

# ANNEXE

## Alignement du microscope à contraste de phase

### 1-Préambule



Le condenseur spécial pour le contraste de phase doit être monté dans le microscope et les objectifs pour contraste de phase, vissés sur la tourelle en lieu et place des objectifs pour fond clair. Ce condenseur spécial se compose d'une tige de guidage qui positionne les lames de contraste de phase.

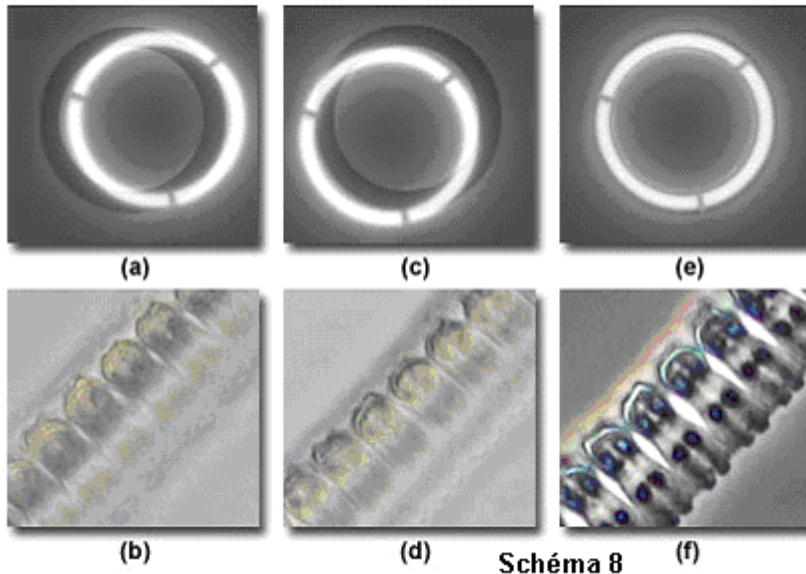


Premièrement, enlever le condenseur présent, puis le remplacer par le condensateur spécial. Pour le positionner correctement, remonter la platine au maximum, en s'assurant de ne pas toucher les objectifs. Une fois introduit, le fixer grâce à la vis de serrage.

Réaliser le réglage de Koehler tout en étant sur la position fond clair (position centrale) pour la tige de guidage.

## 2-Méthode de réglage

### Alignement du système d'optique de contraste de phase



Les étapes suivantes sont recommandées pour l'alignement d'un microscope à contraste de phase.

- Ne placer aucun spécimen sur la platine et mettre l'objectif à contraste de phase 10Ph (équivalent à l'objectif 10x) dans le chemin optique. Déplacer la tige de guidage pour placer dans le chemin optique la lame de contraste de phase 10 correspondante. Examiner la position du levier de diaphragme d'ouverture de condenseur et le déplacer dans la position d'iris la plus large.
- Enlever un des oculaires du microscope et insérer l'oculaire de centrage (CT) dans le tube d'observation.
- En regardant à travers l'oculaire de centrage, ajuster la focalisation jusqu'à ce que l'anneau de phase dans l'objectif soit focalisé correctement. Pour cela, desserrer la vis de l'oculaire de centrage, et reculer la partie amovible jusqu'à obtenir la focalisation voulue. Deux anneaux doivent apparaître, un lumineux et l'autre plus sombre. Dans beaucoup de cas, le microscope ne sera pas aligné et les deux anneaux ne se recouvrent pas correctement (comme illustré sur le schéma (a) et le schéma (c)).
- Utiliser les vis de centrage, pour l'anneau du condenseur (lumineux), qui se trouvent à l'avant. Pour cela, appuyer dessus pour les activer puis les faire tourner pour déplacer l'anneau lumineux. Ajuster la position de l'anneau lumineux jusqu'à ce qu'elle coïncide avec l'anneau de phase d'objectif sombre (le schéma (e)).
  - Nota : ne pas essayer d'ajuster la position de l'anneau du condenseur avec la vis de serrage du condenseur. Cette action ne réalisera probablement pas l'alignement de l'anneau du condenseur et risque de modifier le réglage de Koehler réalisé initialement.
- Si l'anneau du condenseur n'est pas correctement centré, un bord en croissant lumineux apparaît. D'où l'importance d'effectuer correctement ce réglage.
- Si l'image d'anneau du condenseur est différente en taille à celle de l'anneau de phase d'objectif, vérifier si une lamelle d'anneau non adaptée a été installée dans le condenseur (cause la plus probable). C'est-à-dire que la mauvaise lame de contraste de phase a été placée dans le chemin optique.

- Quand l'anneau du condenseur et l'anneau de phase d'objectif sont alignés, l'image illustrée sur le schéma 1(e) devrait apparaître dans l'oculaire de centrage. A ce stade, le microscope est correctement configuré pour l'observation du spécimen avec illumination de contraste de phase.
- Remplacer l'oculaire de centrage par l'oculaire normal et examiner le spécimen. Le fond devrait apparaître en couleur gris neutre (selon la densité de l'anneau de phase d'objectif). Le spécimen sera visible avec un contraste élevé.

Nota : le protocole précédent peut être réalisé avec l'objectif à contraste de phase 40Ph (équivalent à l'objectif 40). Il faut cependant dans ce cas-là déplacer la tige de guidage pour placer dans le chemin optique la lame de contraste de phase 40 correspondante.

### 3-Observation

Une fois que le microscope a été aligné pour le contraste de phase, il conserve généralement son centrage pour un nombre considérable de changements d'objectifs ou d'anneaux, mais il doit être vérifié périodiquement pour assurer l'alignement. Si l'alignement du microscope dérive, l'observation aux oculaires (ou l'image sur un moniteur d'ordinateur) apparaît dans les oculaires de plus en plus comme celle obtenue avec illumination de fond clair.

L'important pour obtenir des images réussies avec illumination de contraste de phase est d'aligner correctement le microscope, et de s'assurer que des spécimens suffisamment minces sont utilisés dans le milieu de support sur la lamelle du microscope. Les images faites avec les spécimens excessivement épais souffrent souvent de non focalisation et il peut être difficile d'interpréter les inversions de contrastes. Si le microscope est utilisé pendant une période prolongée, vérifier de temps en temps le plan focal image pour s'assurer de l'alignement de l'anneau du condenseur avec l'anneau de phase dans l'objectif.