils fonctionnent correctement.

o Mouvement de la platine :

Déplacez la platine d'avant en arrière en vous assurant qu'elle glisse sans à-coups et sans accrocher. Tout mouvement saccadé peut indiquer un besoin de nettoyage ou de lubrification.

□ Lubrification des pièces mobiles si nécessaire :

Appliquez une petite quantité de lubrifiant spécifique pour microscopes sur les pièces mobiles afin de garantir un fonctionnement fluide.

o Choisir le bon lubrifiant :

Utilisez uniquement les lubrifiants recommandés par le fabricant du microscope. Ceux-ci sont conçus pour fonctionner avec les matériaux et les tolérances spécifiques des composants du microscope.

o Application du lubrifiant :

Appliquez le lubrifiant avec parcimonie. Un excès de lubrifiant peut attirer la poussière et créer des problèmes supplémentaires. Utilisez un applicateur fin pour cibler les zones précises qui nécessitent une lubrification, telles que les engrenages et les surfaces de glissement.

o Fréquence de lubrification :

En fonction de la fréquence d'utilisation, lubrifiez les pièces mobiles tous les quelques mois. Une lubrification excessive peut être aussi néfaste qu'une absence de lubrification, veuillez donc suivre les recommandations du fabricant.

E. Vérification des composants électriques

Il est essentiel de s'assurer que les composants électriques fonctionnent correctement pour une utilisation ininterrompue. Des contrôles réguliers et un entretien opportun des pièces électriques de votre microscope peuvent prévenir les temps d'arrêt imprévus et prolonger la durée de vie de votre équipement.

S'assurer que toutes les lumières et tous les composants électroniques fonctionnent :

Vérifiez régulièrement que toutes les lumières et tous les composants électroniques fonctionnent. Un éclairage adéquat est essentiel pour des observations précises, il est donc essentiel de s'assurer que le système d'éclairage fonctionne de manière optimale. Remplacez toutRemplacez rapidement les ampoules grillées afin de maintenir un éclairage constant.

☐ **Inspection régulière :**

Mettez en place une routine pour inspecter tous les composants électroniques, y compris les lumières, les interrupteurs d'alimentation et tous les affichages numériques. Assurez-vous que toutes les connexions sont sécurisées et qu'il n'y a aucun signe visible d'usure ou de dommage.

☐ **Remplacement des ampoules :**

Ayez toujours des ampoules de rechange à portée de main pour remplacer immédiatement celles qui sont grillées. Suivez les instructions du fabricant pour remplacer les ampoules afin d'éviter d'endommager la douille ou l'ampoule elle-même. Lorsque vous manipulez des ampoules, utilisez des gants ou un chiffon pour éviter de transférer les huiles de votre peau, qui peuvent réduire la durée de vie de l'ampoule.

Dépannage des problèmes électriques courants :

Si vous rencontrez des problèmes électriques, consultez le manuel d'utilisation ou demandez l'aide d'un professionnel. Le fait de résoudre rapidement les problèmes électriques peut éviter des dommages plus graves à votre microscope.

☐ **Consultation du manuel :**

Le manuel de votre microscope contient souvent des conseils de dépannage pour les problèmes électriques courants. Consultez-le d'abord pour voir si vous pouvez résoudre le problème vous-même.

☐ **Assistance professionnelle :**

Si le problème persiste ou semble complexe, n'essayez pas de le résoudre vous-même. Demandez l'aide d'un professionnel afin d'éviter de causer d'autres dommages. Les techniciens certifiés ont l'expertise nécessaire pour diagnostiquer et réparer les problèmes électriques de manière sûre et efficace.

☐ **Entretien régulier :**

Envisagez de programmer des contrôles d'entretien professionnels réguliers pour votre microscope. Cela peut aider à identifier et à résoudre les problèmes électriques potentiels avant qu'ils ne deviennent importants.

F. Nettoyage en profondeur annuel

Un nettoyage en profondeur annuel est essentiel pour conserver votre stéréomicroscope dans des conditions optimales. Ce processus de nettoyage complet consiste à démonter le microscope, à nettoyer minutieusement chaque composant et à le remonter avec soin. Un nettoyage en profondeur une fois par an permet de garantir les performances de votre microscope et de prolonger sa durée de vie.

Démontage pour un nettoyage en profondeur

Un nettoyage en profondeur une fois par an permet de maintenir votre microscope en parfait état. Ce processus consiste à démonter soigneusement le microscope afin de nettoyer minutieusement chaque composant. Un nettoyage et un remontage appropriés garantissent le fonctionnement optimal de votre microscope et prolongent sa durée de vie.

□ Guide étape par étape pour démonter et nettoyer les composants en toute sécurité :

Préparation :

Avant de procéder au démontage, rassemblez tous les outils et solutions de nettoyage nécessaires, tels que la solution de nettoyage pour lentilles, les chiffons en microfibre, les brosses douces et le manuel d'utilisation. Assurez-vous que votre espace de travail est propre et bien éclairé afin d'éviter de perdre les petites pièces.

□ **Démontage du microscope :**

Suivez attentivement les instructions du fabricant. Commencez par retirer les composants les plus volumineux, tels que les oculaires, les lentilles objectives et la platine. Gardez un récipient à portée de main pour ranger les vis et les petites pièces en toute sécurité.

Prenez des photos à chaque étape du démontage afin de vous y référer lors du remontage du microscope. Cela vous permettra de vous assurer que toutes les pièces sont replacées à leur emplacement d'origine.

□ **Nettoyage de chaque pièce :**

Utilisez des solutions et des outils appropriés pour nettoyer chaque pièce en profondeur. Pour les lentilles, utilisez une solution de nettoyage pour lentilles et un chiffon en microfibre. Pour les autres composants, utilisez une brosse douce pour éliminer la poussière et les débris, et un chiffon humide pour les résidus collants.

□ **Pièces nécessitant une attention particulière lors du nettoyage :**

Lentilles et composants optiques :

Ce sont les pièces les plus délicates du microscope. Nettoyez les lentilles en effectuant des mouvements circulaires doux, en partant du centre vers l'extérieur. Évitez d'exercer une force excessive afin d'éviter les rayures.

Composants électriques :

Assurez-vous que toutes les pièces électroniques sont sèches avant de les remonter. Si une pièce doit être nettoyée, utilisez une brosse sèche ou une bombe d'air comprimé pour éliminer la poussière sans causer de dommages dus à l'humidité.

□ **Pièces mécaniques :**

Lubrifiez les pièces mobiles avec parcimonie après le nettoyage afin de garantir leur bon fonctionnement. Veillez à ce qu'aucun lubrifiant n'entre en contact avec les composants optiques ou électroniques.

Soyez très prudent lorsque vous nettoyez et manipulez les lentilles et autres composants optiques délicats. Des techniques de nettoyage incorrectes ou l'utilisation d'outils inadaptés peuvent facilement endommager ces pièces essentielles.

□ **Entretien professionnel**

Un entretien professionnel permet de résoudre des problèmes qui dépassent le cadre de la maintenance régulière. Si le nettoyage et les réglages de routine peuvent être effectués à domicile, certains problèmes nécessitent l'expertise d'un technicien certifié afin de garantir que votre microscope reste dans un état optimal.

5. Electron Microscopy

The maximum theoretical resolution of images created by light microscopes is ultimately limited by the wavelengths of visible light. Most light microscopes can only magnify 1000, and a few can magnify up to 1500, but this does not begin to approach the magnifying power of an electron microscope (EM), which uses short-wavelength electron beams rather than light to increase magnification and resolution.

Electrons, like electromagnetic radiation, can behave as waves, but with wavelengths of 0.005 nm, they can produce much better resolution than visible light. An EM can produce a sharp image that is magnified up to 100,000. Thus, EMs can resolve sub-cellular structures

as well as some molecular structures (e.g., single strands of DNA); however, electron microscopy cannot be used on living material because of the methods needed to prepare the specimens.

There are two basic types of EM:

- the transmission electron microscope (TEM)
- the scanning electron microscope (SEM).

Le TEM fonctionne de manière assez similaire au microscope optique à champ clair. Cependant, il utilise un faisceau d'électrons provenant du dessus de l'échantillon, qui est focalisé à l'aide d'une lentille magnétique (plutôt qu'une lentille en verre) et projeté à travers l'échantillon sur un détecteur. Les électrons traversent l'échantillon, puis le détecteur capture l'image.

Pour que les électrons traversent l'échantillon dans un TEM, celui-ci doit être extrêmement fin (20 à 100 nm d'épaisseur). L'image est produite en raison de l'opacité variable des différentes parties de l'échantillon. Cette opacité peut être améliorée en colorant l'échantillon avec des matériaux tels que des métaux lourds, qui sont denses en électrons. Le TEM nécessite que le faisceau et l'échantillon soient sous vide et que l'échantillon soit très fin et déshydraté. Les étapes spécifiques nécessaires à la préparation d'un échantillon pour l'observation au microscope électronique sont décrites en détail dans la section suivante.

Les MEB forment des images de la surface des échantillons, généralement à partir d'électrons qui sont projetés hors des échantillons par un faisceau d'électrons. Cela permet de créer des images très détaillées avec un aspect tridimensionnel qui sont affichées sur un moniteur. En général, les échantillons sont séchés et préparés avec des fixateurs qui réduisent les artefacts, tels que le rétrécissement, qui peuvent être produites par séchage, avant d'être recouvertes d'une fine couche de métal tel que l'or par pulvérisation cathodique. Alors que la microscopie électronique à transmission nécessite des sections très fines et permet de voir les structures internes telles que les organites et l'intérieur des membranes, la microscopie électronique à balayage peut être utilisée pour observer les surfaces d'objets plus grands (tels que les grains de pollen) ainsi que les surfaces d'échantillons très petits. Certains microscopes électroniques peuvent agrandir une image jusqu'à 2 000 000 fois.

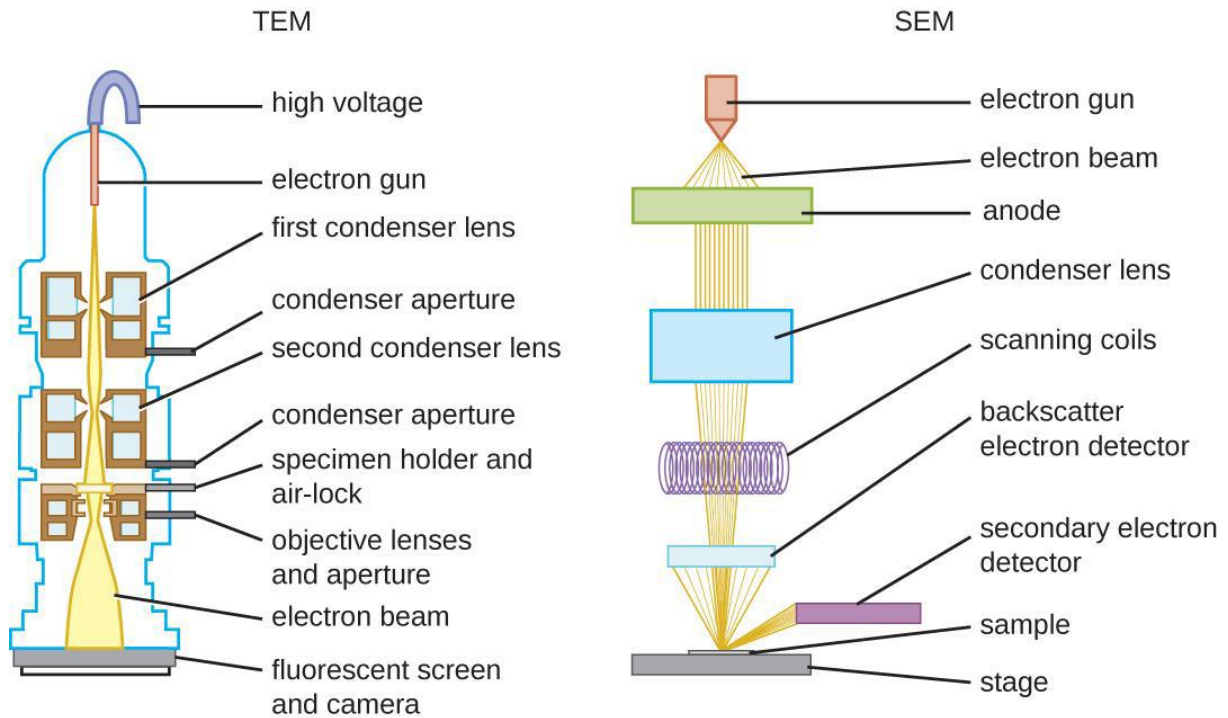
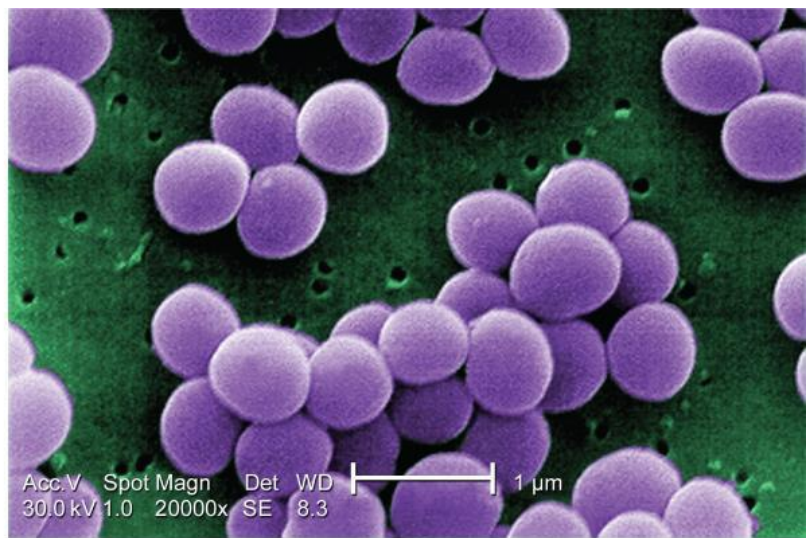


Fig 8: These schematic illustrations compare the components of transmission electron microscopes and scanning electron microscopes.

https://ecampusontario.pressbooks.pub/app/uploads/sites/159/2018/07/OSC_Microbio_02_03_ElMicSchem.jpg



(a)



(b)

Fig. 9 : (a) Cette image TEM de cellules dans un biofilm montre des structures internes bien définies des cellules grâce aux différents niveaux d'opacité de l'échantillon. (b) Cette image SEM aux couleurs rehaussées de la bactérie *Staphylococcus aureus* illustre la capacité de la microscopie électronique à balayage à rendre des images tridimensionnelles de la structure

Chapitre 1 : Instrument de microscopie

superficielle des cellules. (crédit a : modification d'un travail de l'American Society for Microbiology ; crédit b : modification d'un travail des Centers for Disease Control and Prevention).

https://ecampusontario.pressbooks.pub/app/uploads/sites/159/2018/07/OSC_Microbio_02_03_SEMvsTEM.jpg