

doric

# **Implantation de la Canule d'Imagerie et Installation du Microscope Une-Couleur**

Note d'application

Version 1.4.1

---

# Contenu

<b>1</b>	<b>Caractéristiques du modèle de microscope</b>	<b>3</b>
<b>2</b>	<b>Implantation de la canule d'imagerie</b>	<b>8</b>
2.1	Retrait et installation de la canule .....	8
2.2	Installation du support pour microscope à fluorescence.....	10
2.3	Préparation chirurgicale des animaux.....	11
2.4	Installation de l'anneau de réglage de la protrusion .....	12
2.5	Installation de la canule.....	12
2.6	Fixation de la canule sur le crâne.....	15
2.7	Fixation et retrait des animaux .....	15
2.8	Cicatrisation des tissus et habitude de l'animal (3 semaines ou plus) .....	17
<b>3</b>	<b>Sessions d'imagerie</b>	<b>18</b>
<b>4</b>	<b>Manutention et nettoyage</b>	<b>20</b>
4.1	Informations importantes sur la manipulation .....	20
4.2	Nettoyage des optiques .....	20
4.3	Réutilisation des canules d'imagerie.....	20
<b>5</b>	<b>Soutien</b>	<b>21</b>
5.1	Nous contacter .....	21

## Caractéristiques du modèle de microscope

La profondeur de la région d'intérêt détermine le choix du corps du microscope et de la canule d'imagerie. Pour les régions cérébrales jusqu'à 8,4 mm de profondeur, la *canule Modèle-L* est implantée dans le cerveau, tandis que le *microscope Modèle-L* permet l'imagerie du tissu cérébral dans ces régions. Le *microscope Modèle-S* est recommandé pour l'observation de surface car il est optimisé pour un champ de vue entre 0 et 150  $\mu\text{m}$  sous la surface du cerveau (Fig. 1.1).



Figure 1.1 : *Microscope à fluorescence miniature une-couleur Modèle-S (à gauche) et Modèle-L (à droite)*

### 1.0.1 Modèle-S

Pour un modèle-S, le champ de vue obtenu est de  $700\ \mu\text{m} \times 700\ \mu\text{m}$  (Fig. 1.2) et la profondeur de champ (plage de mise au point) est de  $50\ \mu\text{m}$  ( $\pm 25\ \mu\text{m}$ ) (Fig. 1.3). La distance de travail de  $1,1\ \text{mm}$  est définie comme la distance entre le bas de la partie métallique de la canule et le plan focal. Cela permet une profondeur de pénétration de  $0$  à  $150\ \mu\text{m}$ . Pour la canule modèle S, un seul anneau de réglage de la protrusion (hauteur de  $4,5\ \text{mm}$ ) est nécessaire pour observer l'ensemble de la plage.

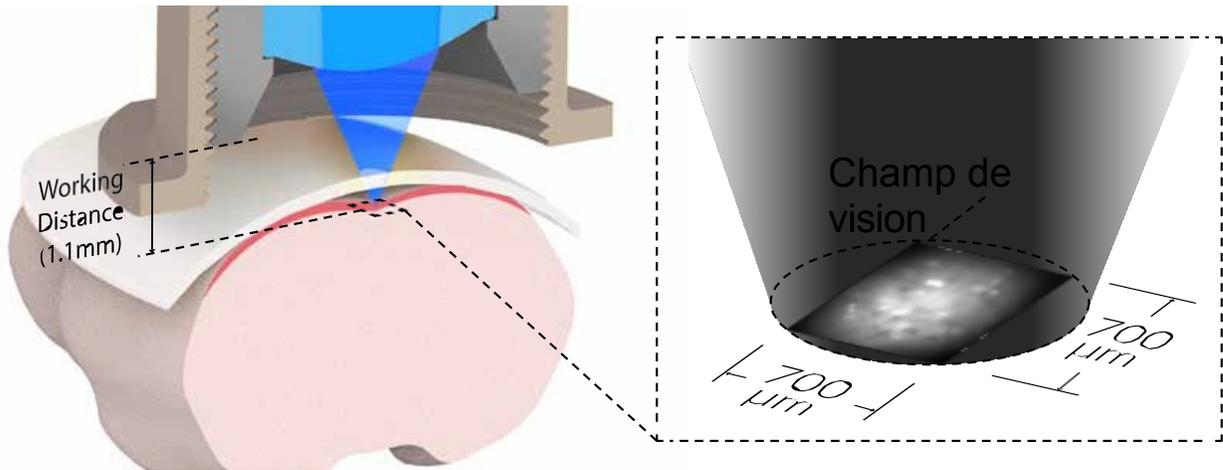


Figure 1.2 : Champ de vue obtenu avec la canule d'imagerie Modèle-S

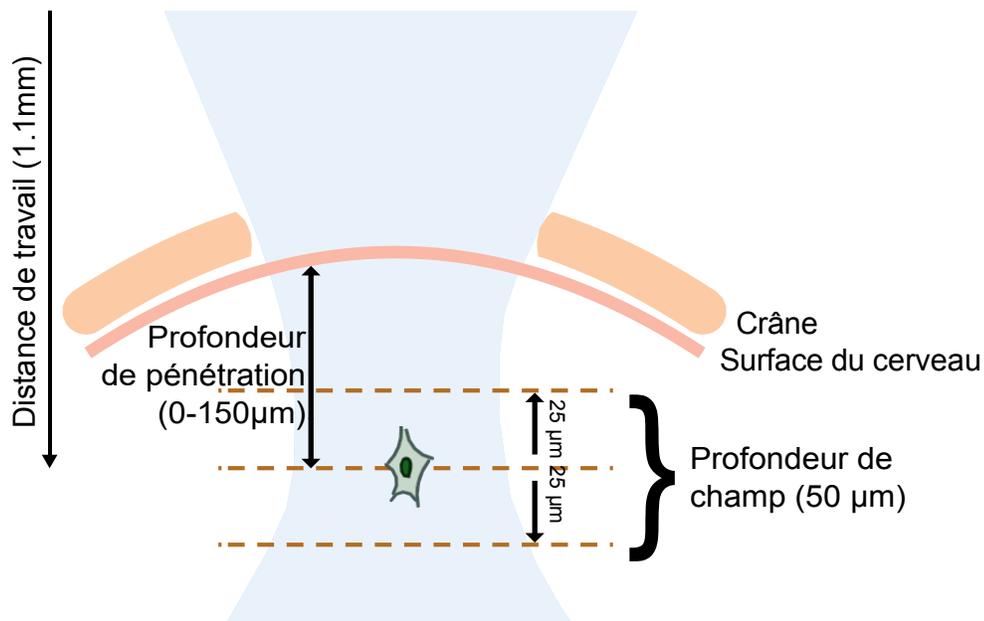


Figure 1.3 : Plage de profondeur de la canule d'imagerie Modèle-S

## 1.0.2 Modèle-L

Pour les régions cérébrales plus profondes, une lentille tige à gradient d'indice (GRIN) est nécessaire pour guider l'image de l'intérieur du cerveau vers l'objectif du corps du microscope. En fonction de la profondeur de la région d'intérêt, trois types de canules d'imagerie sont disponibles (D, V ou E) avec différentes longueurs de lentilles. Le tableau 1.1 indique la plage des profondeurs de pénétration obtenues avec chaque type de canule. La profondeur de pénétration pour ce modèle est mesurée à partir de la surface du crâne ou du bas de l'anneau de protrusion jusqu'à la région d'intérêt.

Tableau 1.1 : Plage de profondeur de pénétration

Type de canule	Gamme de profondeur de pénétration $d$ (mm) <sup>1</sup>
D	0 - 3.2
V	3.0 - 6.0
E	5.4 - 8.4

La distance de travail de nos canules d'imagerie standard Snap-in modèle-L est de 80  $\mu\text{m}$  et représente la distance entre l'extrémité de la lentille relais et le plan focal (des dispositifs avec des distances de travail différentes sont proposés sur demande). Cela signifie que le microscope n'image pas immédiatement sous la lentille et que cette distance de travail doit être prise en compte lors du calcul de la profondeur requise. La profondeur de champ ou plage de mise au point est de 50  $\mu\text{m}$  (Fig. 1.5). Le champ de vue du microscope modèle-L est de 350  $\mu\text{m}$  X 350  $\mu\text{m}$  (Fig. 1.6).

Pour s'assurer que la canule est bien fixée sur le crâne, la canule d'imagerie doit être associée à un anneau de réglage de la saillie. Pour choisir le bon anneau de réglage, procédez comme suit (Fig. 1.4).

1. Mesurer la longueur de la protrusion ( $L$ ) de la lentille depuis le bas de la partie métallique de la canule jusqu'à l'extrémité de la lentille.
2. Déterminez à quelle profondeur du cerveau vous souhaitez positionner l'extrémité de la lentille. Ajoutez à cette mesure l'épaisseur du crâne et la distance de travail de la lentille tige (généralement 80  $\mu\text{m}$ ). Pour s'assurer que l'anneau de réglage de la protrusion ne sera pas trop bas, il est recommandé d'ajouter 100  $\mu\text{m}$  à cette mesure. Vous obtiendrez la distance ( $d$ ) représentée par la distance entre l'extrémité de l'objectif et le bas de l'anneau de réglage de la protrusion.
3. La protrusion de l'anneau de réglage ( $p$ ) est donnée par :  $p = L - d$  et correspond à un jeu d'anneaux spécifique (tableau 1.2). Chaque jeu d'anneaux est identifié par sa hauteur ( $h$ ).
4. Placer l'anneau sélectionné sur la canule et ajuster la position de l'anneau à l'aide d'un microscope binoculaire pour obtenir la distance requise ( $d$ ).

Tableau 1.2 : Sélection de l'anneau de réglage de la protrusion Modèle-L

# Anneau	Hauteur ( $h$ ) de l'anneau (en mm)	Protrusion ( $p$ ) de l'anneau (en mm)
1	2.0	0 - 1.5
2	2.7	0.7 - 2.2
3	3.4	1.4 - 3.0
4	4.2	2.2 - 3.7
5	4.9	2.9 - 4.4

<sup>1</sup> avec une distance de travail de 80  $\mu\text{m}$

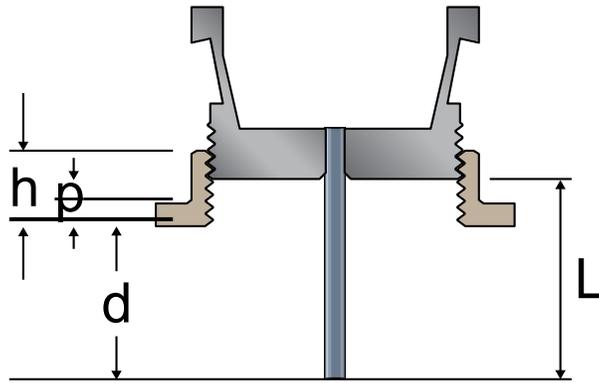


Figure 1.4 : Sélection de l'anneau de réglage de la protrusion

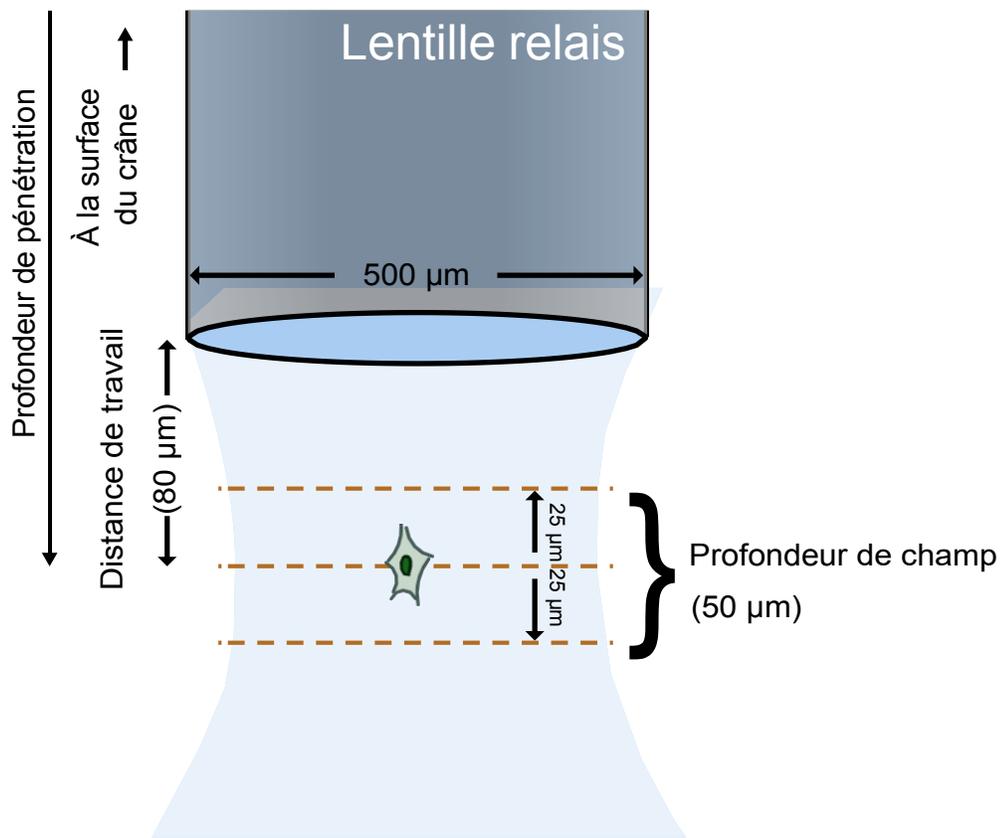


Figure 1.5 : Plage de profondeur de la canule d'imagerie Modèle-L

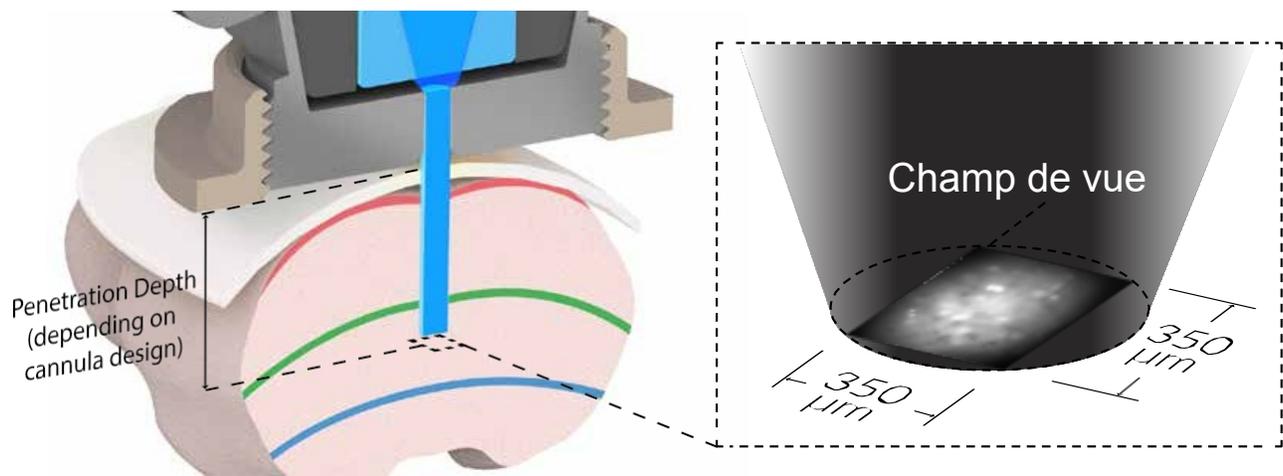


Figure 1.6 : Champ de vue obtenu avec la canule d'imagerie Modèle-L

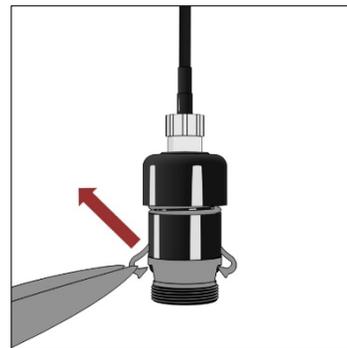
## Implantation de la canule d'imagerie

La section suivante décrit l'utilisation et l'implantation du *microscope à fluorescence miniaturisé une-couleur*. Cette section est également détaillée dans notre [vidéo d'instruction](#).

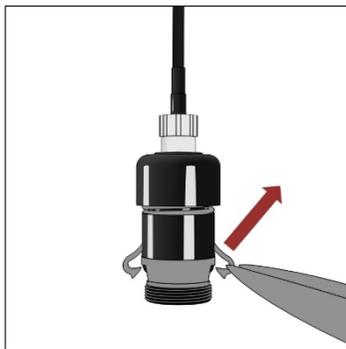
### 2.1 Retrait et installation de la canule



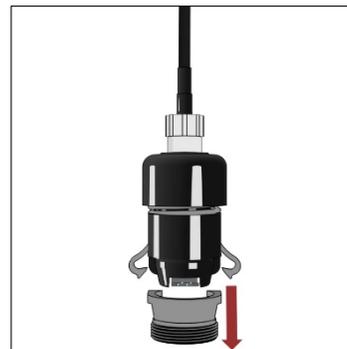
(a) Tournez le barillet dans le sens des aiguilles d'une montre jusqu'à ce que vous sentiez une résistance, puis ajoutez 1/4 de tour.



(b) Tourner la pointe de l'outil de fixation à l'intérieur de la pince gauche.



(c) Tourner l'extrémité de l'outil de fixation à l'intérieur de la pince droite.



(d) Retirer la canule de protection

Figure 2.1 : Détachement de la canule de protection du corps du microscope

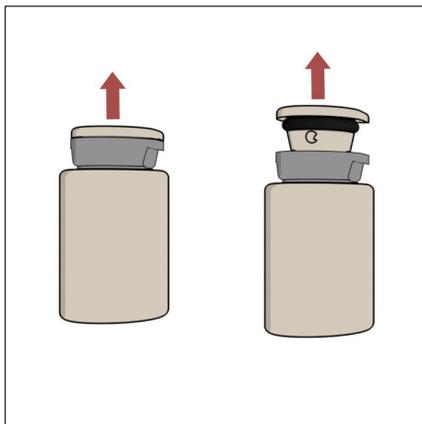
Le corps du microscope est livré avec une canule de protection qui doit être retirée lors de la première utilisation et réinstallée après chaque séance d'imagerie afin de protéger le microscope. Pour retirer la canule de protection et fixer la canule d'imagerie sur le corps du microscope, suivre la procédure décrite dans cette section. Manipulez le microscope et la canule avec précaution. La lentille relais et l'objectif sont fragiles et toute tâche ou rayure peut affecter la qualité de l'image. **Ne pas toucher la surface des lentilles.**

1. Retirez la **canule de protection** du *corps du microscope* (Fig. 2.1). Toute autre canule de microscope peut être déplacée de la même manière. Si la canule est installée sur un sujet expérimental, suivre les instructions de la section 2.6.

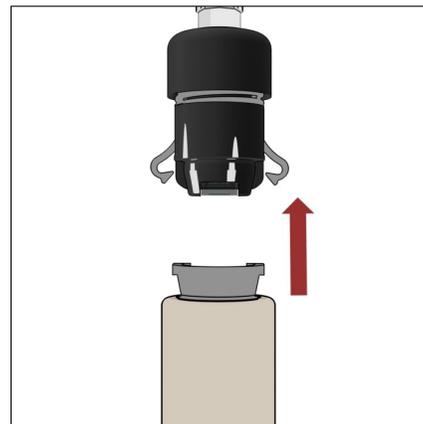
a) Utilisez le barillet du microscope pour modifier la dureté du mécanisme de verrouillage. Si le barillet

est lâche, tournez-le dans le sens des aiguilles d'une montre jusqu'à ce que vous sentiez une résistance, puis ajoutez 1/4 de tour (Fig. 2.1a). Ne jamais visser le barillet de plus d'un demi-tour après le point de résistance. Dans le sens inverse, si vous sentez déjà une résistance lorsque vous tournez le barillet dans le sens des aiguilles d'une montre, cela signifie que le barillet est trop serré. Dans ce cas, vous devez tourner le barillet dans le sens inverse des aiguilles d'une montre pour trouver le point où il commence à se desserrer, puis tourner d'un quart de tour dans le sens des aiguilles d'une montre.

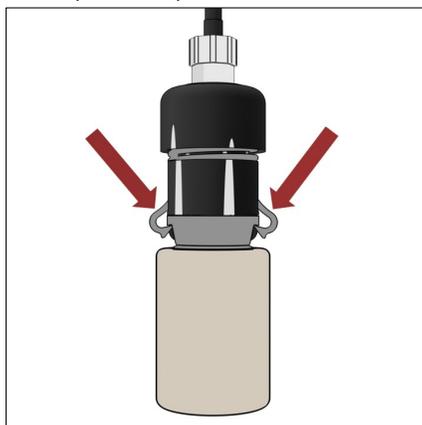
- b) Retirer la **pince à microscope gauche** de la **rainure de la pince à canule** (Fig. 2.1b) en faisant tourner l'*outil de fixation* à l'intérieur de l'espace.
  - c) Retirer la **pince à microscope droite** de la **rainure de la pince à canule** (Fig. 2.1c) en faisant tourner l'*outil de fixation* à l'intérieur de l'espace.
  - d) Retirer la **canule de protection** (Fig. 2.1d).
2. Fixer la canule d'imagerie sur le **corps du microscope** (Fig. 2.2). Toute autre canule de microscope peut être installée de la même manière. Cette méthode est valable pour l'installation du microscope sur un sujet expérimental.
- a) Veillez à ce que le barillet dépasse d'un quart de tour dans le sens des aiguilles d'une montre le point de résistance, comme à la fin de l'étape 1. Cela permet de s'assurer que les pinces sont desserrées.
  - b) Retirer le **capuchon de protection** de la **canule d'imagerie** (Fig. 2.2a).
  - c) Insérer la canule d'imagerie sur le **corps du microscope** (Fig. 2.2b).
  - d) Clipsez les pinces en place (Fig. 2.2c).
  - e) Dévisser le cylindre dans le sens inverse des aiguilles d'une montre jusqu'à ce qu'il se détache (Fig. 2.2c et 2.2d). Cela permet de s'assurer que les pinces maintiennent fermement la canule. Il est très important de **ne jamais dévisser complètement la canule**



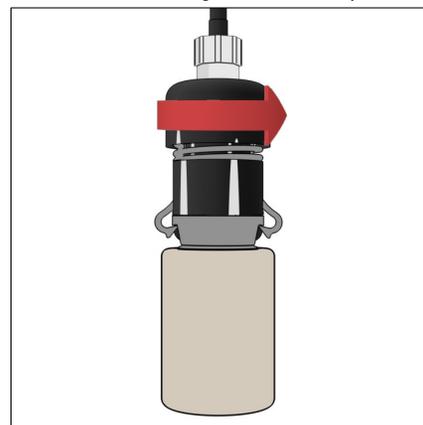
(a) Retirer le capuchon de protection de la canule d'imagerie.



(b) Insérer la canule d'imagerie dans le corps du microscope



(c) Clipser les pinces en place



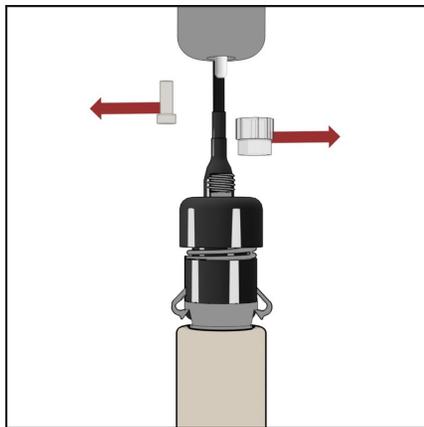
(d) Dévisser le canon dans le sens inverse des aiguilles d'une montre jusqu'à ce qu'il se détache

Figure 2.2 : Fixation de la canule d'imagerie sur le corps du microscope

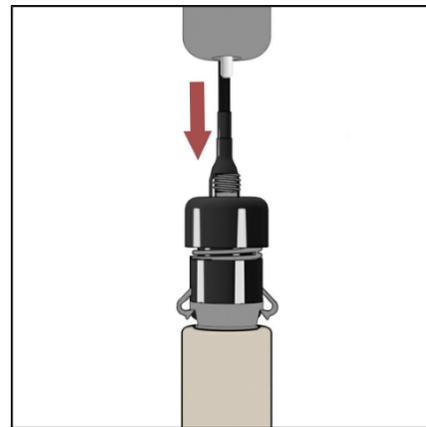
## 2.2 Installation du support de microscope à fluorescence

Pour l'implantation de la canule, le microscope peut être fixé sur le *support de microscope à fluorescence (FMH)*. Ce support permet d'obtenir des images pendant la descente de la lentille relais vers le cerveau. Les expériences ne nécessitant pas d'animaux en mouvement peuvent être réalisées avec cette configuration de fixation tête-fixée.

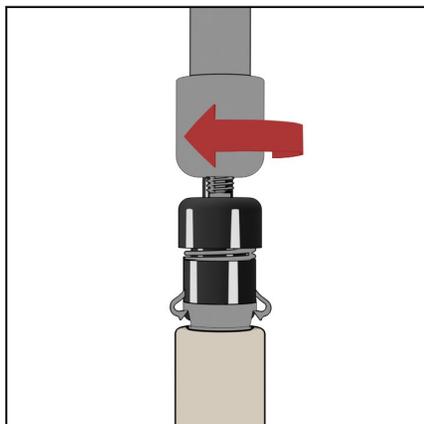
1. Retirez les **capuchons du connecteur** du **Connecteur optique M3 du microscope** et de la ferrule du *support du microscope à fluorescence* (Fig. 2.3a).
2. Insérer la ferrule dans le **connecteur optique M3** (Fig. 2.3b). Maintenez-les en place en vissant l'extrémité du *support du microscope à fluorescence* (Fig. 2.3c).
3. Installer le *support de microscope à fluorescence* dans un appareil stéréotaxique.
4. Au moment de l'utilisation, retirer le **capuchon protecteur de sortie** de la canule en le dévissant (Fig. 2.3d). Lors de l'utilisation d'une canule de type L, veiller à la retirer d'un mouvement rectiligne afin de ne pas toucher ou casser la lentille à tige.
5. Avant l'implantation, retirez le capuchon protecteur et démarrez le système d'acquisition pour vérifier la qualité de l'image obtenue par la lentille. Veillez à **ne pas toucher la surface de la lentille**. Lorsque l'image obtenue présente des taches, il se peut que la lentille soit poussiéreuse. Utilisez un coton-tige pour nettoyer l'extrémité de l'objectif avec de l'acétone ou de l'alcool isopropylique. **Ne trempez jamais l'objectif dans l'acétone**. Fermez le système d'acquisition après le test.



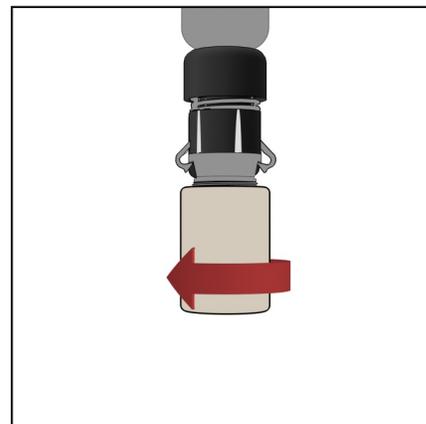
(a) Retirer les capuchons de protection du microscope



et (b) Insérer la ferrule du FMH dans le connecteur M3 du microscope



(c) Visser l'extrémité du FMH sur le connecteur M3



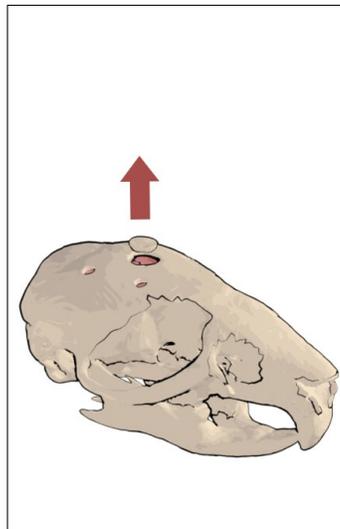
(d) Dévisser et retirer le capuchon de sortie de la canule

Figure 2.3 : Fixation du support de microscope à fluorescence (FMH)

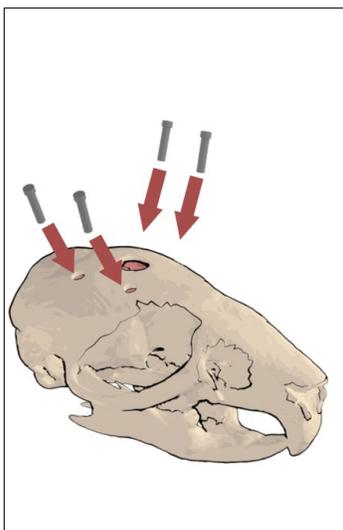
## 2.3 Préparation chirurgicale des animaux



(a) Créer des trous pour les vis crâniennes.



(b) Effectuer la craniotomie au niveau des coordonnées stéréotaxiques appropriées.



(c) Fixer les vis crâniennes dans leurs trous.

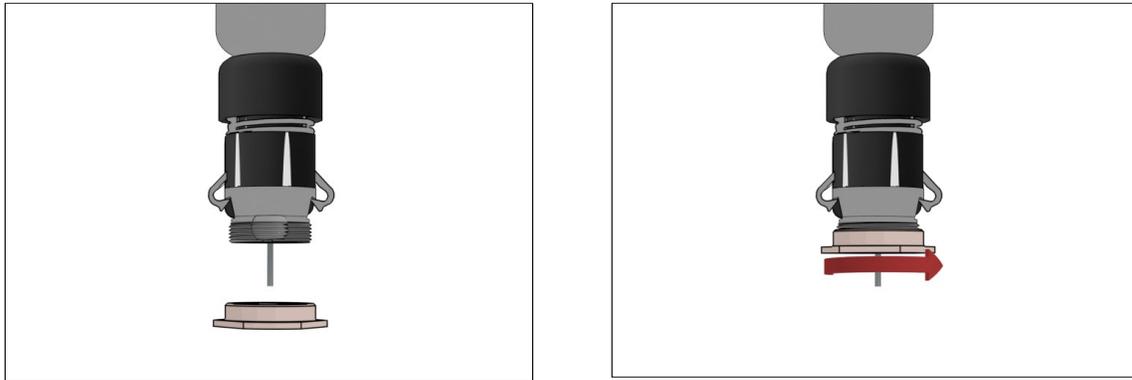
Figure 2.4 : Préparation chirurgicale

Avant l'implantation, le sujet animal doit être préparé. Cela comprend la mise en place de **vis crâniennes** pour fixer la canule et une craniotomie pour permettre l'observation du cerveau.

1. Déterminer les coordonnées stéréotaxiques pour l'implantation de la canule.
2. Percez des trous pour permettre la mise en place des vis du crâne (Fig. 2.4a).<sup>1</sup> Une distance d'au moins 5 mm par rapport au centre de la craniotomie est nécessaire pour permettre la rotation de l'*anneau de réglage de la protrusion*.
3. Effectuer la craniotomie (Fig. 2.4b). En cas d'utilisation d'une canule de type L, le trou doit avoir un diamètre supérieur au diamètre de la lentille à tige, soit 500  $\mu\text{m}$ . En cas d'utilisation d'une canule de type S, le trou doit avoir un diamètre d'au moins 2 mm.
4. Placer 4 vis de soutien dans les trous préparés autour du site de craniotomie (Fig. 2.4c).

<sup>1</sup> Vis non fournies avec le microscope.

## 2.4 Installation de l'anneau de réglage de la protrusion



(a) Placer les gouttes de colle dans le filetage de la canule.

(b) Enfiler la bague de réglage de la saillie sur la canule.

Figure 2.5 : Installation de l'anneau de réglage de la protrusion

Pour préparer l'implantation, l'*anneau de réglage de la protrusion* doit d'abord être installé. L'anneau est utilisé pour stabiliser le système sur le crâne lorsque la canule implantée est à la profondeur appropriée. Sa position est déterminée par la profondeur de la structure d'intérêt par rapport au sommet du crâne (voir section 1.0.2).

1. Appliquer quelques gouttes d'une colle à séchage lent (par exemple une colle époxy) pour fixer l'anneau au filetage métallique de la canule d'imagerie.<sup>2</sup>
  - **Veillez à ne pas appliquer de colle sur le corps du microscope ou sur la lentille d'imagerie.**
  - Le séchage lent permet des ajustements mineurs lors de l'implantation.
  - Chaque rotation complète de l'anneau de réglage de la protrusion représente une distance verticale de 300  $\mu\text{m}$ .
2. Fixer l'anneau de réglage de la protrusion approprié à la canule à sa position approximative. Pour les canules de type L, placer l'*anneau de réglage de la protrusion* dans un mouvement lent et vertical afin d'éviter tout contact avec la lentille à tige.

Une fois l'anneau de réglage de la protrusion en place, le microscope peut être déplacé au-dessus de l'animal.

## 2.5 Installation de la canule

### 2.5.1 Installation de la canule de type S

Lors de l'utilisation d'une canule de type S, aucune pénétration n'est nécessaire car la lentille ne pénètre pas dans le cerveau. La région doit cependant être préparée pour l'observation. Les sections suivantes présentent quelques protocoles recommandés pour l'imagerie de surface.

1. Préparer l'animal à l'observation. Plusieurs méthodes sont possibles pour obtenir une qualité d'image optimale. Il convient de noter que la *canule d'imagerie de type S* laisse une petite poche d'air entre le cerveau et l'objectif. La dure-mère exposée à l'air devient opaque (blanche) avec le temps, tandis que la substance cérébrale peut être endommagée par l'exposition à l'air.
  - L'utilisation d'une **fenêtre crânienne** est courante. Ces fenêtres en verre, fines et de petit diamètre, sont placées au-dessus de l'ouverture de la craniotomie, réduisant ainsi l'exposition du cerveau à l'air. L'espace entre la fenêtre et le cerveau peut également être rempli d'un milieu transparent biocompatible, tel que l'agarose.
  - La **technique de la fenêtre crânienne mince** consiste à amincir progressivement le crâne de l'animal. Cet amincissement permet à la lumière d'être transmise à travers le crâne, permettant ainsi l'imagerie sans pénétrer le crâne lui-même.

<sup>2</sup> Colle non fournie avec le microscope

- La **méthode du prisme latéral** (Fig. 2.6) peut être utilisée conjointement avec une **fenêtre crânienne**. Un microprisme est inséré dans les zones superficielles du cerveau, ce qui permet de visualiser les régions perpendiculaires au plan focal normal.

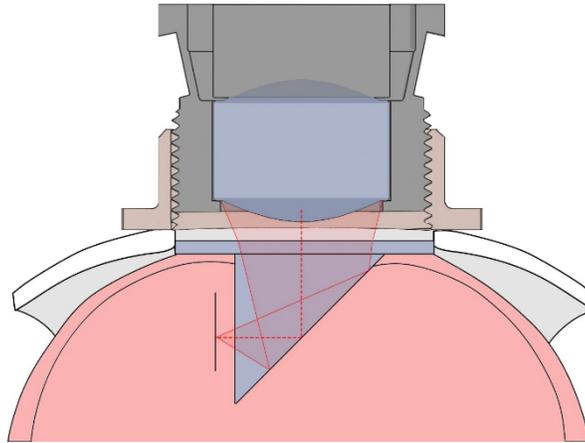


Figure 2.6 : Méthode du prisme latéral

2. Connecter le *support du microscope à fluorescence* au système d'illumination.
3. Abaisser le microscope au-dessus du trou de craniotomie.
  - Le support de microscope à fluorescence permet l'illumination pendant l'implantation.
  - Si la canule est installée lorsqu'une expression virale suffisante a été atteinte, un signal de fluorescence diffus confirmera le positionnement du plan focal dans la zone ciblée (par exemple, le site d'injection).
  - Si la canule est installée immédiatement après l'injection virale, le signal de fluorescence ne peut pas être utilisé pour confirmer le positionnement du plan focal dans le site ciblé.
4. Lorsqu'il y a un écart important entre l'*anneau de réglage de la protrusion* et le crâne, la position peut être ajustée.
  - Vérifiez que le *support du microscope à fluorescence* est bien fixé et que le microscope ne bouge pas si on le touche.
  - Dévissez lentement l'*anneau de réglage de la protrusion* pour la rapprocher du crâne.

## 2.5.2 Installation de la canule de type L

### Réglage de la référence de profondeur

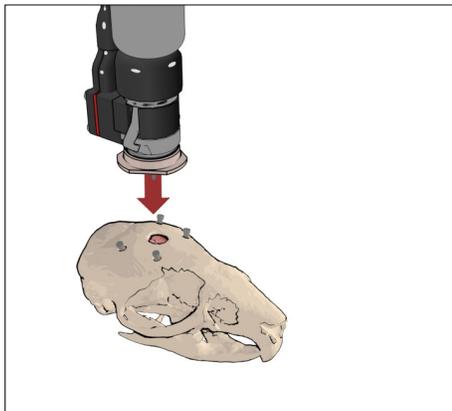
Lors de l'utilisation d'une canule de type L, une référence de profondeur doit être prise sur la dure-mère avec la pointe de la lentille relais.

1. Placer le microscope au-dessus de l'animal préparé. Abaissez le système dans le trou de craniotomie, de manière à ce que l'extrémité de la lentille à tige touche la dure-mère sans la pénétrer.
  - Compte tenu de la taille de la canule, cette extrémité peut être difficile à voir. Un miroir ou une caméra peuvent être utiles pour voir exactement quand l'extrémité de la lentille touche le cerveau.
2. Lorsque le point de référence est trouvé, notez-le et élevez le microscope.
3. Retirez soigneusement la dure-mère du point de référence. Une dure-mère propre et sans saignement permettra d'obtenir une qualité d'image optimale tout en abaissant la lentille de la tige.

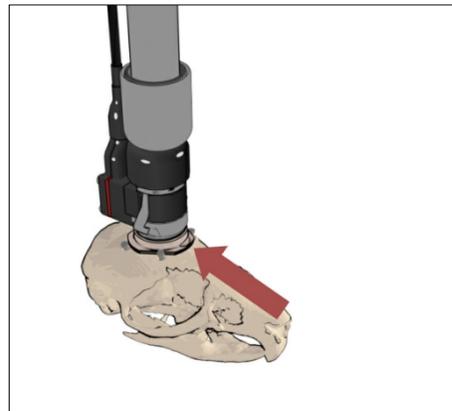
## Implantation d'une canule de type L

**Du début à la fin de l'implantation, manipulez la canule d'imagerie avec précaution. La lentille relais est très fragile et toute tâche ou rayure peut affecter la qualité de l'image.**

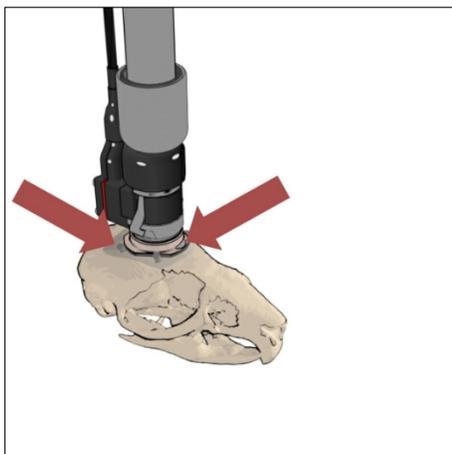
1. Connecter le *support du microscope à fluorescence* au système d'illumination.
2. Abaisser lentement la lentille à tige (environ 1  $\mu\text{m/s}$ ) pour permettre une bonne pénétration des tissus (Fig. 2.7a).
  - Le support de microscope à fluorescence permet d'illuminer pendant la pénétration de l'objectif.
  - Si la canule est implantée lorsqu'une expression virale suffisante a été atteinte, un signal de fluorescence diffus confirmera le positionnement de la lentille dans la zone ciblée (par exemple, le site d'injection).
  - Si la canule est implantée immédiatement après l'injection virale, le signal de fluorescence ne peut pas être utilisé pour confirmer le positionnement de la lentille dans le site ciblé.
3. Si la canule d'imagerie n'est pas dans la zone fluorescente, il est possible d'effectuer une nouvelle descente pour repositionner la lentille.
4. S'il existe un espace important entre l'*anneau de réglage de la protrusion* et le crâne (Fig. 2.7b)
  - Vérifiez que le *support du microscope à fluorescence* est bien fixé et que le microscope ne bouge pas si on le touche.
  - Dévissez lentement l'anneau de réglage de la protrusion pour la rapprocher du crâne. Arrêtez de dévisser si la **lentille à tige** commence à se déplacer à l'intérieur du cerveau.



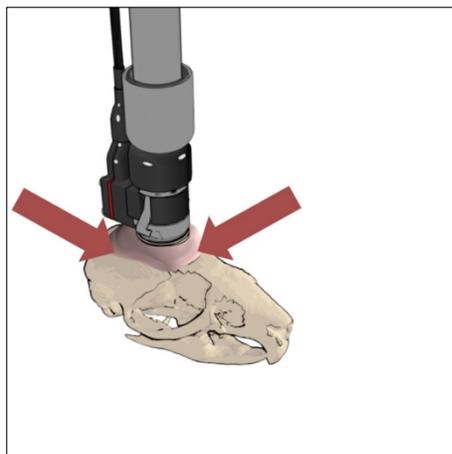
(a) Positionnez le microscope sur le crâne et abaissez lentement l'objectif.



(b) Évaluer la distance entre le crâne et l'anneau de réglage de la protrusion, ajuster si nécessaire.



(c) Utilisez de la colle à séchage rapide pour fixer l'anneau de réglage de la protrusion sur le crâne.



(d) Utilisez du ciment dentaire pour fixer l'anneau de réglage de la protrusion sur le crâne.

Figure 2.7 : Procédure d'implantation de la canule d'imagerie

## 2.6 Fixation de la canule sur le crâne

Une fois la canule en place, il est nécessaire de la fixer sur le crâne, ainsi que l'anneau de réglage de la protrusion. Cette partie de la procédure est identique pour les microscopes modèle-L et modèle-S.

1. Mettre de la colle à séchage rapide entre l'*anneau de réglage de la protrusion* et le crâne (Fig. 2.7c).<sup>3</sup> Si l'anneau est proche des os, l'action capillaire d'une colle liquide à forte adhérence permettra à la colle de passer sous l'anneau. Dans le cas contraire, il convient d'utiliser une colle en gel pour combler l'espace.
2. Pour améliorer le support des vis dans les trous, il est recommandé de les coller.
3. Lorsque la colle sur la surface du crâne est complètement sèche, fixer le microscope au crâne en appliquant du ciment dentaire sur l'*anneau de réglage de la protrusion* et sur les vis (Fig. 2.7d).<sup>4</sup>
  - Si l'anneau de réglage de la saillie ne touche pas le crâne, il est important de mettre du ciment sur la colle entre l'anneau et les os pour stabiliser le système.
  - Les **pincés de microscope** doivent être exemptes de ciment pour pouvoir séparer le microscope et la canule.
  - Les tissus, les muscles, la peau ou la fourrure ne doivent pas entrer en contact avec le ciment dentaire afin d'améliorer l'adhérence du microscope sur le crâne.
4. Une fois que le ciment dentaire a complètement séché, le microscope peut être retiré.
5. Veiller à ce que le **barillet du microscope** soit légèrement desserré. Cela permet de s'assurer que les pincés sont bien serrés et qu'elles se détachent de la canule en un seul mouvement.
6. Déclipser les pincés de la canule à l'aide de l'outil de fixation (Fig. 2.8a).
7. Retirer le microscope de la canule d'imagerie (Fig. 2.8b).
8. Placer le **capuchon de protection d'entrée** sur la canule implantée pour protéger la lentille à tige (Fig. 2.8c).
9. Placez la canule de protection sur le microscope pour le protéger (Fig. 2.8d).
  - Si les séances d'imagerie sont effectuées dans une configuration tête-fixée, le *corps du microscope* peut être laissé fixé au *support du microscope à fluorescence* jusqu'à la première séance d'imagerie.
  - Pour les expériences libre de mouvements, dévisser le *support du microscope à fluorescence* et placer son capuchon de protection M3 pour protéger le chemin optique du *corps du microscope*.

## 2.7 Fixation et retrait des animaux

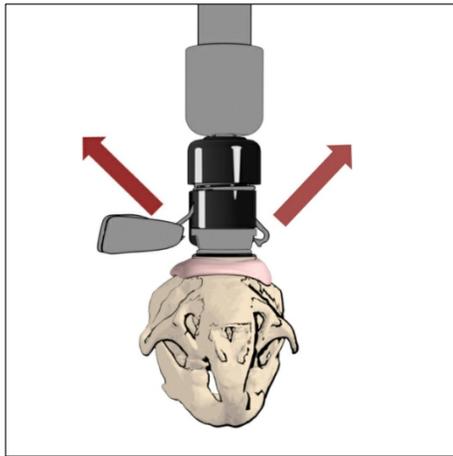
En raison de la sensibilité des sujets animaux, il convient d'insister davantage sur la procédure à suivre pour minimiser la pression exercée sur le sujet lors de la mise en place et du retrait du microscope.

### 2.7.1 Fixation

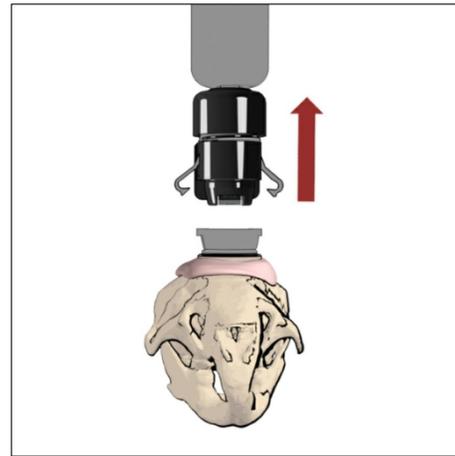
1. Après avoir retiré la canule de protection, placer le barillet au point de résistance. Ajoutez 1/4 de tour dans le sens des aiguilles d'une montre. Cela permet de réduire la tension sur les **pincés à microscope** et de les laisser pendre plus librement.
2. Placer le microscope sur la canule implantée.
3. Pousser doucement les **pincés de microscope** sous la **rainure de la pince de la canule**.
4. Dévisser doucement le barillet jusqu'au point de résistance. Cela permet de serrer les **pincés de microscope** sans avoir à exercer la force nécessaire pour pousser les **pincés pour microscope** dans la **rainure de la pince pour canule**.

<sup>3</sup> Colle non fournie avec le microscope.

<sup>4</sup>Ciment dentaire non fourni avec le microscope.



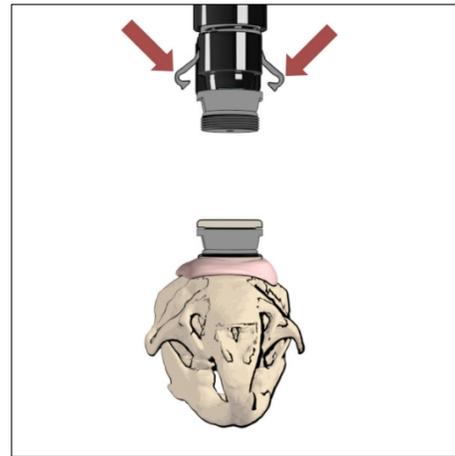
(a) Retirer les pinces à l'aide de l'outil de fixation



(b) Retirer le corps du microscope.



(c) Placer le capuchon protecteur d'entrée sur la canule d'imagerie.



(d) Placer la canule de protection sur le microscope.

Figure 2.8 : Retrait du microscope

### 2.7.2 Retrait

1. Veillez à ce que le cylindre soit légèrement desserré. Cela garantit que les pinces sont bien serrées et qu'elles se détachent de la canule en un seul mouvement.
2. Déclipser les **pinces de microscope** à l'aide de l'*outil de fixation* (Fig. 2.8a).
3. Retirer le microscope de la canule d'imagerie (Fig. 2.8b).
4. Placer le **capuchon de protection d'entrée** sur la canule implantée pour protéger la lentille de la tige (Fig. 2.8c).
5. Placer la canule de protection sur le microscope (Fig. 2.8d).

## 2.8 Cicatrisation des tissus et habitude de l'animal (3 semaines ou plus)



Figure 2.9 : *Microscope factice*

En général, le système peut distinguer les cellules 2 ou 3 semaines après l'implantation de la canule. Néanmoins, une meilleure qualité d'image est obtenue 2 à 8 semaines après l'implantation. Le temps d'attente pour la réparation des tissus peut être une bonne période pour utiliser le *microscope factice* (Fig. 2.9). Il est important d'apprendre à l'animal à tolérer le poids du microscope sur sa tête et à s'habituer à se déplacer facilement dans sa cage avec l'appareil.

## Sessions d'imagerie

La section suivante décrit les bases d'une session d'imagerie avec le *microscope à fluorescence miniature une-couleur*.

1. Préparer le microscope pour une configuration tête-fixée, comme décrit dans la section 2.2.
2. Avant d'installer le microscope, placez le sujet anesthésié dans un support de tête stéréotaxique.
3. Retirer le **capuchon de protection** de la canule.
4. Installer le microscope dans la canule. Le support de tête stéréotaxique diminue la pression exercée sur la tête de l'animal lorsque le corps du microscope est fixé dans la canule implantée.
5. Si vous réalisez une expérience tête-fixée, terminez les connexions du système (Fig. 3.1a) et ouvrez le système d'acquisition. Cela permet d'obtenir une image de la région d'intérêt.
6. Si vous réalisez une expérience libre de mouvements (Fig. 3.1b), retirez l'animal de l'appareil stéréotaxique et laissez-le se remettre de l'anesthésie.
  - Pendant les séances d'imagerie comportementale, il est recommandé de placer le bouclier métallique à la base du câble ultraléger pour le protéger des interférences animales, telles que les mâchonnements ou les griffures.
7. Pour plus de détails sur les connexions du système et l'utilisation du logiciel Doric Neuroscience Studio, voir le [manuel du microscope une-couleur](#).

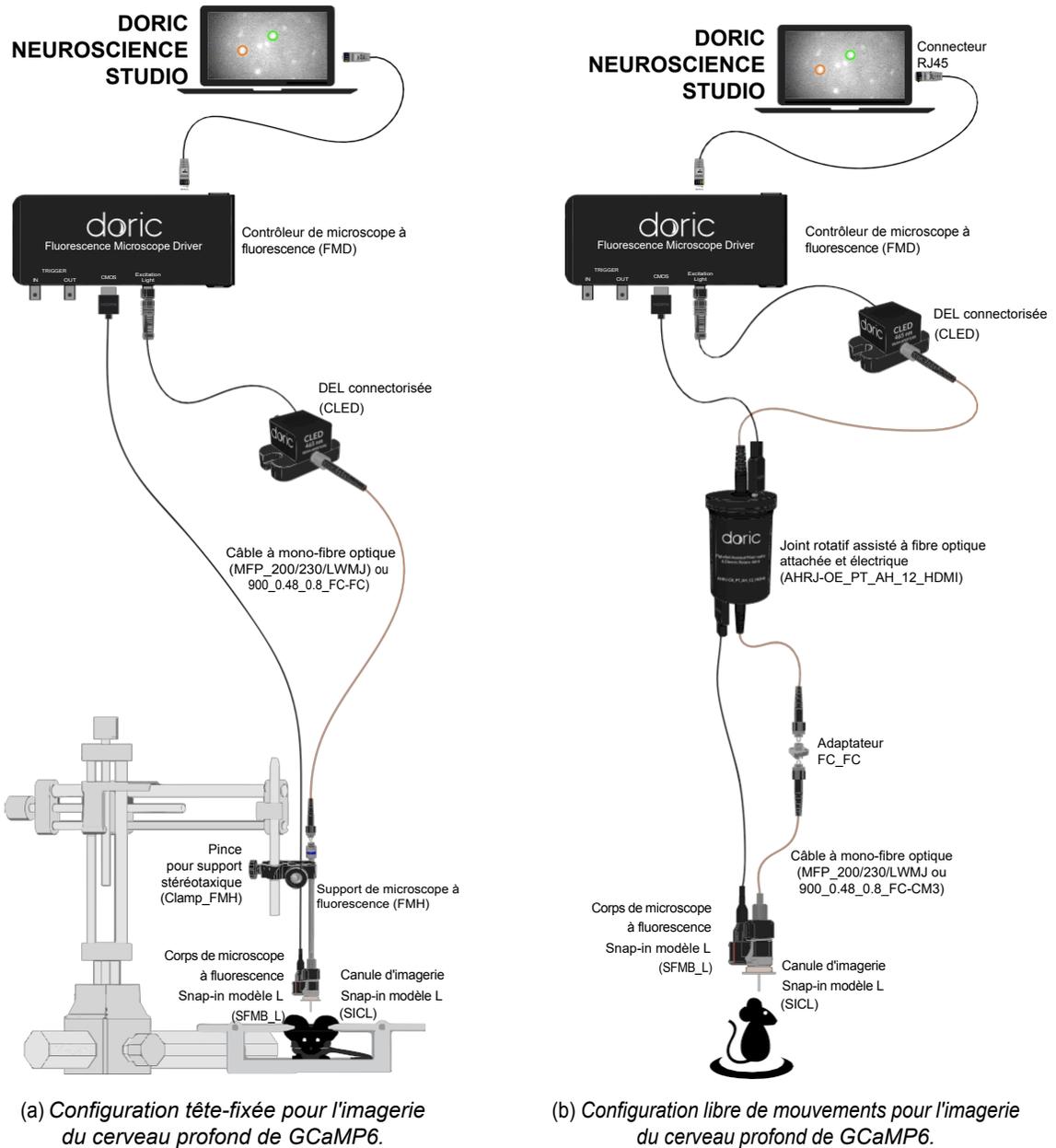


Figure 3.1 : Configurations du système de microscopie une-couleur

## Manipulation et nettoyage

### 4.1 Informations importantes sur la manipulation

*Avertissement* : Manipulez le microscope et la canule avec précaution.

Les microscopes miniatures à fluorescence sont composés d'éléments électroniques sensibles et doivent toujours être manipulés avec précaution. Lorsqu'ils ne sont pas utilisés, le corps du microscope et sa canule doivent être stockés dans un environnement fermé, à l'abri de la poussière. Certains composants du microscope doivent être manipulés avec une attention particulière :

- **Câble électrique** : **Ne pas tordre ou tirer sur le câble**. Ce câble est relié au capteur CMOS et ne peut pas être facilement remplacé.
- **Lentille relais** : La lentille de la canule est en verre et n'est pas protégée. Les **matériaux abrasifs peuvent rayer la surface** et réduire la qualité de l'image.

Le corps du microscope et les lentilles de la canule sont en verre, en métal, en plastique et le contact avec des tissus organiques ou des liquides, comme le sang ou une solution saline, n'est pas recommandé. La canule est conçue pour être en contact avec de telles substances, mais le corps du microscope ne l'est pas. Si le corps du microscope entre en contact avec ces substances, nettoyez l'optique (section 4.2) pour éviter l'apparition de tâches.

### 4.2 Nettoyage des optiques

L'objectif du microscope doit être nettoyé avant chaque utilisation. La procédure expliquée ici peut également être utilisée pour nettoyer les lentilles relais de la canule.

- Mettez le contrôleur hors tension.
- **Portez des gants pour manipuler le microscope**. L'huile des doigts peut tacher le verre et il est souvent difficile de l'enlever correctement.
- Utilisez de l'alcool isopropylique sur un coton-tige pour nettoyer délicatement la lentille.
- **Ne soufflez pas sur les optiques**. Les particules de salive tachent souvent la surface. Les grosses particules de poussière peuvent être éliminées à l'aide d'une soufflette anti-poussière avant d'être nettoyées à l'aide d'un coton-tige.

### 4.3 Réutilisation des canules d'imagerie

Les canules implantées sont vendues comme jetables mais peuvent être réutilisées si elles sont retirées avec précaution. Pour ce faire, il suffit de retirer l'anneau de réglage de la protrusion collée sur la partie métallique. Dans ce cas, prévoyez des jeux d'anneaux de réglage de la protrusion de rechange. L'acétone peut être utilisé pour nettoyer la lentille de la canule avec un coton-tige (ne jamais tremper la canule dans l'acétone), mais il faut veiller à ne pas exposer le site de liaison entre la lentille et la partie métallique de la canule.

**5.1 Contactez-nous** Pour toute question ou commentaire, n'hésitez pas à nous contacter par :

**Téléphone** 1-418-877-5600

**Courriel** [sales@doriclenses.com](mailto:sales@doriclenses.com)

doric

**2018 DORIC LENSES INC**

357 rue Franquet - Québec, (Québec)

G1P 4N7, Canada

Téléphone : 1-418-877-5600 - Fax : 1-418-877-1008 1-418-877-5600 - Fax : 1-418-877-1008

[www.doriclenses.com](http://www.doriclenses.com)