

Essai de 2 objectifs de « relief phase contraste » Olympus sur un microscope CK2

Comparaison avec le contraste d'Hoffman (et le contraste interférentiel)

Daniel Nardin

Pendant l'année 2009, j'ai été intrigué par des objectifs Olympus marqués d'un RP sur Ebay et j'ai voulu en savoir plus.

Cela correspond à une technique baptisée « relief phase contrast » dont j'ai trouvé la description sur une brochure publicitaire (réf. 1). Intrigué, je les ai acquis et j'ai testé en fin d'année cette technique avant de la comparer aux autres utilisables dans les mêmes circonstances : sur un microscope inversé avec des boîtes de cultures en plastique qui ne permettent pas de travailler en contraste interférentiel.

I) matériel

Je suis équipé en microscopie dans la marque Olympus. Je possède depuis longtemps un microscope BHS. Avec le développement des sites d'enchères sur internet, j'ai complété celui-ci par des accessoires et d'autres microscopes de la marque achetés d'occasion.

J'ai acheté en particulier aux états unis il y a quelques années, un **Olympus inversé CK2**. (l'alimentation est en 110v mais j'y ai adjoint un transformateur 110-220V datant du passage au 220v en France !).



Je l'ai d'abord utilisé avec des objectifs A4PL, A10PL pour lesquels les anneaux de phases étaient fournis et LWD20PL (ce dernier a une bague de réglage d'épaisseur de couvre objet de 0 à 2mm).

L'an passé, j'ai acheté les 2 objectifs **olympus** :
10x achro RP O.N.
0,25 et
40x LWDCDPlanFRP
O.N.0,55
à l'origine de cet article.

A noter, le 40x est prévu pour une épaisseur de couvre-objet de 1mm !
Alors que le 10X est pour un classique 0,17.



J'ai fabriqué des anneaux de phase correspondant pour la glissière du condenseur d'origine du CK2 mais celui-ci avait une ouverture insuffisante pour le 40X.

Or à la même époque, les hasards de l'occasion m'ont fait acheter 2 ensembles de matériel Nikon Diaphot pour le contraste d'Hoffman.

J'ai ainsi rassemblé un jeu de 3 objectifs et modulateurs HMC et j'ai **2 condenseurs Nikon d'ouverture 0,5**.

L'un a été associé aux objectifs pour contraste d'Hoffman :
plan 10x 0,25
LWD20x 0,40
LWD40x 0,50

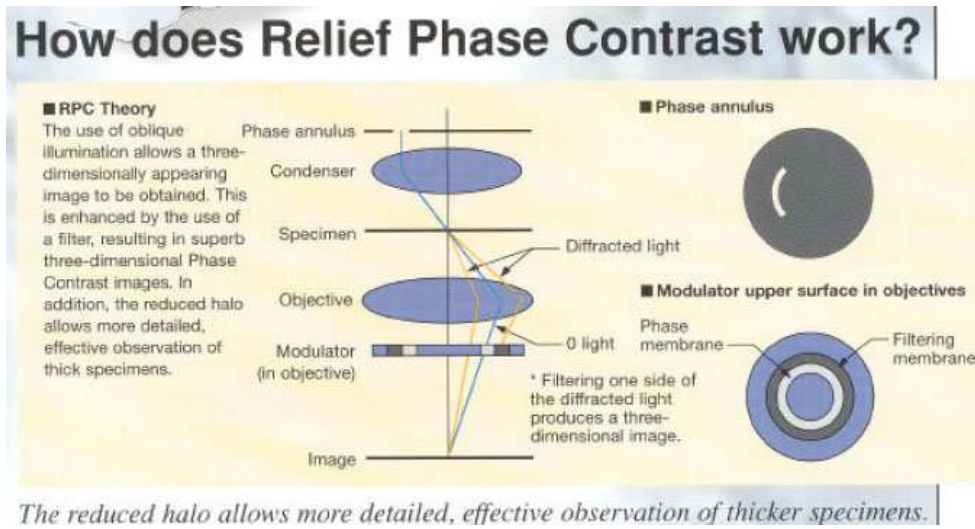
C'est maintenant mon matériel standart sur ce microscope inversé.



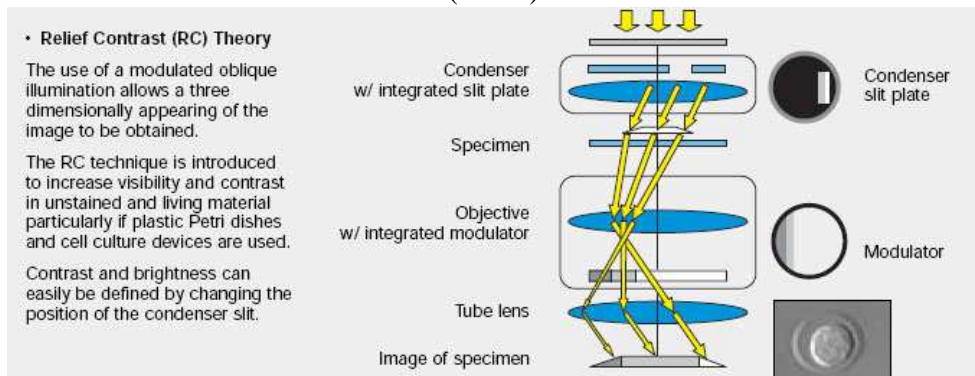
Le second de ces condenseurs Nikon à 4 orifices en tourelle, sert pour des bricolages et en particulier pour ce relief contraste .

J'ai réalisé des anneaux de phase par découpage dans du carton, en vérifiant le bon positionnement avec une lunette de centrage.

Une brochure associée aux microscopes Olympus CK (réf. 1) m'a donné un modèle pour réaliser les anneaux adaptés aux 2 objectifs pour ce « **Relief Phase Contrast (RPC)** »



Il faut noter que la brochure consacrée aux microscopes plus récents CKX (réf.2) décrit une technique différente le « **Relief contrast (RC)** » qui semble très proche du **contraste d'Hoffman (HMC)**.



Est-ce que les brevets de cette technique sont devenus exploitables par Olympus ?
Je n'ai pas les détails de l'histoire, mais mes tests en opposant les 2 techniques vont aussi séparer les 2 générations de matériels.

2) résultats des tests

Pour communiquer plus que mes impressions subjectives, j'ai réalisé quelques images avec un appareil numérique Nikon.

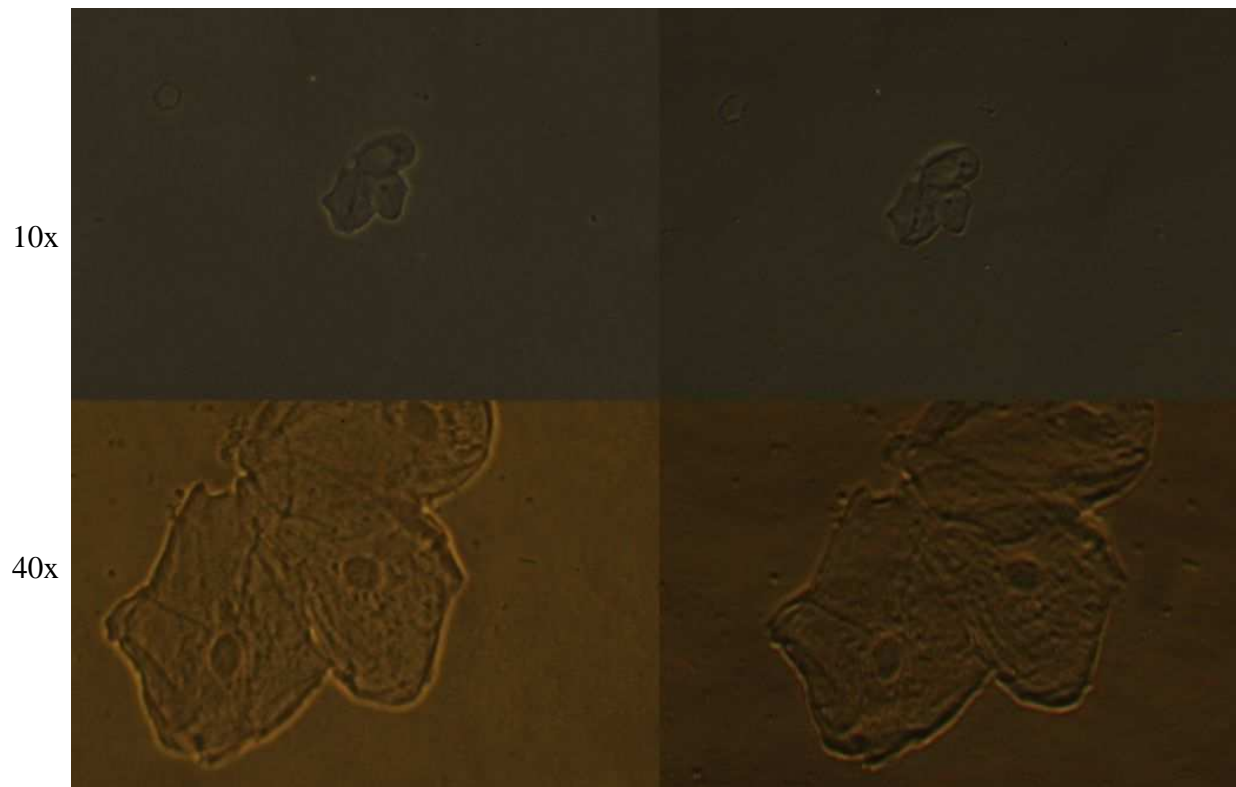
J'ai pris pour sujet à plusieurs reprises, les classiques cellules de l'épithélium buccal (grattage de l'intérieur de la joue).

Les images sont toutes rééchantillonnées pour atteindre un format de 300 pixels de large.

1ere série (à l'échelle 0,3 = 3 photosites pour 1 pixel dans l'image):

Contraste de Phase

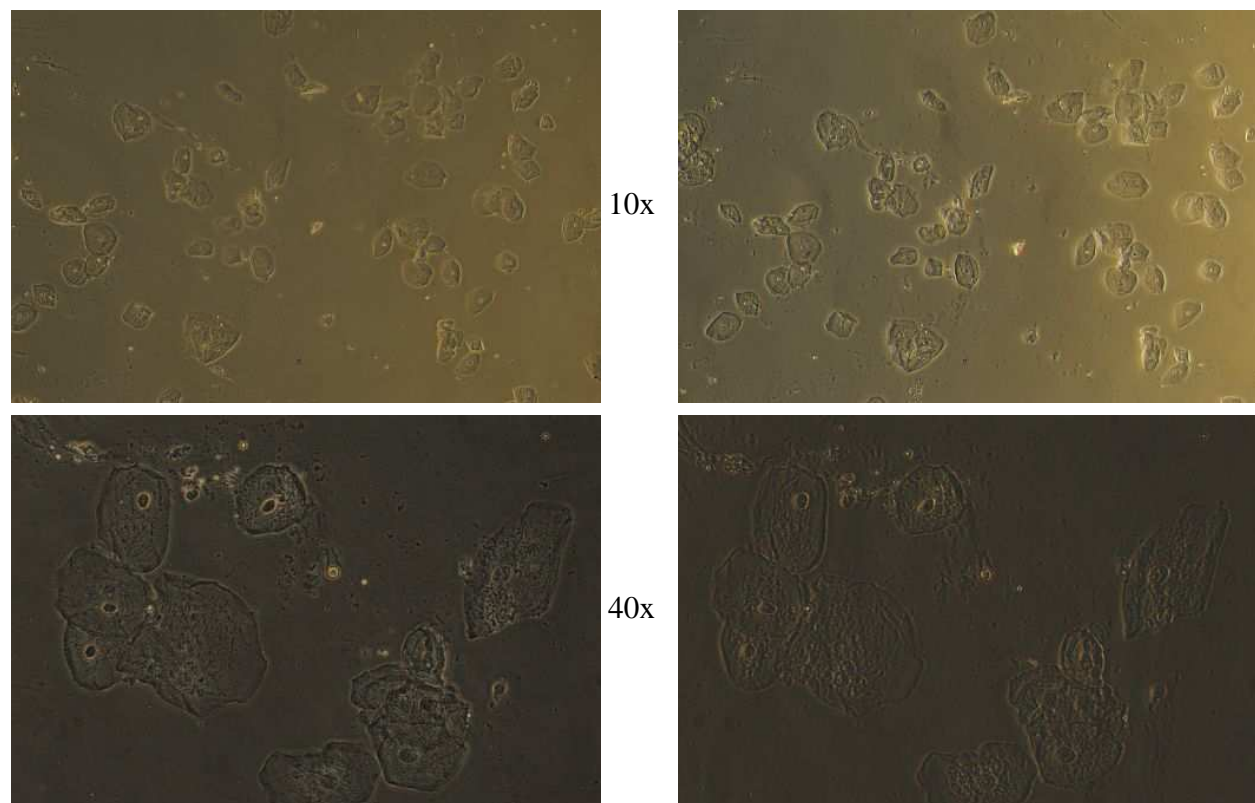
"Relief phase contrast" Olympus



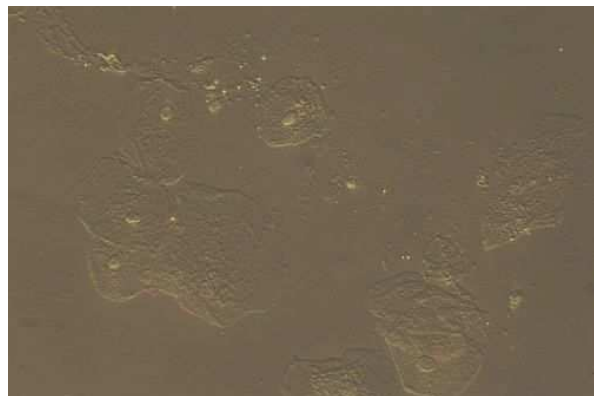
2e série (rééchantillonnée pour garder le cadre donné par le projectif NFK2,5x):

Phase

"Relief phase contrast" Olympus



A 40x, j'ai réalisé aussi des vues en contraste d'Hoffman et en contraste interférenciel mais je n'ai pas retrouvé le même champ après changement de microscope.



40x

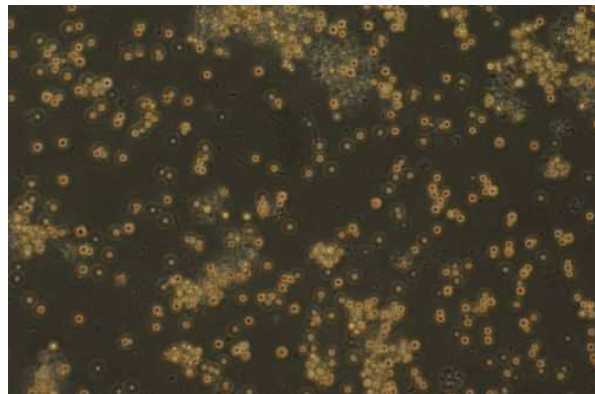
Contraste d'Hoffman



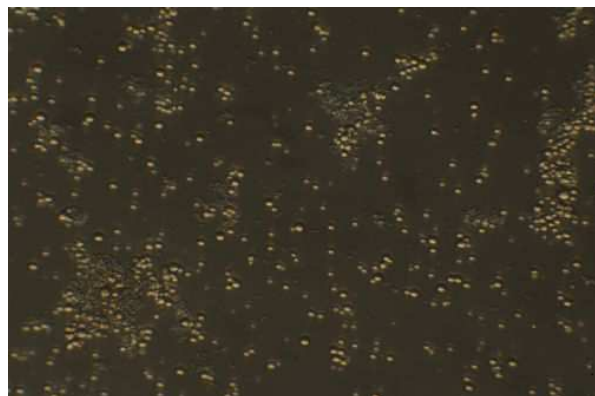
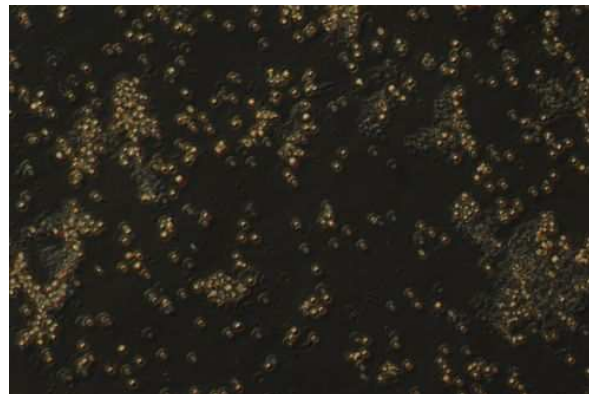
Contraste interférenciel

2e sujet test: toujours avec des objectifs 40x, observations d'une goutte de liquide surnageant d'un yaourt nature pour y repérer les bactéries responsables de la transformation du lait: lactobaciles allongés et chainettes de streptocoques, parmi des globules de graisse

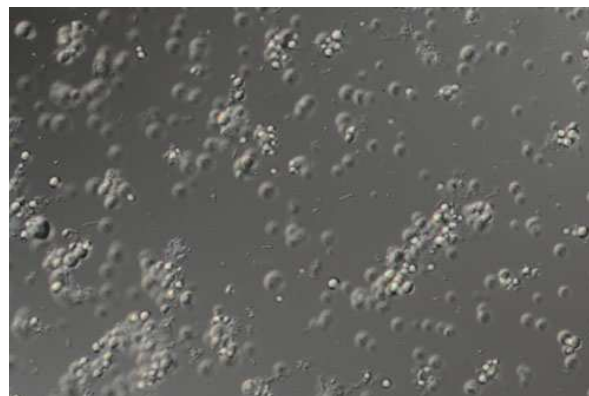
Contraste de phase



Relief phase contrast

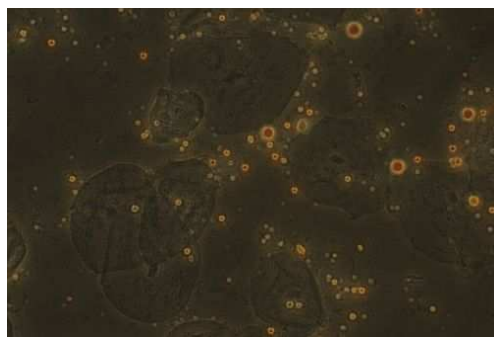


Contraste d'Hoffman

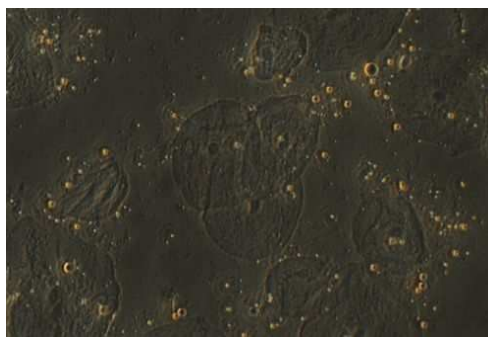


Contraste interférenciel

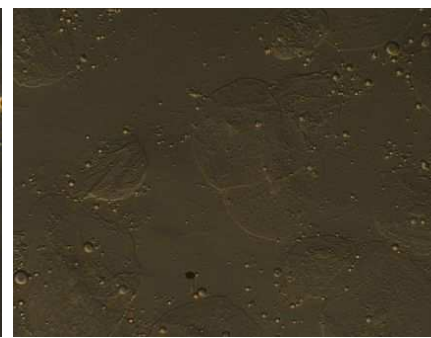
Pour terminer, 3 exemples recadrés sur une même ligne pour faciliter la comparaison:



Contraste de phase

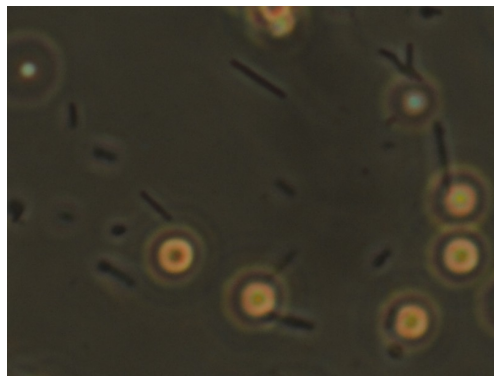


Relief phase contrast

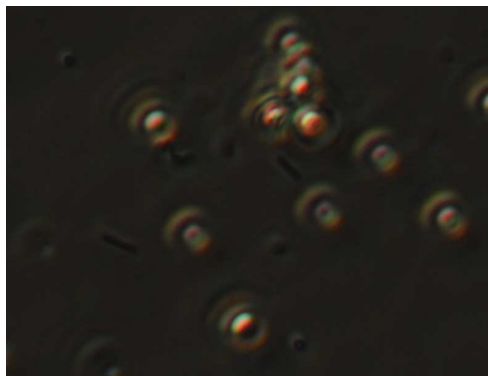


Contraste d'Hoffman

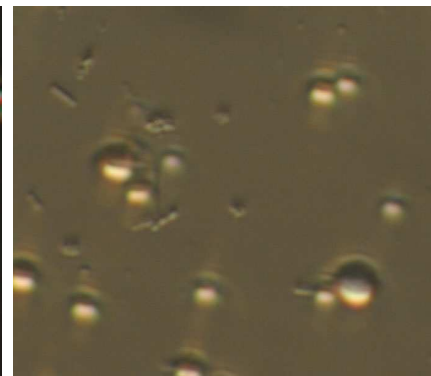
Même comparaison avec les bactéries du yaourt, cette fois, à l'échelle 1/2



Contraste de phase



Relief phase contrast



Contraste d'Hoffman

3) discussion

Ces techniques sont consommatrices de lumière. Une bonne partie du cône d'éclairage est obturée et il y a de plus une plaque de phase ou un modulateur dans l'objectif.

Les images en RPC ont globalement l'aspect du contraste de phase mais le halo n'est présent que d'un seul côté. Cela donne une légère impression de relief mais qui n'a rien à voir avec celle du CI. Cette technique RPC me semble apporter peu. Elle a pourtant été proposée récemment (2007) sous une forme voisine par un médecin travaillant en Roumanie Joerg Piper (réf. 3).

Il semble que la firme Zeiss (réf. 4) a utilisé aussi une idée voisine quelque temps (Variable relief contraste = Varel) avant de développer en 2003, un contraste interférenciel adapté aux boîtes plastiques PlasDIC. (réf. 5)

Le contraste interférenciel (CI) est bien supérieur chaque fois que l'on peut l'utiliser.

Le contraste de Hoffman (HMC) est intéressant avec du matériel en plastique incompatible avec le CI. C'est semblé t il la solution Olympus actuelle sous le nom de « Relief contrast ».

Ces techniques reliées à une illumination oblique sont toutefois intéressantes car elles n'ont qu'un faible cout et peuvent être mises en œuvre par des amateurs bricoleurs.

Le plas DIC serait vraisemblablement intéressant, mais il est réservé dans le commerce aux appareils Zeiss. Je me demande toutefois s'il ne serait pas possible de le réaliser avec un prisme CI pour lumière réfléchié? c'est une nouvelle piste de bricolage...

Je suis intéressé par vos remarques; envoyez les à : daniel.nardin@laposte.net

Bibliographie, références internet :

(1) Olympus relief phase contrast

Brochure CK : <http://www.iolympus.cz/mikroskopy/prospekty/Relief%20phase%20contrast.pdf>

(2) Olympus relief contrast

Brochure CKX: <http://www.iolympus.cz/mikroskopy/prospekty/CKX2.pdf>

(3) relief phase contraste <http://www.relief-phase-contrast.com/index.html>

Piper J. : Relief-Phasenkontrast - eine universell einsetzbare Modifikation des Phasenkontrasts mit verbesserter Bildqualität, Mikrokosmos 96 / 4, 223-229, 2007

(4) ZeissVarel

[http://www.zeiss.de/C1256F8500454979/0/877D55B12C3A9095C1256F8E003506DE/\\$file/varel.pdf](http://www.zeiss.de/C1256F8500454979/0/877D55B12C3A9095C1256F8E003506DE/$file/varel.pdf)

<http://www.smt.zeiss.com/C12567BE0045ACF1/Contents-Frame/B14DDA7D7E2CA1D9C1256FB6002A5EA1>

(5) Zeiss PlasDIC

[http://www.zeiss.de/C12567BE00472A5C/EmbedTitelIntern/Article-PlasDic_e/\\$File/GIT_Arcticle.pdf](http://www.zeiss.de/C12567BE00472A5C/EmbedTitelIntern/Article-PlasDic_e/$File/GIT_Arcticle.pdf)