

# Microscopie photonique : modalités et principe de la fluorescence

Wassim Chikhi

Master 2 Vision et Machine Intelligente – 2025/2026

## 1. Objectifs du TP

Ce TP a pour but d'illustrer les différentes **modalités de microscopie photonique** utilisées en imagerie biomédicale. Les quatre configurations abordées sont :

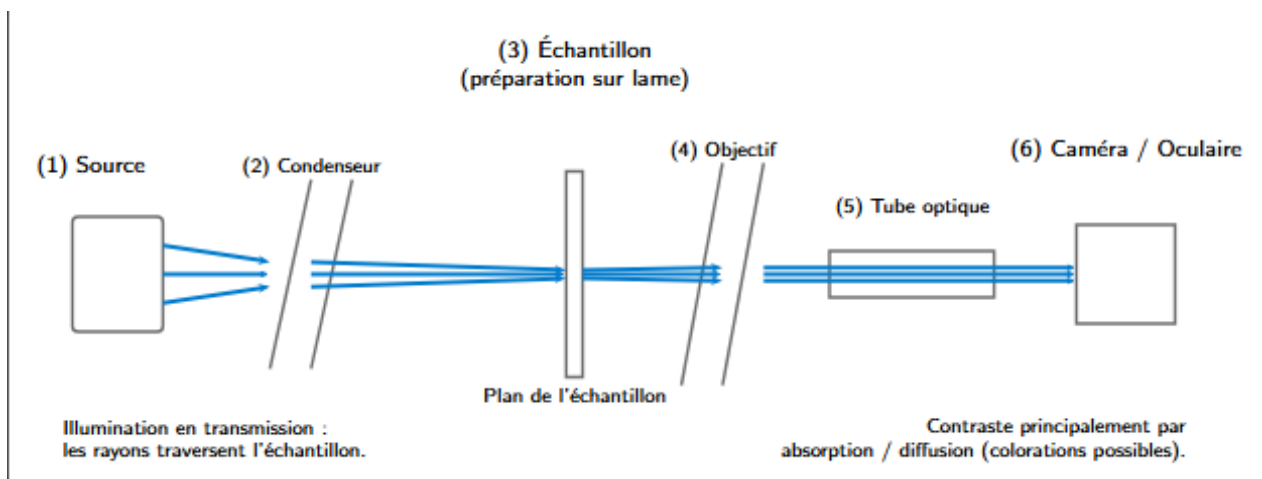
- Microscopie en champ clair (transmission)
- Microscopie à contraste de phase
- Microscopie à fluorescence (champ large)
- Microscopie confocale à balayage

Chaque schéma est importé depuis les images du dossier images/.

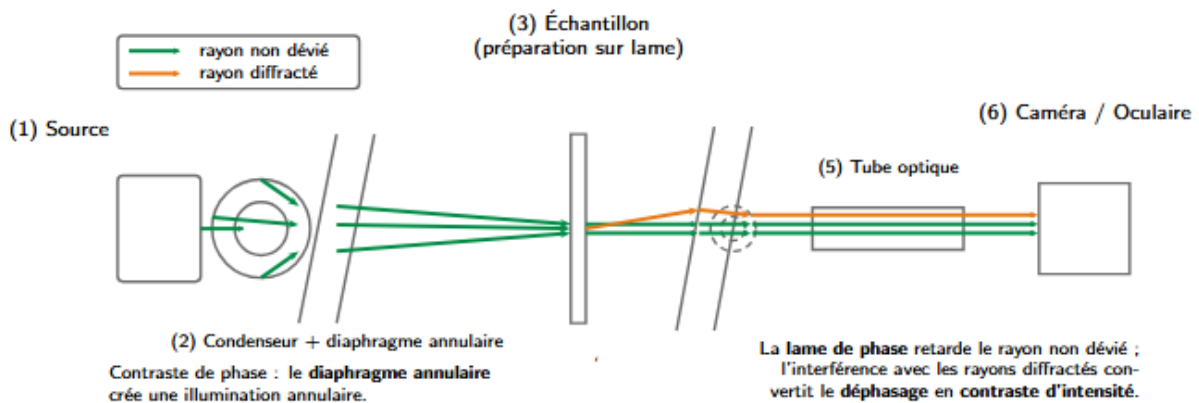
**Code source complet du TP :**

[github.com/vvazzim/Tp-VMI-Wassim/tree/main/imagerie-biomed/tp1-modalities](https://github.com/vvazzim/Tp-VMI-Wassim/tree/main/imagerie-biomed/tp1-modalities)

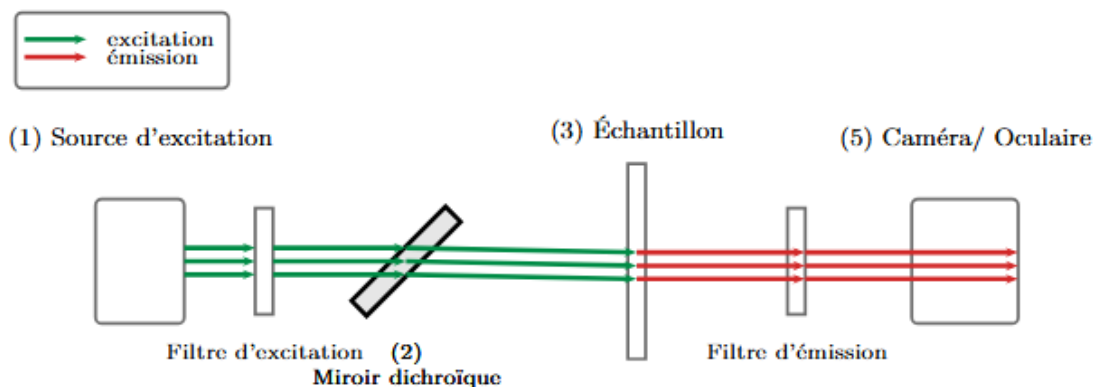
## 2. Microscopie photonique : schémas explicatifs



**FIGURE 1.** Microscopie en champ clair : illumination en transmission, contraste par absorption/diffusion.



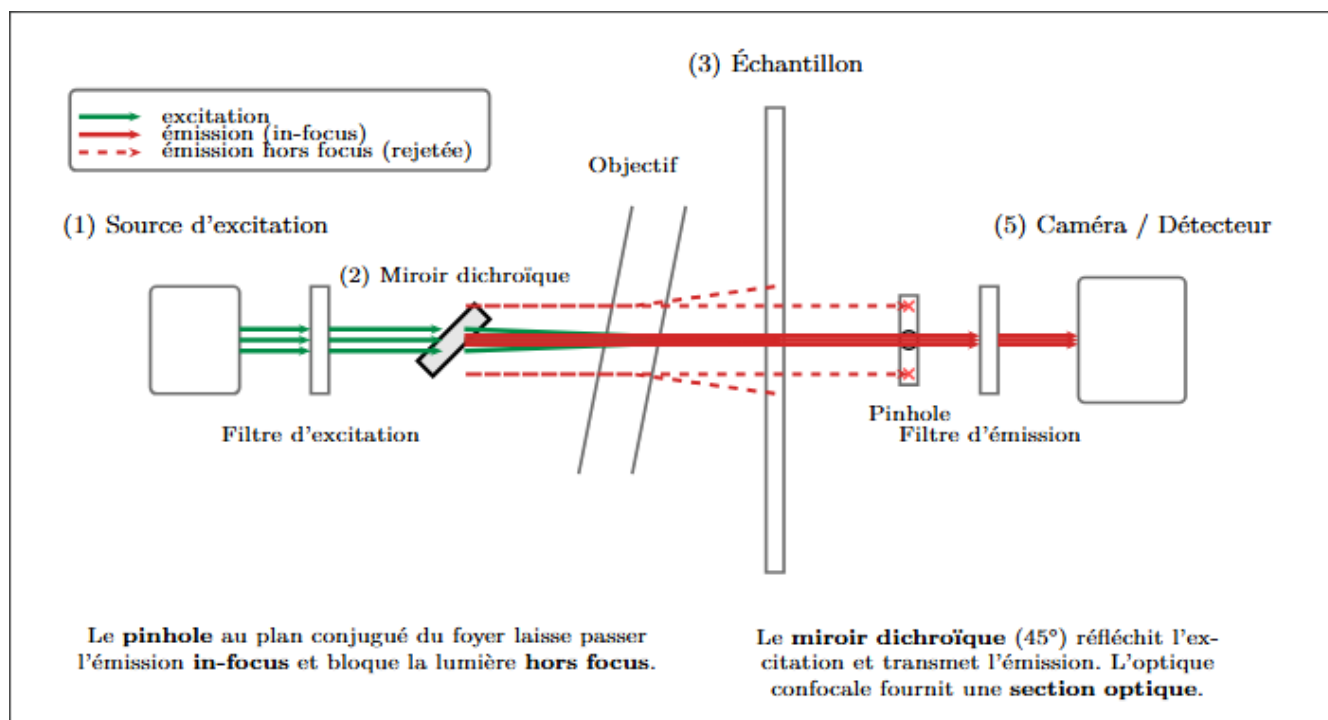
**FIGURE 2.** Contraste de phase : diaphragme annulaire + lame de phase, conversion du déphasage optique en intensité.



Le miroir dichroïque réfléchit l'excitation ( courte) vers l'échantillon et transmet l'émission ( longue).

En champ large, la caméra collecte la fluorescence de tous les plans (défocus possible). Le filtre d'émission bloque l'excitation résiduelle.

**FIGURE 3.** Fluorescence (champ large) : miroir dichroïque 45°, filtres excitation/émission.

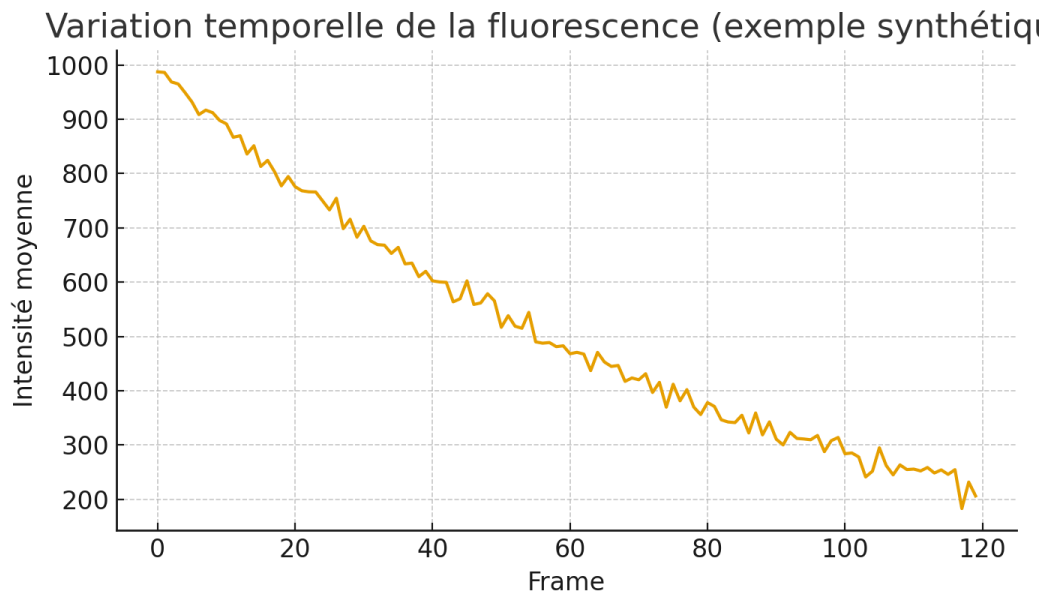


**FIGURE 4.** Microscopie confocale : rejet de la lumière hors-focus via le pinhole, section optique.

### 3. Analyse d'image et photoblanchiment

On calcule ici l'intensité moyenne d'une séquence `cell2D_timelapse.tif` :

$$I_{\text{moy}}(t) = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N I_i(t)$$



**FIGURE 5.** Variation temporelle de la fluorescence (intensité moyenne par frame).

Une décroissance progressive de l'intensité correspond à un **photoblanchiment** : la destruction des fluorophores sous illumination prolongée.

#### 4. Conclusion

Ce TP a permis de réviser les principes physiques des quatre modalités de microscopie photonique. Les schémas importés traduisent la logique optique de chaque système. L'analyse d'une séquence temporelle a mis en évidence le **photoblanchiment**, phénomène majeur limitant la durée d'observation en microscopie de fluorescence.