

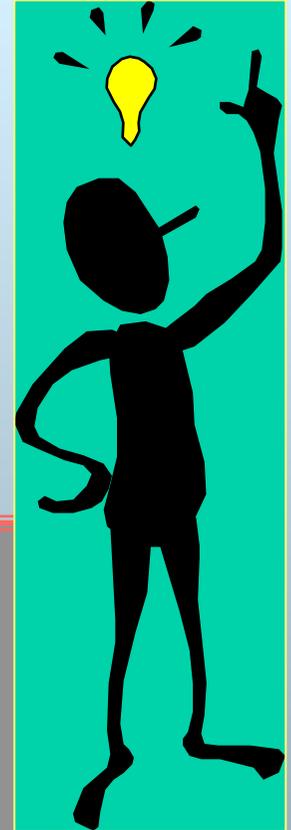
# **TRAVAUX PRATIQUES** **de microscopie**

**5ème partie !**

**Les outils de coupes**

**Aujourd'hui :  
du travail de précision :**

**LES COUPES AU  
MICROTOME !**



1. La méthode la plus simple :

## **LA COUPE à MAIN LEVEE**

- **Une lame de rasoir mécanique**
- **Un peu (beaucoup .....) d'habileté**
- **le travail est plus précis sous la loupe binoculaire**
- **Coupes valables minuscules, de l'ordre de 25 à 30  $\mu\text{m}$**
- **Coût : dérisoire ...**

2. Nettement plus élaboré :

## **Le MICROTOME de RANVIER**

- **Un rasoir spécial prévu à cet effet**
- **Un morceau de polystyrène extrudé (ou de moelle de sureau)**
- **Un dispositif d'avance micrométrique**
- **Plus besoin de travailler sous la loupe binoculaire**
- **Précision de l'ordre de 15 à 20  $\mu\text{m}$  (... 10  $\mu\text{m}$ )**
- **Coût : environ 130,00 Euro**



3. Une autre possibilité :

## **Le MICROTOME à GLISSIERE**

- **Se fixe sur une table et libère donc les deux mains**
- **nécessité de pratiquer l'INCLUSION**
- **Un dispositif d'avance micrométrique**
- **Plus besoin de travailler sous la loupe binoculaire**
- **Précision de l'ordre de 10 à 15  $\mu\text{m}$  (... 8  $\mu\text{m}$ )**
- **Coût : environ 200,00 Euro, sans aménagements**



4. Le matériel de laboratoire :

## **Le MICROTOME AUTOMATIQUE**

- **Ici, un modèle manuel à capot**
- **nécessité de pratiquer l'INCLUSION**
- **Un dispositif d'avance micrométrique**
- **Précision de l'ordre de 1  $\mu\text{m}$  (3  $\mu\text{m}$  utile)**
- **Coût : environ 500 à 700,00 Euro, en occasion**



NATUURSTEENGROOTHANDEL  
VANDENBROUCKE-DETOLENBRIE N.V.  
Tijlsterdijk 100 • 3720 XG WAREMMAN  
TELEFON 24 11 • TELEGRAM 1511  
RIBBON 24 11

SEPT.	AUG.	SEPT.	OCT.	NOV.	DECE.	JANU.
1	2	3	4	5	6	7
8	9	10	11	12	13	14
15	16	17	18	19	20	21
22	23	24	25	26	27	28
29	30	31	1	2	3	4
5	6	7	8	9	10	11
12	13	14	15	16	17	18
19	20	21	22	23	24	25
26	27	28	29	30	31	1
2	3	4	5	6	7	8
9	10	11	12	13	14	15
16	17	18	19	20	21	22
23	24	25	26	27	28	29
30	31	1	2	3	4	5
6	7	8	9	10	11	12
13	14	15	16	17	18	19
20	21	22	23	24	25	26
27	28	29	30	31	1	2
3	4	5	6	7	8	9
10	11	12	13	14	15	16
17	18	19	20	21	22	23
24	25	26	27	28	29	30
31	1	2	3	4	5	6
7	8	9	10	11	12	13
14	15	16	17	18	19	20
21	22	23	24	25	26	27
28	29	30	31	1	2	3
4	5	6	7	8	9	10
11	12	13	14	15	16	17
18	19	20	21	22	23	24
25	26	27	28	29	30	31
1	2	3	4	5	6	7
8	9	10	11	12	13	14
15	16	17	18	19	20	21
22	23	24	25	26	27	28
29	30	31	1	2	3	4
5	6	7	8	9	10	11
12	13	14	15	16	17	18
19	20	21	22	23	24	25
26	27	28	29	30	31	1
2	3	4	5	6	7	8
9	10	11	12	13	14	15
16	17	18	19	20	21	22
23	24	25	26	27	28	29
30	31	1	2	3	4	5
6	7	8	9	10	11	12
13	14	15	16	17	18	19
20	21	22	23	24	25	26
27	28	29	30	31	1	2
3	4	5	6	7	8	9
10	11	12	13	14	15	16
17	18	19	20	21	22	23
24	25	26	27	28	29	30
31	1	2	3	4	5	6
7	8	9	10	11	12	13
14	15	16	17	18	19	20
21	22	23	24	25	26	27
28	29	30	31	1	2	3
4	5	6	7	8	9	10
11	12	13	14	15	16	17
18	19	20	21	22	23	24
25	26	27	28	29	30	31
1	2	3	4	5	6	7
8	9	10	11	12	13	14
15	16	17	18	19	20	21
22	23	24	25	26	27	28
29	30	31	1	2	3	4
5	6	7	8	9	10	11
12	13	14	15	16	17	18
19	20	21	22	23	24	25
26	27	28	29	30	31	1
2	3	4	5	6	7	8
9	10	11	12	13	14	15
16	17	18	19	20	21	22
23	24	25	26	27	28	29
30	31	1	2	3	4	5
6	7	8	9	10	11	12
13	14	15	16	17	18	19
20	21	22	23	24	25	26
27	28	29	30	31	1	2
3	4	5	6	7	8	9
10	11	12	13	14	15	16
17	18	19	20	21	22	23
24	25	26	27	28	29	30
31	1	2	3	4	5	6
7	8	9	10	11	12	13
14	15	16	17	18	19	20
21	22	23	24	25	26	27
28	29	30	31	1	2	3
4	5	6	7	8	9	10
11	12	13	14	15	16	17
18	19	20	21	22	23	24
25	26	27	28	29	30	31
1	2	3	4	5	6	7
8	9	10	11	12	13	14
15	16	17	18	19	20	21
22	23	24	25	26	27	28
29	30	31	1	2	3	4
5	6	7	8	9	10	11
12	13	14	15	16	17	18
19	20	21	22	23	24	25
26	27	28	29	30	31	1
2	3	4	5	6	7	8
9	10	11	12	13	14	15
16	17	18	19	20	21	22
23	24	25	26	27	28	29
30	31	1	2	3	4	5
6	7	8	9	10	11	12
13	14	15	16	17	18	19
20	21	22	23	24	25	26
27	28	29	30	31	1	2
3	4	5	6	7	8	9
10	11	12	13	14	15	16
17	18	19	20	21	22	23
24	25	26	27	28	29	30
31	1	2	3	4	5	6
7	8	9	10	11	12	13
14	15	16	17	18	19	20
21	22	23	24	25	26	27
28	29	30	31	1	2	3
4	5	6	7	8	9	10
11	12	13	14	15	16	17
18	19	20	21	22	23	24
25	26	27	28	29	30	31
1	2	3	4	5	6	7
8	9	10	11	12	13	14
15	16	17	18	19	20	21
22	23	24	25	26	27	28
29	30	31	1	2	3	4
5	6	7	8	9	10	11
12	13	14	15	16	17	18
19	20	21	22	23	24	25
26	27	28	29	30	31	1
2	3	4	5	6	7	8
9	10	11	12	13	14	15
16	17	18	19	20	21	22
23	24	25	26	27	28	29
30	31	1	2	3	4	5
6	7	8	9	10	11	12
13	14	15	16	17	18	19
20	21	22	23	24	25	26
27	28	29	30	31	1	2
3	4	5	6	7	8	9
10	11	12	13	14	15	16
17	18	19	20	21	22	23
24	25	26	27	28	29	30
31	1	2	3	4	5	6
7	8	9	10	11	12	13
14	15	16	17	18	19	20
21	22	23	24	25	26	27
28	29	30	31	1	2	3
4	5	6	7	8	9	10
11	12	13	14	15	16	17
18	19	20	21	22	23	24
25	26	27	28	29	30	31
1	2	3	4	5	6	7
8	9	10	11	12	13	14
15	16	17	18	19	20	21
22	23	24	25	26	27	28
29	30	31	1	2	3	4
5	6	7	8	9	10	11
12	13	14	15	16	17	18
19	20	21	22	23	24	25
26	27	28	29	30	31	1
2	3	4	5	6	7	8
9	10	11	12	13	14	15
16	17	18	19	20	21	22
23	24	25	26	27	28	29
30	31	1	2	3	4	5
6	7	8	9	10	11	12
13	14	15	16	17	18	19
20	21	22	23	24	25	26
27	28	29	30	31	1	2
3	4	5	6	7	8	9
10	11	12	13	14	15	16
17	18	19	20	21	22	23
24	25	26	27	28	29	30
31	1	2	3	4	5	6
7	8	9	10	11	12	13
14	15	16	17	18	19	20
21	22	23	24	25	26	27
28	29	30	31	1	2	3
4	5	6	7	8	9	10
11	12	13	14	15	16	17
18	19	20	21	22	23	24
25	26	27	28	29	30	31
1	2	3	4	5	6	7
8	9	10	11	12	13	14
15	16	17	18	19	20	21
22	23	24	25	26	27	28
29	30	31	1	2	3	4
5	6	7	8	9	10	11
12	13	14	15	16	17	18
19	20	21	22	23	24	25
26	27	28	29	30	31	1
2	3	4	5	6	7	8
9	10	11	12	13	14	15
16	17	18	19	20	21	22
23	24	25	26	27	28	29
30	31	1	2	3	4	5
6	7	8	9	10	11	12
13	14	15	16	17	18	19
20	21	22	23	24	25	26
27	28	29	30	31	1	2
3	4	5	6	7	8	9
10	11	12	13	14	15	16
17	18	19	20	21	22	23
24	25	26	27	28	29	30
31	1	2	3	4	5	6
7	8	9	10	11	12	13
14	15	16	17	18	19	20
21	22	23	24	25	26	27
28	29	30	31	1	2	3
4	5	6	7	8	9	10
11	12	13	14	15	16	17
18	19	20	21	22	23	24
25	26	27	28	29	30	31
1	2	3	4	5	6	7
8	9	10	11	12	13	14
15	16	17	18	19	20	21
22	23	24	25	26	27	28
29	30	31	1	2	3	4
5	6	7	8	9	10	11
12	13	14	15	16	17	18
19	20	21	22	23	24	25
26	27	28	29	30	31	1
2	3	4	5	6	7	8
9	10	11	12	13	14	15
16	17	18	19	20	21	22
23	24	25	26	27	28	29
30	31	1	2	3	4	5
6	7	8	9	10	11	12
13	14	15	16	17	18	19
20	21	22	23	24	25	26
27	28	29	30	31	1	2
3	4	5	6	7		

# Les diverses étapes pour la préparation de coupes à destination définitive

## 1. La **FIXATION** :

- il s'agit de figer les divers composants des cellules et les rendre « accessibles » aux colorants
- durée : de 8 à 24 heures



- À gauche, le fixateur de Bouin-Hollande (la couleur verte est due à l'acide picrique combiné au cuivre)
- A droite, l'AFA (Alcool Formolé Acétique)
- Les fixateurs sont innombrables ..... Et le choix peut se révéler difficile !

## **2. La COLORATION :**

- il s'agit de COLORER les divers composants des cellules afin de les rendre plus visibles et plus interprétables .....**
- Durée : de 2 à 8 heures**



Pour des objets volumi-  
neux, on pratique une  
coloration de masse (ici  
dans des éprouvettes de 10  
cc...)



**Pour des petits objets, on pratique des essais de coloration dans des plaques en porcelaine, à cavités multiples ....**

### **3. L' INCLUSION :**

- Il s'agit d'enrober très intimement le moindre recoin de la pièce à traiter afin de l'immobiliser complètement dans une masse rigide**
- Durée : 8 heures**



Le matériel nécessaire ....

## Quelques règles essentielles :

- En mycologie, la paraffine est à exclure
- Nous utilisons le PEG (PolyEthylèneGlycol)
- La 1ère partie de l'inclusion se fait dans du PEG 4000
- Le second bain est du PEG 20000
- Toutes ces opérations se réalisent à chaud (température de fonte : 55-60° C)



Le résultat final : des blocs de  $2 \text{ cm}^3$  prêts pour la coupe....

On peut aussi utiliser le PVA (Alcool PolyVinylique) ....

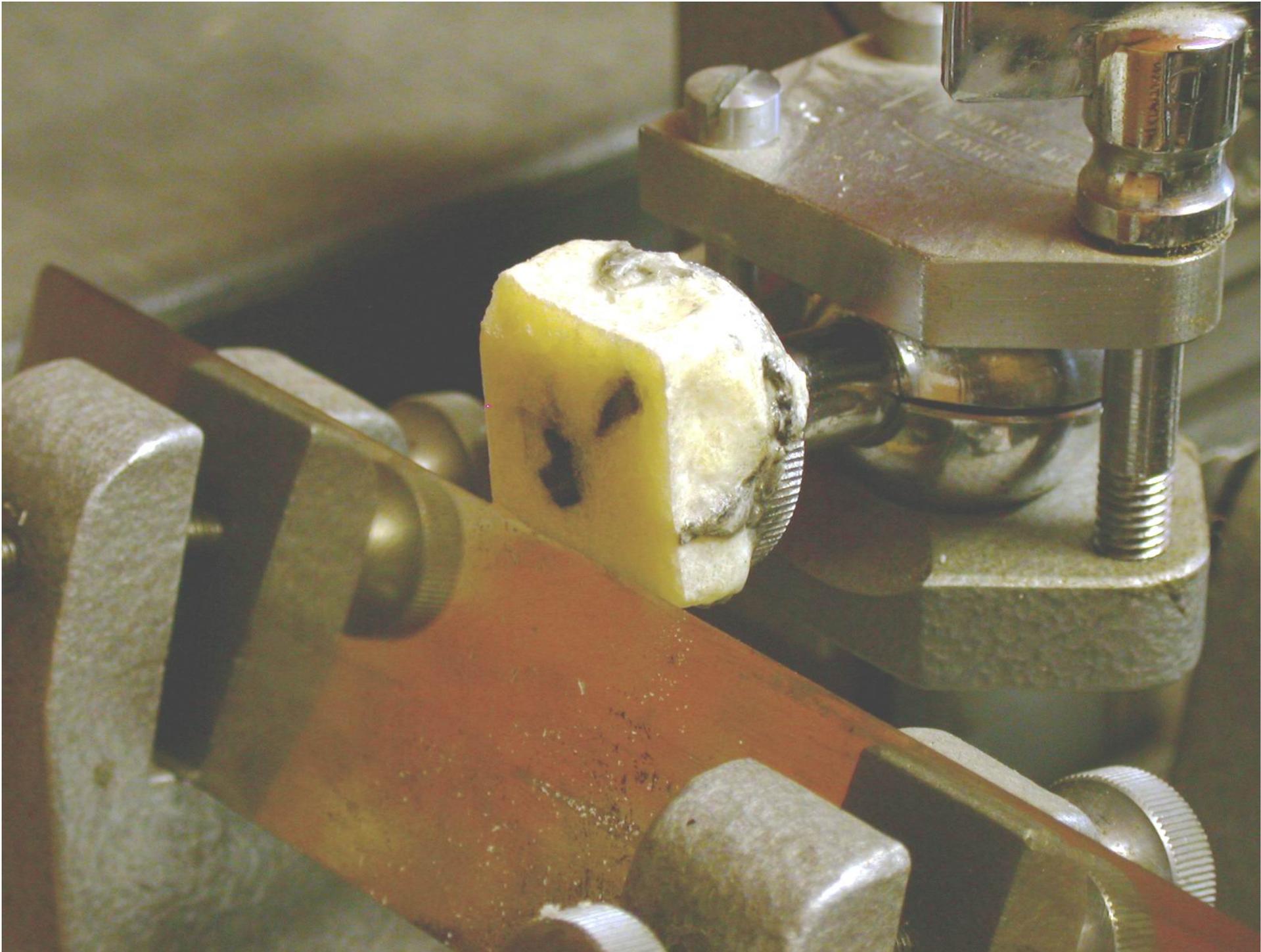


## **4. La COUPE :**

- Elle nécessite une lame au tranchant parfait, qui doit être vérifié à la loupe binoculaire**
- Seul le microtome automatique permet d'obtenir des résultats uniformes**

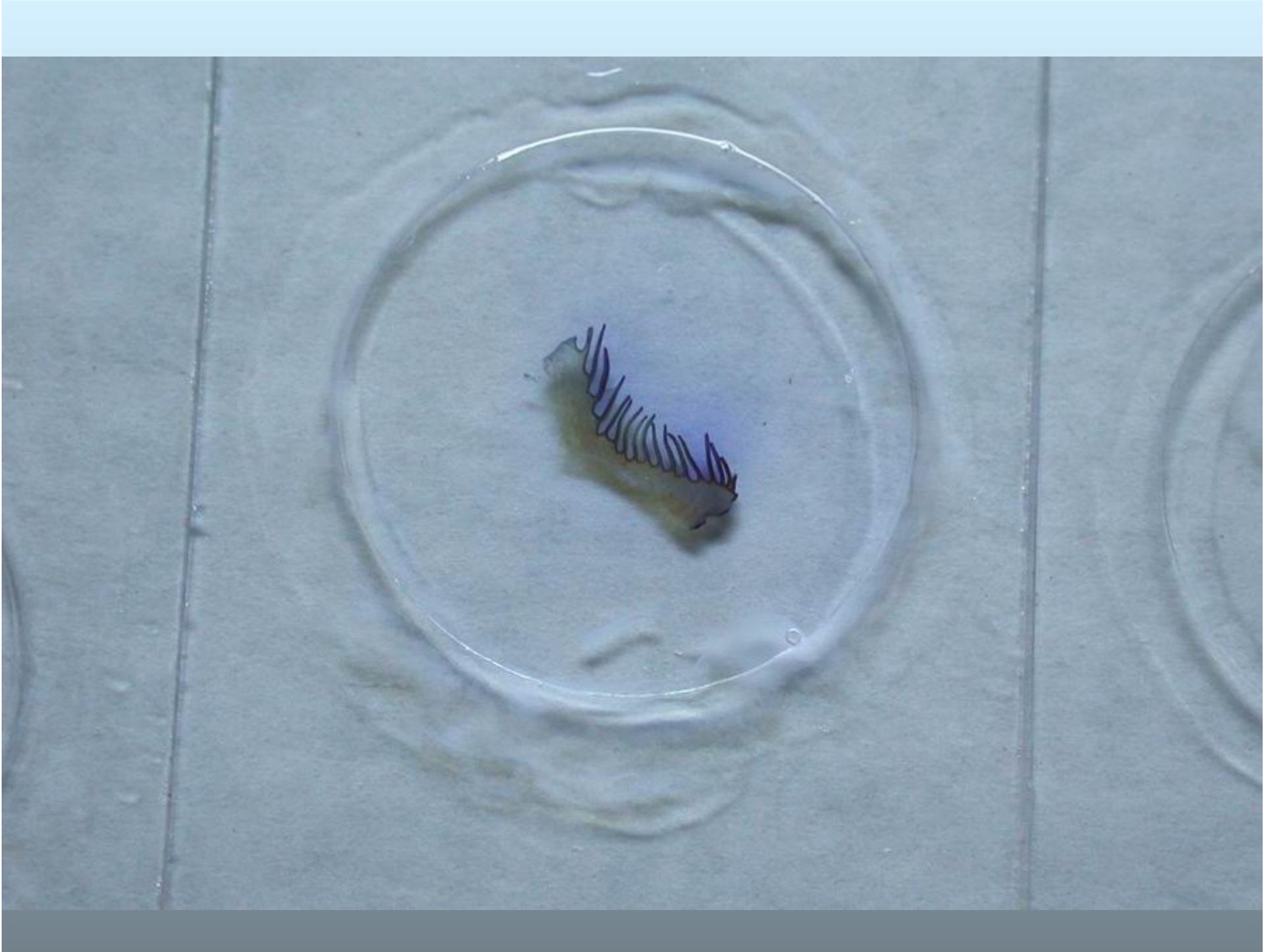


Le microtome automatique manuel de MINOT

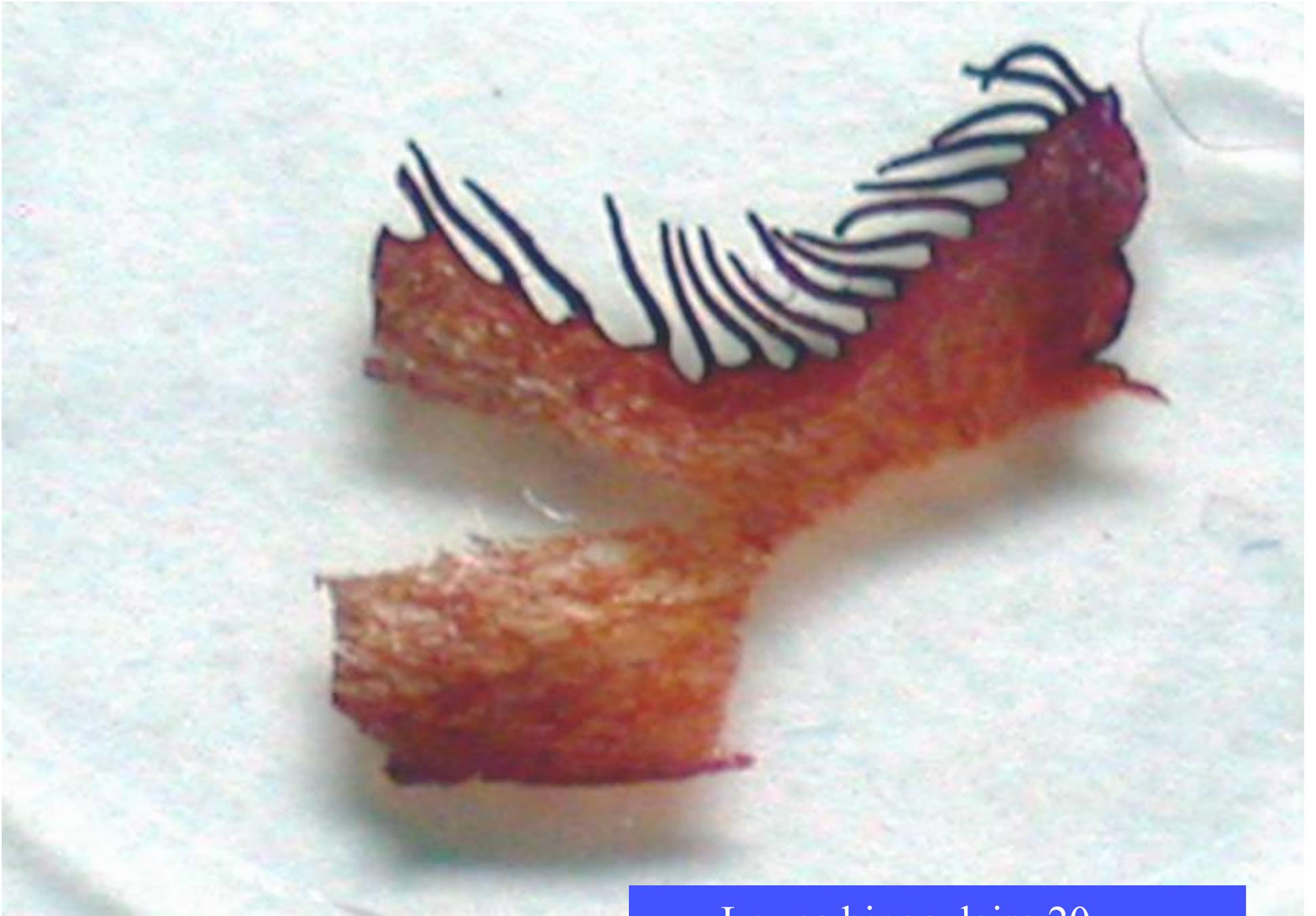


## **5. Le MONTAGE sur lame :**

- Si on a consacré tellement de temps à ce travail, c'est pour en conserver des traces indélébiles**
- Utilisation de LCO rondes**
- Milieu de montage : Conservateur de Hoyer, Glycérine Gélatinée.... Baume du Canada (sauf en mycologie)**

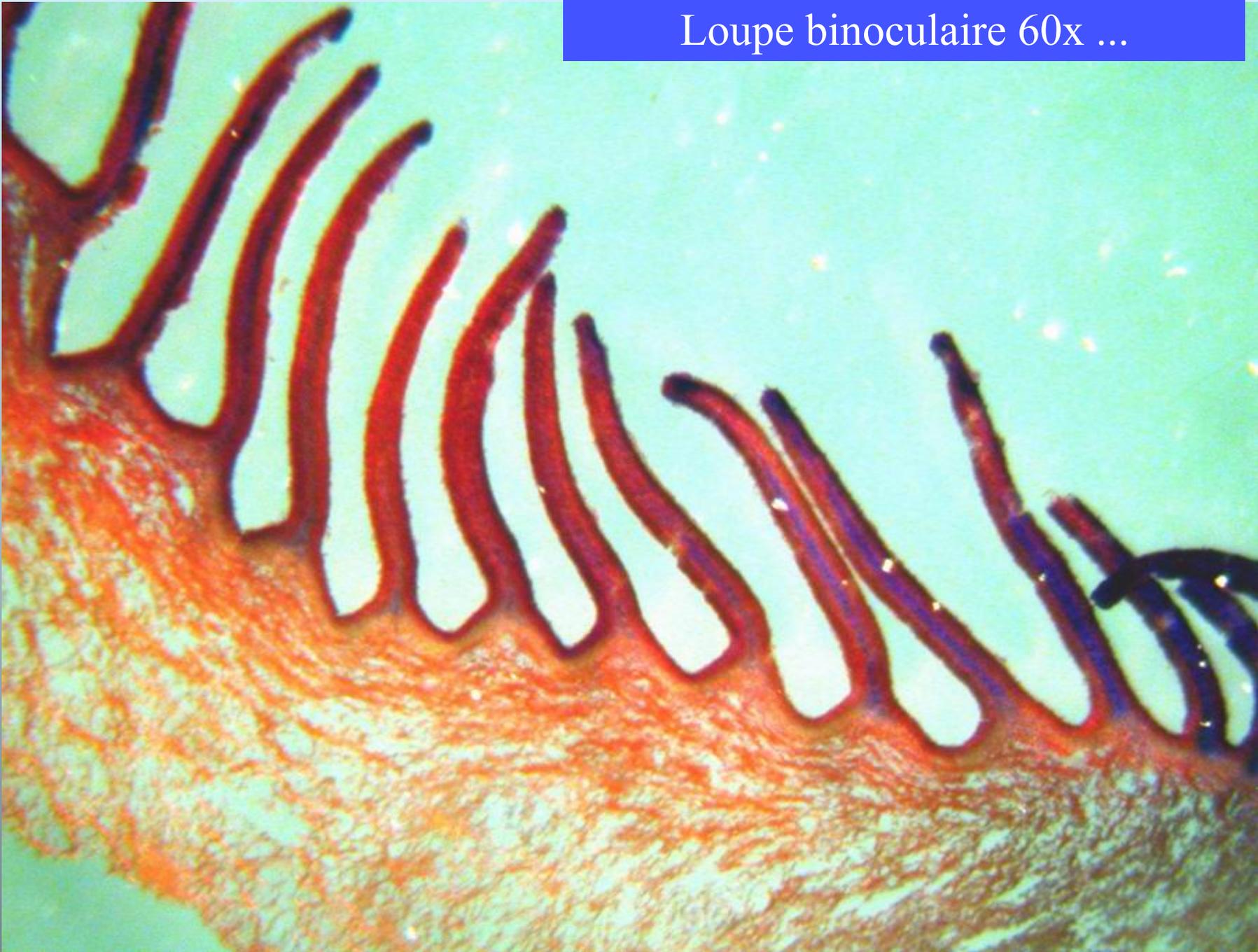


LES RESULTATS de  
tout cela !

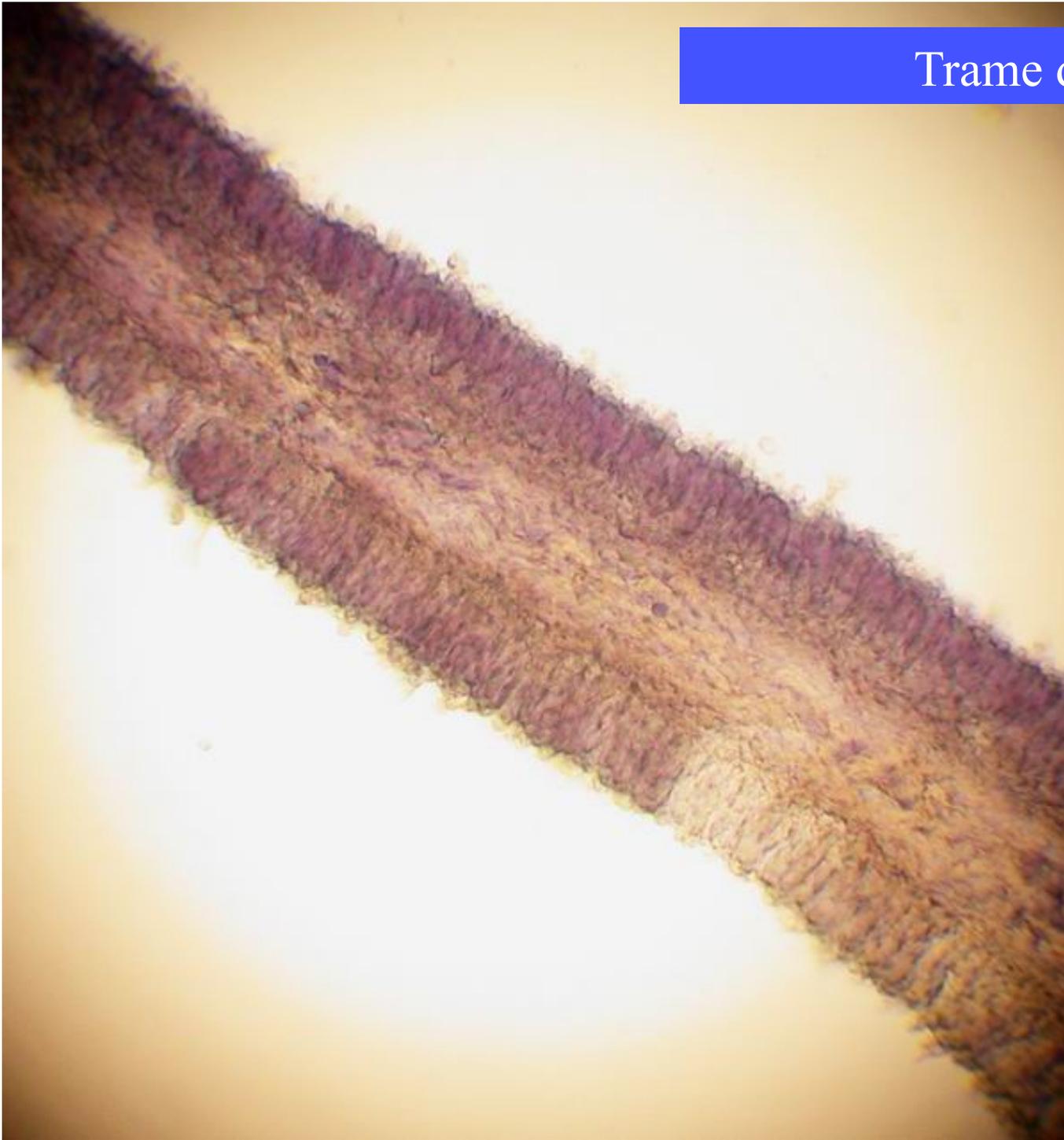


Loupe binoculaire 20x ...

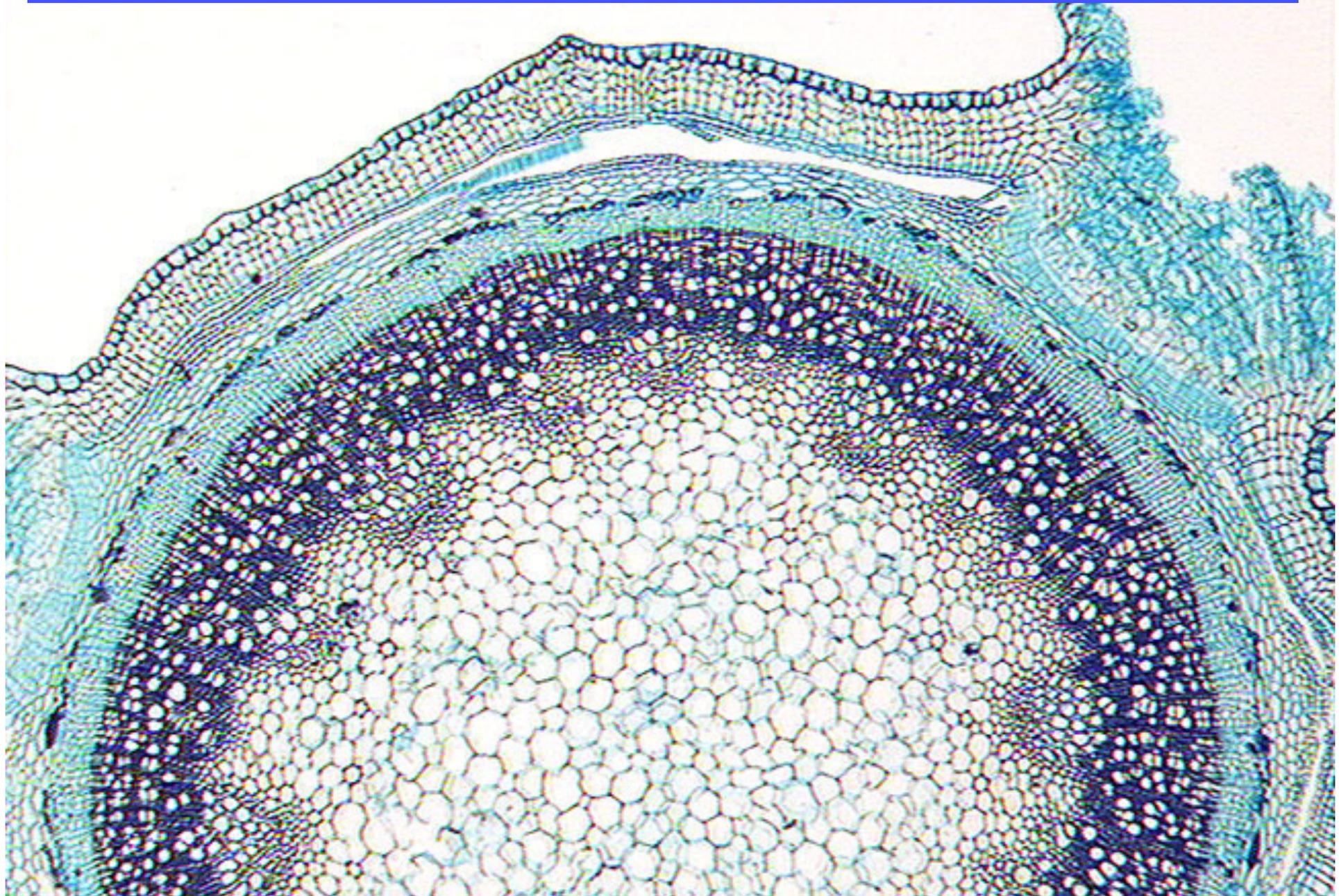
Loupe binoculaire 60x ...

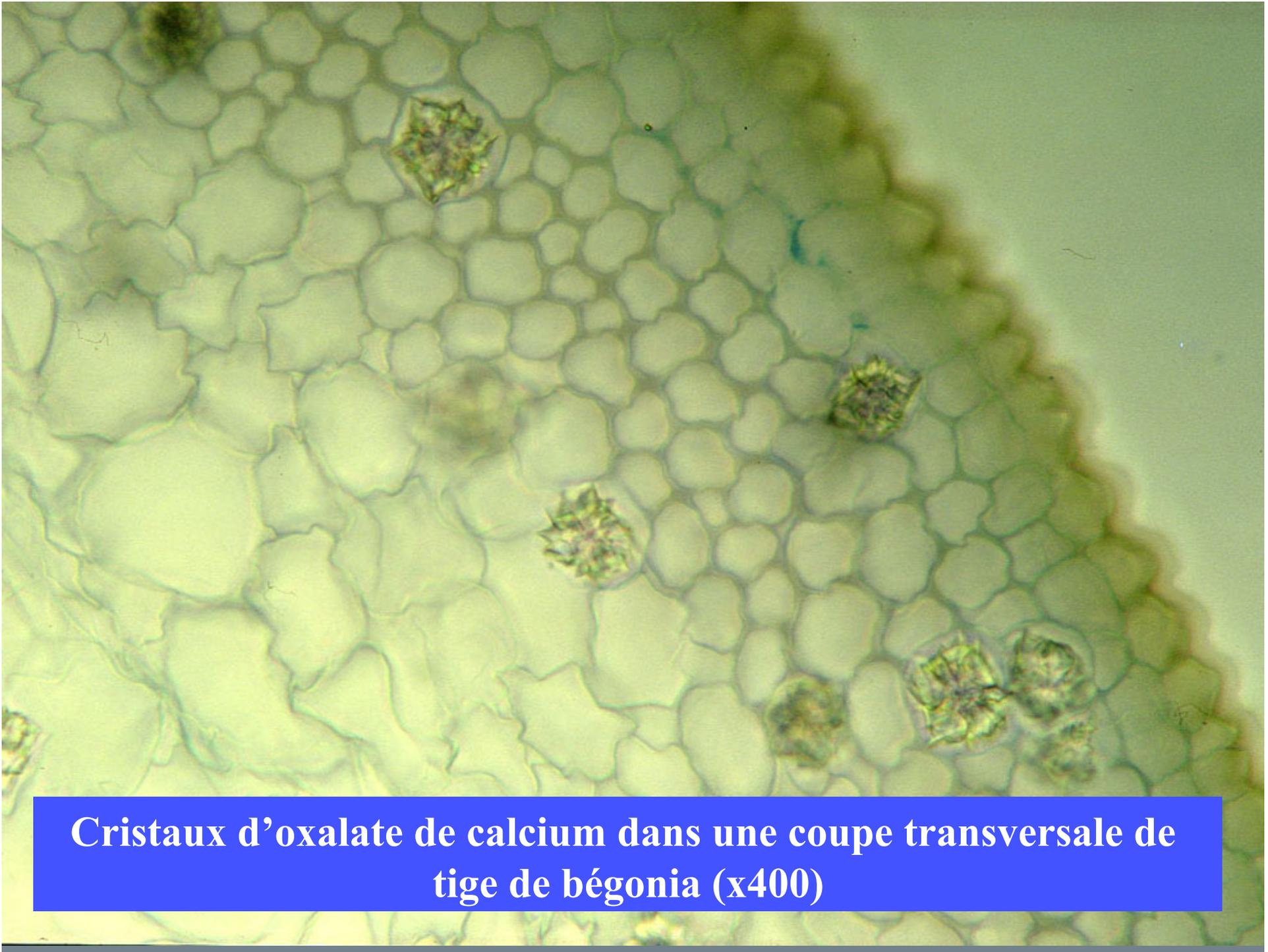


Trame de lame



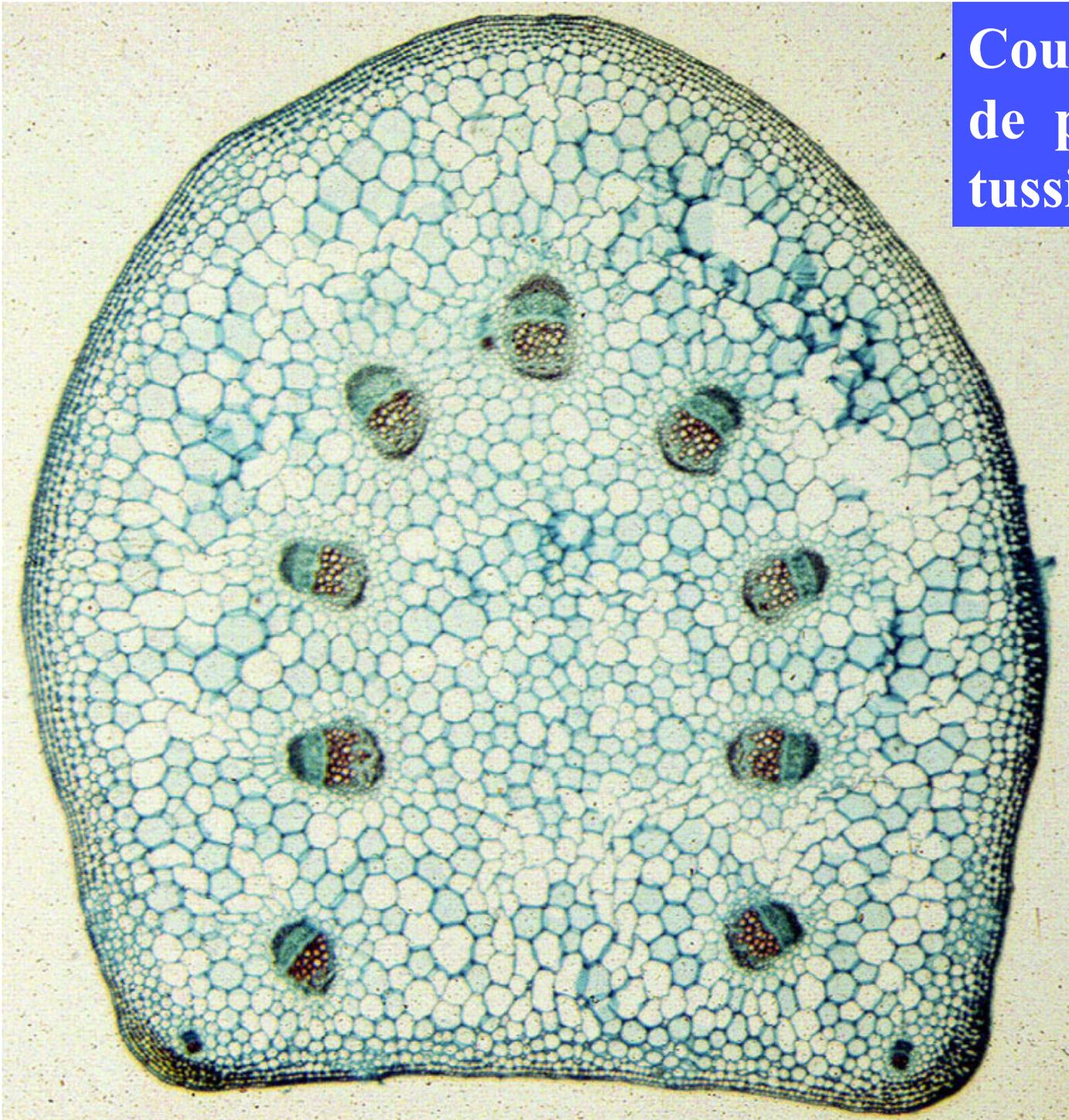
# Coupe transversale dans une tige de sureau (x 40)





**Cristaux d'oxalate de calcium dans une coupe transversale de tige de bégonia (x400)**

Coupe transversale  
de pétiole de  
tussilage (x40)



**FINN**