

TD 01 : Le microscope optique

Le microscope : est un instrument permet d'obtenir une image agrandie d'un objet très petit . La technique que utilise le microscope est appelés « **microscopie** » .

Il existe **deux type** de microscope : - Microscope optique -Microscope électronique

1- Le microscope optique :

Est un instrument qui donne un image agrandie d'un objet très petit par . le transmission (passage) des photons.

Le microscope optique est constitué de :

Base : sur laquelle se repose le microscope .

Potence : c'est un bras qui relie la base au corps du microscope .

Platine : c'est un support fixe contient au centre un trou pour la passage de photon vers l'objet , la platine renferme un système de fixation pour immobiliser l'échantillon .

Vis de réglage : leurs rotation permet le déplacement vertical (on haut et on bas) de platine , dans un microscope optique on trouve deux vis de réglage :

La vis macrométrique : pour le déplacement rapide

La vis micrométrique : pour le réglage précise .

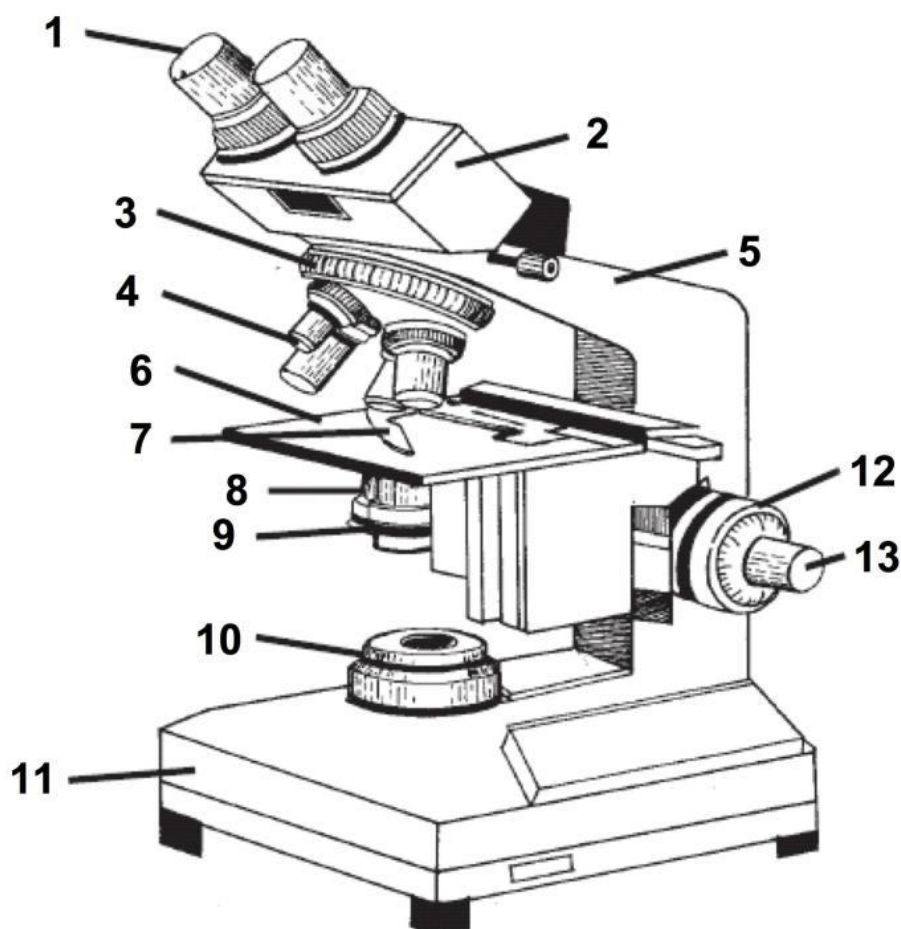
La source lumineuse : qui peut être une lampe électrique ou un miroir orientable

Le condensateur : il concentre la lumière avant de traverser l'objet

Le tube optique : est un ensemble de lentille à l'extrémité de ce tube on trouve l'**oculaire** et à l'autre extrémité l'**objectif** .

Remarque :

Pour calculer le grossissement d'un microscope optique on multiplie le grossissement de l'oculaire par celui de l'objectif . $G_T = G_{ocu} * G_{obj}$



1	Oculaire	9	Condensateur
2	Tube optique	10	Source lumineuse
		11	Base
4	Objectif	12	Vis macrométrique
5	Potence	13	Vis micrométrique
6	Platine		

Les conditions d'utilisation d'un microscope optique :

L'épaisseur : pour faire un examen microscopique , les photons doivent traverser l'objet , ce que nécessite une épaisseur très faible , ce que nécessite de couper l'objet ou de l'étaler sur la lame en verre .

Le contraste : l'observation microscopique nécessite que certaine structure cellulaire doivent absorber les photons plus que d'autre , généralement on augmente le contraste par des colorants chimiques

Les échantillons destinés à l'observation microscopique on divise en deux groupes :

Échantillons nécessitant la technique des coupes , échantillons nécessitant des frottis .

Le technique de coupe :

- la préparation du coupe pour examen microscopique nécessite les étapes suivantes :

1- La fixation :

Elle a comme but de tuer les cellules dans un état aussi naturel que possible

La fixation elle peut être physique ou chimique .

La fixation chimique : par des produits chimiques comme l'alcool , le formol , l'acide acétique .. etc.

La fixation physique : par la congélation à basse température pour empêcher l'autolyse .

2- Inclusion :

Les coupes de quelques microns d'épaisseur ne peuvent être réalisées si la dureté de l'échantillon doit être convenable .

Ce qui nécessite de remplacer l'eau incluse dans les échantillons (eau cellulaire) par la paraffine (le milieu d'inclusion)

Ce remplacement n'est pas directement possible , on doit en premier temps déshydrater les échantillons par une série d'alcool à degrés croissants , puis on remplace l'alcool par le solvant de paraffine .

Puis on remplace le solvant par la paraffine même , lors que les échantillons doivent être imprégnés on prépare un bloc homogène pour faciliter la dissection .

3- La coupe : la coupe elle se réalise à l'aide d'un appareil appelé le microtome qui permet d'avoir des coupes d'une épaisseur de 2 à 10 μm .

4- La coloration : après les étapes précédentes , il faut augmenter les contraste de coups obtenu (sur la lame) on utilisons les colorant mais la plupart du colorant sont des solution aqueuses ce que nécessite de déparaffiner d'abord les coups réparer par le solvant de paraffine (xylène) puis par l'alcool puis on ajout de colorant .

La préparation de frottis

Déposez une gouttelette de sang près de l'extrémité d'une lame, mettez l'extrémité d'une seconde lame en contact avec la gouttelette et laissez cette dernière s'incliner également derrière adhérer derrière la lame. L'angle entre les deux lames doit être de 30 à 40 degrés. Poussez maintenant vers la gauche dans un mouvement fluide et rapide. Le frottis devrait couvrir près de la moitié de la lame.

Fixation : par ajout de l'alcool éthylique ou méthylique à 95 % ou bien par la chaleur de bec-benzène

Coloration : à partir du bleu de méthylène et de l'éosine .

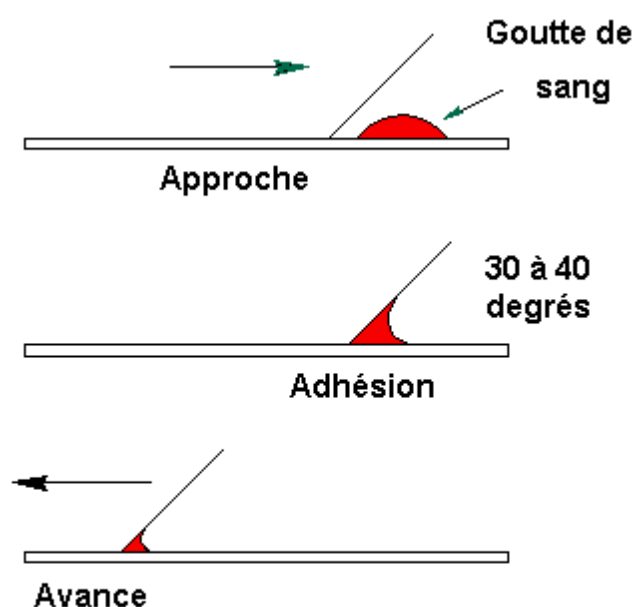


Fig. 7 - Comment préparer un frottis sanguin