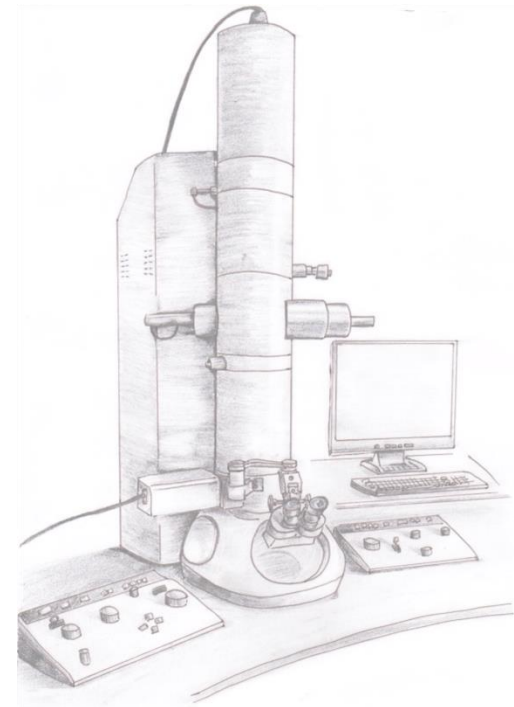
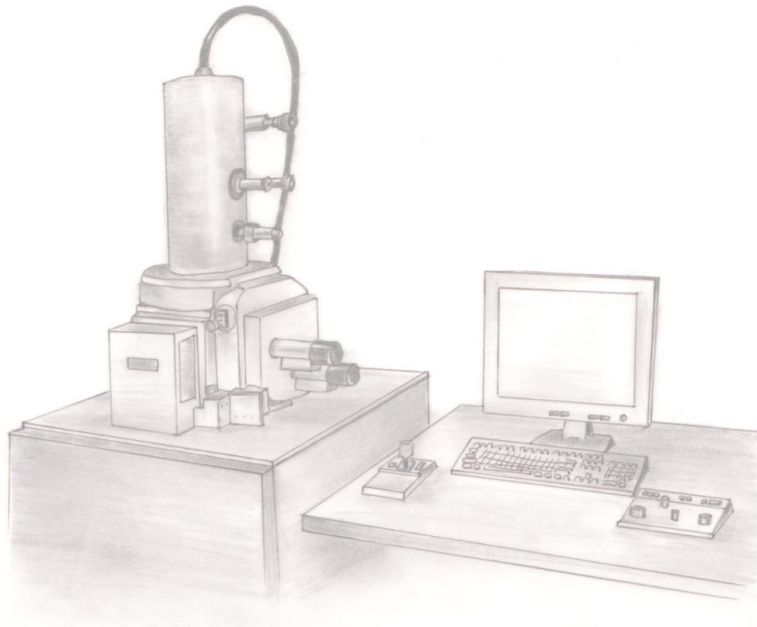


# RCCM

## Réseau des Centres Communs de Microscopie



**Transmettre-Accompagner- Former-Développer**

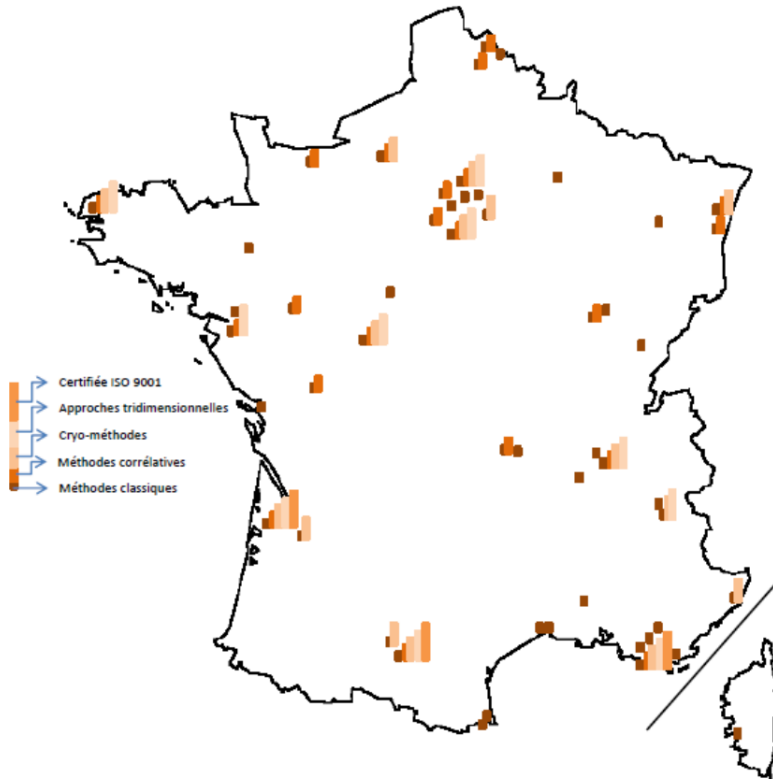


## Objectifs du réseau

Regrouper les structures dotées de microscopes électroniques utilisés rationnellement et fédérer une communauté nationale autour de cette discipline pour :

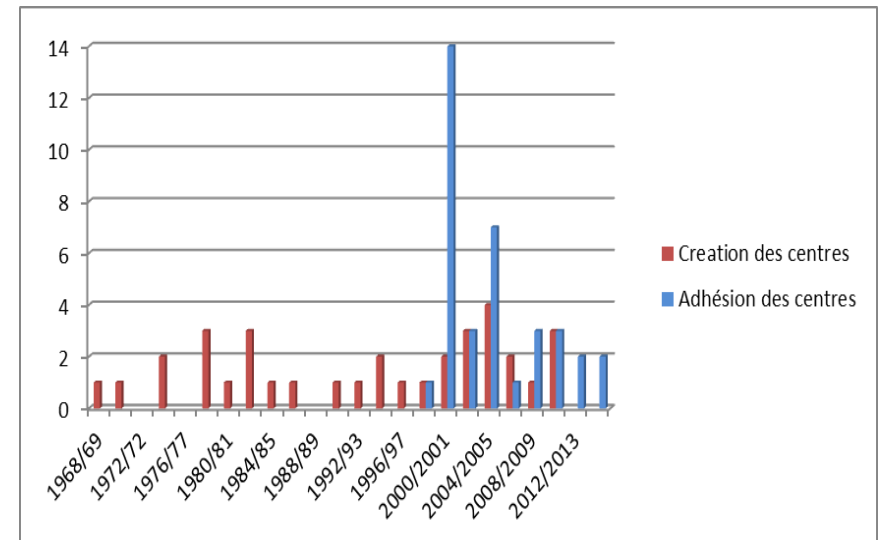
- apporter une **meilleure lisibilité** sur l'ensemble des **équipements présents** sur le territoire national,
- **promouvoir les interactions** entre les plateformes ou centres communs afin de développer des collaborations techniques et scientifiques,
- **valoriser les savoir-faire et les compétences** existantes et les **transmettre** à la communauté,
- **former** les membres et mettre en place des outils scientifiques et pédagogiques communs par le biais des groupes de travail,
- faire évoluer ensemble notre métier sur la sécurité et dans la **démarche qualité**.
- maintenir une veille sur les technologies et sur **l'évolution du métier**.

Répartition géographique et fonctionnelle des plates-formes du réseau RCCM 2014



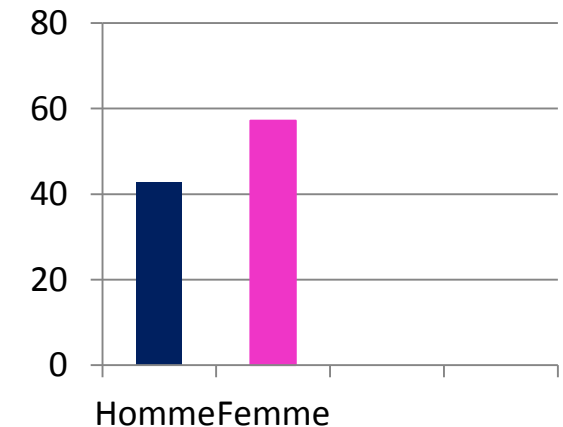
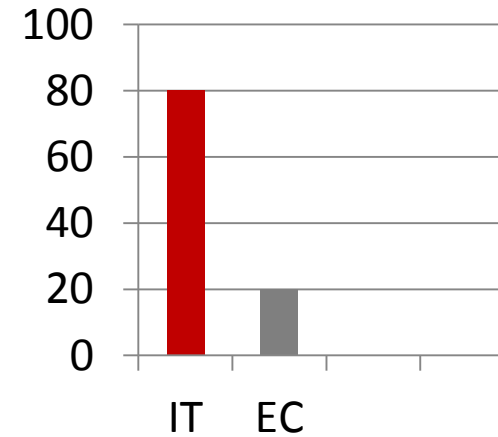
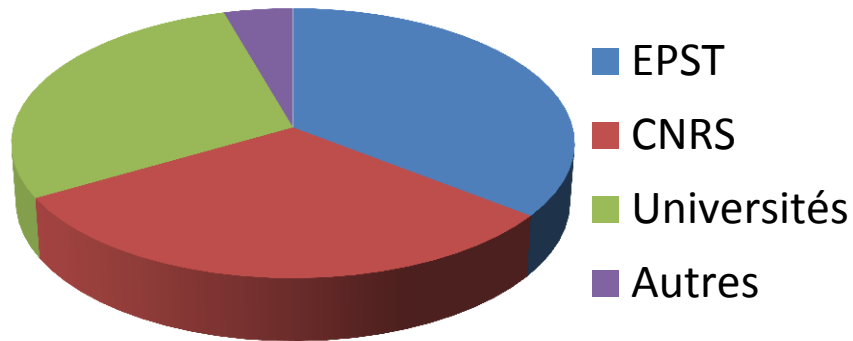
## Organisation informelle de la communauté dès 1998

Supports logistique et financier et Structuration réelle grâce au CNRS en 2000



## Répartition de la communauté

En majorité sur des plateformes technologiques, centres communs, plateaux techniques d'où une dimension "**métier**" dans le réseau



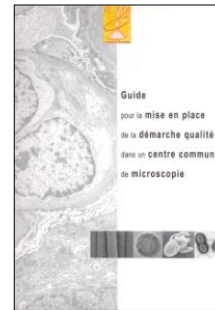
Pour le CNRS : **L'INSB** et **L'INC** sont les utilisateurs majoritaires de nos centres, suivis par l'INP et l'INE



## Résumé des actions et des réalisations



### Les outils mis en place :



- Listes de diffusion
- Site web: <http://rccm.cnrs.fr>
- Guide pour la mise en place d'une démarche qualité dans un centre commun de microscopie
- Base de données **SIDR-e**
- Site de préparation des échantillons <http://temsamprep.in2p3.fr> et mise en ligne des ouvrages
- Groupes de travail:
  - Prospectives en MET en Biologie : communications
  - Groupes cryo : MET et MEB : développement d'outils ou de protocoles
  - Groupes inter-réseaux : repositionnement, préparation d'échantillons, TIM
  - Techniques d'observations et d'analyses : **D-Clic** : tutoriel web en cours



### Les actions de formation:

- 13 Journées annuelles de formation (plébiscitées par les membres) dont 1 inter-réseaux
- 8 Projets tutorés Qualité
- une dizaine d'ateliers pratiques (cryométhodes, tomographie, ESEM, Clem, etc...)

## Idée:

Pour faire suite à la valorisation du guide Qualité (200-2007), nécessité de bâtir une base de données commune à tous les membres du réseau regroupant les fiches, protocoles, instruction, photos pour:

- faciliter **partage et transmission** d'expérience
- fournir à chaque laboratoire un **outils** de gestion documentaire **adapté**



Ce système devait permettre

- de rédiger et partager les **fiches techniques** et des informations concernant les **équipements** et **méthodes** qu'utilisent les centres communs de microscopie électronique (protocoles, produits, marqueurs, distributeurs, appareils, mode d'emplois, SAV, métrologie...)
- mais aussi les formulaires des **activités spécifiques** aux centres communs (prestation, formation, etc...) : demande de travaux, les conventions, les questionnaires de satisfaction, les chartes, etc...

- **2007**: première création d'une base type access par un GT en collaboration avec un développeur (CDD CNRS)
- **2009**: premier nom de la base : DocQuIM. Nouveau cahier des charges, intégration d'une banque d'images. GT étoffé par des personnes du réseau RT-mfm
- **2010-2011**: absence de développeur disponible au CNRS: orientation vers un outil plus simple sur espace public et transmission via web et mot de passe, abandon de la banque d'images
- **2013**: Création de l'outil SIDR-e
- **2014**: une version beta est accessible aux membres du réseau pour test
- **2015**: Peu de participation, raison avancée : outil pertinent mais chronophage



Trouver outil plus attractif et plus facile à s'approprier

- Créer un espace collaboratif pour travailler sur l'écriture
- Mise en place d'un prototype basé sur technologie Microsoft SharePoint:  
<https://extra.core-cloud.net/collaborations/SIDR-e/>



**Futur** : compléter et faire évoluer ce nouvel outil pour le rendre utilisable par l'ensemble du Réseau.



-  **Accueil**
-  **Fiches** 
- Protocoles**
- Modes Opérateurs**
- Equipements**
- Notices**
- Produits**
- Solutions et tampons**
- Fabricant/ Distributeur/ SAV**
-  **Photothèque**
-  **Mes fichiers** 
-  **Mon compte/ unités** 
-  **Corbeille**

[MRCT](#)

Site hébergé au [CC-IN2P3](#)

[Crédits et mentions légales](#)

©2013 - CNRS/MRCT - V.0.1

## - SIDR-e -

[ **Mode Rédacteur** :: [Déconnexion](#) ] :: Beatrice BURDIN :: **Accueil**

[Notice d'utilisation](#) | [Conditions d'utilisation](#)

Bienvenu sur SIDR-e  
 SIDR-e : Système d'Information Documentaire des Réseaux électronique

Cette application permet de rédiger et partager la documentation qualité des nos laboratoires (fiches produits, équipement, mode opératoire, protocoles). Cette application a été développée par la MRCT, elle est accessible à tous les membres des réseaux technologiques.

Cette application est en cours de test. N'hésitez pas à nous faire part de vos suggestions (Didier.goux@unicaen.fr)

Vous pouvez utiliser toutes les fonctionnalités de la base de donnée et créer vos fiches produits, équipements et modes opératoires ou simplement rédiger des modes opératoires ou des protocoles en intégrant les produits et équipements dans la description. Vous pouvez aussi utiliser cette application pour échanger des informations sur vos anticorps

**Il faudrait commencer par rédiger les fiches produits!**

Web développement : Frédéric LEBIET.

Groupe de travail : Didier GOUX, Cédric MATTHEWS, Bruno PAYRE, Christian ROUVIERE, Yannick SCHWAB,

Conditions d'utilisation : Cette application est accessible à tous les membres des réseaux technologiques soutenus par la MRCT.

Vous pouvez choisir de rendre public vos fiches ou pas.


Cette application peut aussi servir de banque d'images. Les images que vous insérez dans vos fiches sont accessibles à tous public par défaut. Mais vous pouvez décider de ne pas les rendre accessibles à tous dans la rubrique mes images.


### Suivi de SIDRe

 **Protocoles** 

 **Modes opératoires** 

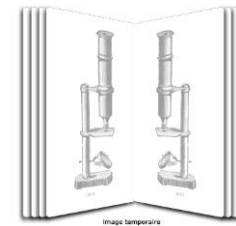
 **Equipements** 

 **Notices** 

 **Produits** 

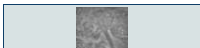
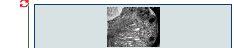
 **Solutions et tampons** 

## SIDR-e



Accueil -> Photothèque

**Photothèque**







- Accueil**
- Fiches**
- Photothèque**
- Mes fichiers**
- Mon compte/ unités**
- Corbeille**

MRCT

Site hébergé au CC-IN2P3

[Crédits et mentions légales](#)

©2013 - CNRS/MRCT - V.0.1



Mode Rédacteur :: Déconnexion :: Beatrice BURDIN :: Accueil -&gt; Fiches -&gt; Protocoles

## Recherche

Désignations/Références

Types

Sous-types

Affichage :  Toutes les fiches  Mes fiches  Autres fiches

&gt;&gt;

Fiche(s) dans la corbeille

Réf.	Date (version du)	Titre	Auteur
PreI4-954_315	2013-05-21 17:42:01	Observation de la paroi de bactéries en MET	Didier GOUX
Prph20-930_222	2013-05-13 15:28:39	Immuno-histo sur de l'os	Didier GOUX
PreI26-137_221	2013-05-13 14:44:06	FE-SEM...matrice fromagère "pate molle croute ...	Didier GOUX

1 Page(s) : 1

[Consulter/Supprimer un protocole](#)
[Ajouter/Modifier/Dupliquer un protocole](#)

## Consulter/ Supprimer un protocole

[\[ Vider le formulaire \]](#)

Télécharger la fiche



Réf. **PreI4-954\_315**

Désignations/références \* Microscopie électronique

Types\* MET : Morphologie

Sous-types (noms) \* Cellules disersées

Titre libre \* **Observation de la paroi de bactéries en MET**

Fiche renseignée par Didier GOUX

Publier la fiche oui → ? "oui" implique la publication automatique des fiches référencées

Fiche dupliquée à partir de la fiche

Date de création de la fiche 2013-05-17 15:37:11

+ Version de la fiche 2013-05-21 17:42:01

+ Référencement de la fiche

0 Commentaire(s) sur la fiche [+ Voir/Ajouter un commentaire sur la fiche](#)

Réf.	Date (version du)	Titre	Auteur
MOeI4-139_275	2013-05-21 17:23:32	Fixation Glutaraldéhyde 2.5% Rouge de ruthéni...	Didier GOUX
MOeI4-139_294	2013-05-21 17:25:28	Post fixation 1 % tetroxyde d'osmium 0,075 ro...	Didier GOUX
MOeI4-161_298	2013-05-21 17:35:10	Coloration en bloc à l'acétate d'uranyle de b...	Didier GOUX
MOeI22-36_303	2013-05-17 15:35:09	Inclusion en agar pour rassemblement	Didier GOUX
MOeI110-157_306	2013-05-21 17:37:17	Déshydratation de bactéries en alcool et oxyd ...	Didier GOUX
MOeI111-86_308	2013-05-21 17:38:42	Inclusion en epon de bactéries	Didier GOUX

Consignes de sécurité d'utilisation des appareils et des produits, mode d'élimination des déchets, ...

Eviter de respirer la poudre de rouge de ruthénium ou de s'en mettre sur la peau. Porter des gants, une blouse travailler sous une sorbonne derrière une vitre.

**Avant utilisation lire impérativement la fiche sécurité fournisseur**

Glutaraldéhyde : Port de gants en néoprène, port de lunettes, utilisation sous Sorbonne, vêtement de protection (blouse)

**Avant utilisation lire impérativement la fiche sécurité fournisseur**

Porter des gants, une blouse travailler sous une sorbonne derrière une vitre

**Avant utilisation lire impérativement la fiche sécurité fournisseur**

Eviter de respirer la poudre de cacodylate de sodium ou de s'en mettre sur la peau.

**Avant utilisation du tetroxyde d'osmium lire impérativement la fiche sécurité fournisseur**

Port des gants, utilisation sous hotte derrière une vitre, vêtement de protection (blouse)

**Avant utilisation de l'acétate d'uranyle lire impérativement la fiche sécurité fournisseur**

Travailler avec l'acétate d'uranyle sous une sorbonne derrière une vitre ou porter un appareil respiratoire autonome, porter des gants de caoutchouc épais et une blouse. Matériel radioactif. Contact: Irritation: peau, yeux. Inhalation: irritation des muqueuses et des voies respiratoires supérieures.

Précautions à prendre pour une manipulation sans danger de l'éthanol

Lire attentivement la fiche fournisseur, Conserver à l'écart de toute flamme ou source d'étincelles-Ne pas fumer.

Porter un vêtement de protection et des gants appropriés.

Éviter le contact avec la peau et les yeux. Éviter de respirer les vapeurs ou le brouillard.

**Avant utilisation de l'oxyde de propylène lire impérativement la fiche sécurité fournisseur**

Port des gants très résistants (produit qui traverse très vite latex) ; port de lunettes; utilisation sous hotte derrière une vitre (ou avec des lunettes) et un vêtement de protection (blouse)

**Avant utilisation du DDSA lire impérativement la fiche sécurité fournisseur**

Porter des gants, une blouse travailler sous une sorbonne derrière une vitre (ou avec des lunettes) pour utiliser le DDSA

**Avant utilisation lire impérativement la fiche sécurité fournisseur**

Porter des gants, une blouse travailler sous une sorbonne derrière une vitre avec l'EMBED 812

Lire attentivement la notice fournisseur avant d'utiliser le DMAE



- Accueil**
- Fiches**
- Photothèque**
- Mes fichiers**
- Mon compte/ unités**
- Corbeille**

MRCT

Site hébergé au CC-IN2P3

Crédits et mentions légales

©2013 - CNRS/MRCT - V.0.1



[ Mode Rédacteur :: Déconnexion ] :: Beatrice BURDIN :: Accueil -&gt; Fiches -&gt; Produits

### Recherche

Désignations/Références

Types

Sous-types

Affichage :  Toutes les fiches  Mes fiches  Autres fiches

>>

Fiche(s) dans la corbeille

Réf.	Date (version du)	Titre	Auteur
P26-938_418	2013-09-25 12:01:37	Antiadhérent pour Moules Formen-Trennmittel	Didier GOUX
P26-102_414	2013-08-02 11:58:36	OsO4 solution aqueuse	marion DECOSSAS
P27-651_407	2013-07-17 17:06:42	GAM-10nm réf EM_GMHL10 (BB1)	CATHERINE DURIEU
PeI937-957_394	2013-06-14 12:56:21	Cibles pour métallisation à prix intéressant	Didier GOUX
P27-646_392	2013-06-06 16:55:21	Anticorps secondaire couplé à un fluorochrome ...	Christine LONGIN

13 Page(s) : 1 2 3 ... >>>

Consulter/Supprimer un produit | Ajouter/Modifier/Dupliquer un produit

### Consulter/ Supprimer un produit

[ [Vider le formulaire](#) ]

Télécharger la fiche

Imprimer la fiche

Réf. **P26-102\_414**

Désignations/références \* **Produit**

Types\* **Produit chimique**

Sous-types (noms) \* **Tetroxyde d'osmium**

Titre libre \* **OsO4 solution aqueuse**

Localisation

Fabricant (marque)

Distributeur

Fiche renseignée par **marion DECOSSAS**

Publier la fiche **oui** → ? "oui" implique la publication automatique des fiches référencées

Fiche dupliquée à partir de la fiche

Date de création de la fiche **2013-08-02 11:55:10**

Version de la fiche **2013-08-02 11:58:36**

Référencement de la fiche

Commentaire(s) sur la fiche | [\[+\] Voir/Ajouter un commentaire sur la fiche](#)

Contact(s) du fabricant			
Nom	Fonction	Courriel	Tél.

Contact(s) du distributeur			
Nom	Fonction	Courriel	Tél.

Cas N° **20816-12-0**

Apparence **Solution en ampoule scellée de couleur jaune clair**

Incompatibilité **stockage séparément de l'HCl et des autres acides, bases, métaux organiques, agents réducteurs ou oxydants forts.**

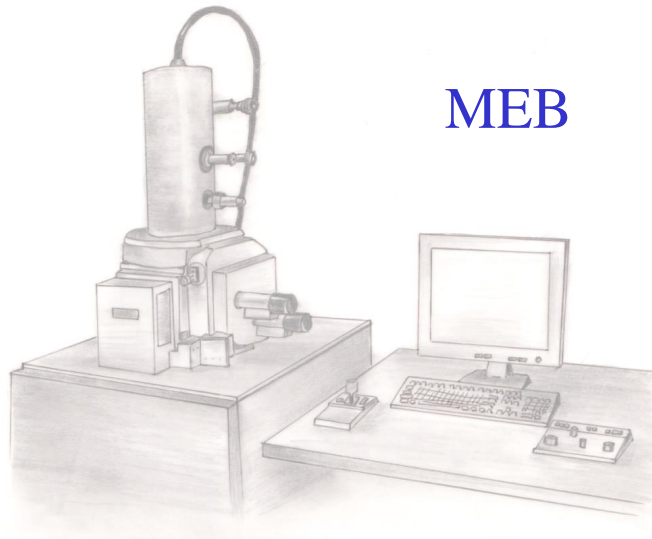
Stockage **- Utiliser des ampoules contenant les plus petits volumes possibles et en la plus faible concentration possible (2ml à 2%). Les ampoules une fois ouvertes seront alors utilisées dans leur totalité sur une unique manipulation.  
- Les ampoules stocks sont stockées à 4°C et bien étiquetées,**

Précautions particulières **Manipulation uniquement sous sorbonne conforme (hotte chimique)  
- Equipements de protection individuels**  
- Classeur de Fiches De Sécurité (FDS)  
- blouse en coton fermée  
- chaussures fermées  
- gants 100% nitrile en double paire et se laver les mains après les avoir retirés même s'il on est certain que les gants n'ont pas été perforés (changer les gants toutes les 20 min  
- lunettes de sécurité étanches aux vapeurs type goggle  
- Chariot d'absorbants  
- Douches de secours  
- Trousse de premiers secours

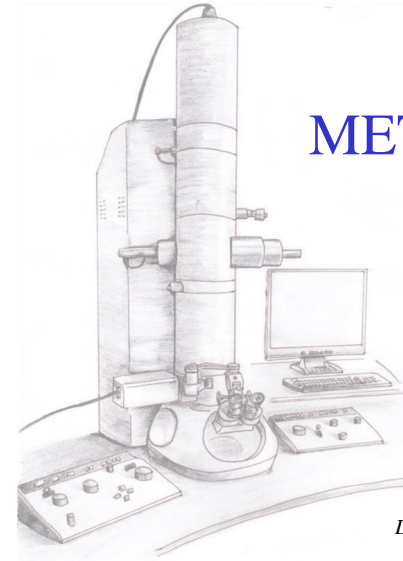
Elimination des déchets **Les déchets liquides** seront réduits en dioxyde d'osmium insoluble à l'aide d'huile de tournesol : verser 2 fois le volume d'huile de tournesol dans la solution à décontaminer (pour 10ml d'OsO4 2%, ajouter 20ml d'huile de tournesol). Pour vérifier que la neutralisation a bien eu lieu, verser de l'huile de tournesol sur un papier filtre et le suspendre au-dessus de la solution, un noircissement indiquera que la solution n'est pas complètement décontaminée. Il faudra alors renouveler la manipulation de décontamination.  
**Les déchets solides** sont stockés en double contenant dans lequel un fond d'huile de tournesol aura été ajouté.  
Les déchets liquides et solides sont évacués par la filière habituelle. Ils sont gardés sous la Sorbonne jusqu'à la demande d'évacuation faite par l'Assistant de prévention.  
Les résidus ne devraient pas être stockés plus de trois mois.  
Une attention particulière doit être portée afin de ne pas contaminer l'extérieur des contenants. Utiliser comme étiquettes : produit de laboratoire courant pour les liquides et absorbants et matériaux souillés pour les solides. Bien indiquer sur les étiquettes la présence d'osmium.

Découvrir - Maîtriser - Partager

Comment fonctionnent nos microscopes ?



MEB



MET

Dessins: C. Szczepaniak

But :

- Mettre en œuvre un travail de synthèse pour **Transmettre, Partager, Découvrir le savoir-faire des Techniques d’Observations et d’Analyses en microscopie électronique** afin d’exploiter au mieux les équipements dans les centres.
- Faire connaître les principales techniques d’observation en microscopie électronique en décrivant quelles sont les possibilités des microscopes et comment optimiser leur exploitation pour des applications propres au réseau.

## Groupe de travail “techniques d’observations et d’analyses”

### Méthode:

Aspect pratique mis en avant plus qu’aspect théorique (se différencier de l’existant)

Réunion du groupe sur les grands items et synthèse

Travail individuel : Réalisation d’observations « types » pour illustrations, rédaction des parties dédiées

Réalisation d’un cahier des charges pour site web

Ppt du contenu façon page web pour mise en ligne plus simple

Réalisation du site web par membre du groupe à l’aide de Dreamweaver CS3 (en cours) :

<http://www.123microscopie86.com/Dclic/>

### Futur:

Finaliser le site et l’ouvrir aux membres du réseau

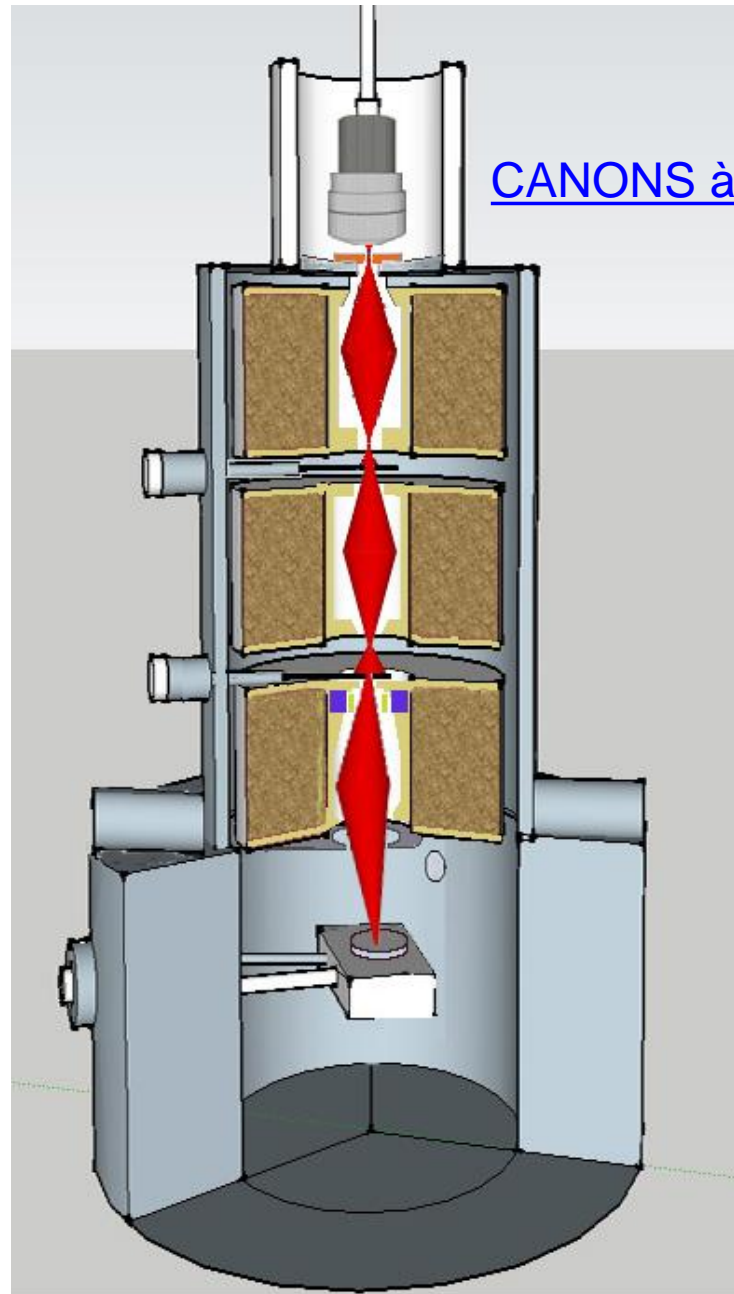
L’incrémenter régulièrement de techniques spécifiques ou par le travail des autres groupes

**Condenseur** : diamètre du faisceau, taille de spot, diaphragme condenseur

**Formation de l'image :**

- Focus
- WD et profondeur de champ
- Grandissement
- Astigmatisme
- Vitesse de balayage
- Contraste/Brillance
- Détecteurs : ES, BSE, EDS

**Modes d'observation : HV, LV, ESEM :**  
applications, limites, cryo



CANONS à électrons

Lentilles électromagnétiques

OBJECTIF - Diaphragme Objectif

Métallisation

# Le canon (source d'électrons)

## PRATIQUE

### Choix du canon

**Effet HT :** (de 0.5 à 30 kV): choix de la haute tension est important pour la résolution des images, pour la pénétration du faisceau dans l'échantillon

Effets HT

(de 0.5 à 30 kV): choix de la haute tension est important pour la résolution des images, pour la pénétration du faisceau dans l'échantillon

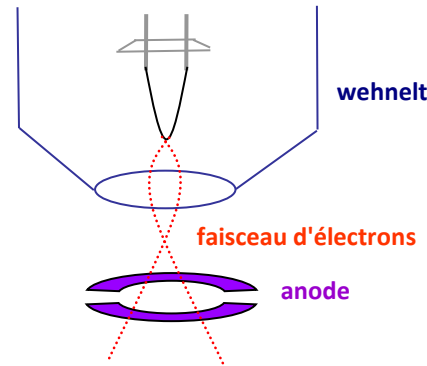
Tension d'accélération (kV)		5	10	15	20	25	30	
<b>Résolution</b>	Faible	←				Forte		Subtotal
<b>Effets de charge</b>	Faible	←				Fort		Subtotal
<b>Dégâts d'irradiation</b>	Faible	←				Fort		Subtotal
<b>Contaminations</b>	Peu	←				Beaucoup		Subtotal
<b>Pénétration du faisceau</b>	Faible	←				Forte		Subtotal

### Effet du COURANT D'ÉMISSION

Effets du courant d'émission MEB



### Alignement faisceau



## THEORIE

### Principales caractéristiques

**CANONS A ELECTRONS :**  
Thermo-électronique  
+ Saturation filament

**CANONS A ELECTRONS :**  
Effets de champ ou FEG

### Résolution

**COURANT D'ÉMISSION** (quantité d'électrons constituant le faisceau = Beam)  
- **BIAS**

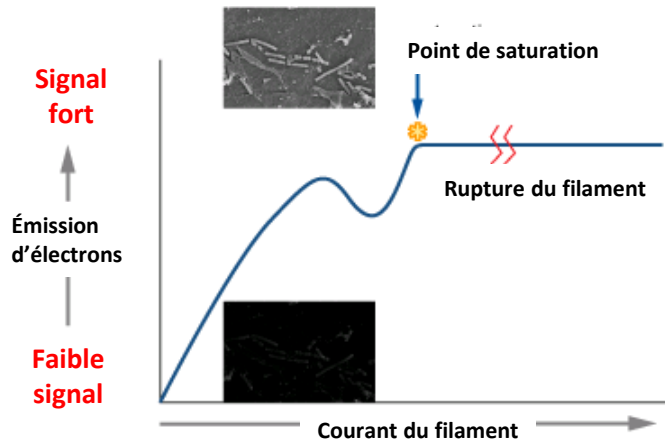
3 paramètres réglables sur les canons

- la haute tension
- la tension inverse sur le wehnelt = Bias, influe sur courant d'émission = Beam
- le courant de chauffage du filament (thermoioniques)

En savoir plus...

<http://www.ammr.org.au/myscope/sem/practice/principles/gun.php>

## Saturation du filament tungstène - uniquement pour canons thermoïoniques

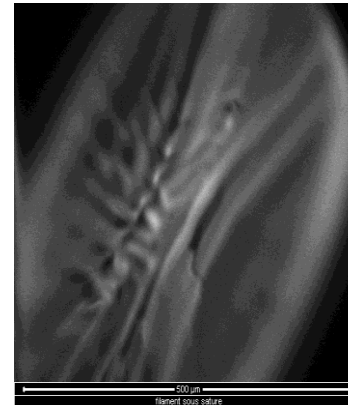


<http://www.ammr.org.au/myscope/sem/practice/principles/saturating.php>

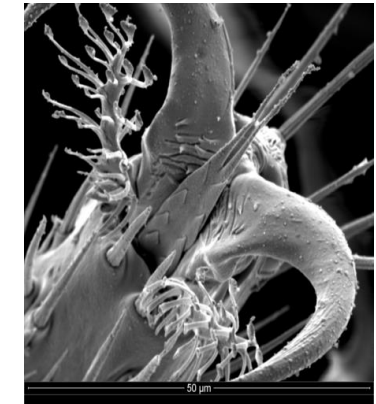
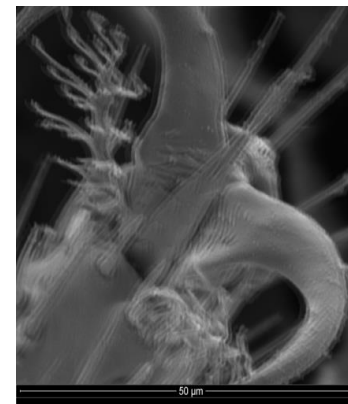
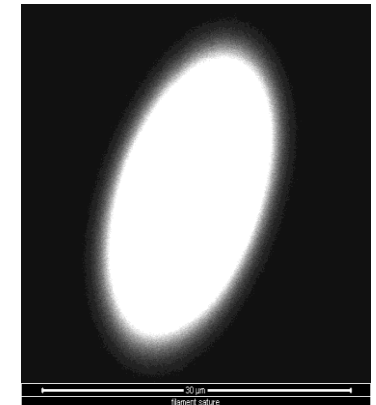
La saturation du filament (augmentation du courant) permet d'obtenir un grand nombre d'électrons émis par une petite zone du filament.

Le point de saturation est le niveau de courant de chauffage au delà duquel le courant d'émission n'augmente plus (plateau). Dépasser ce point diminue le temps de vie du filament.

filament sous saturé



filament saturé



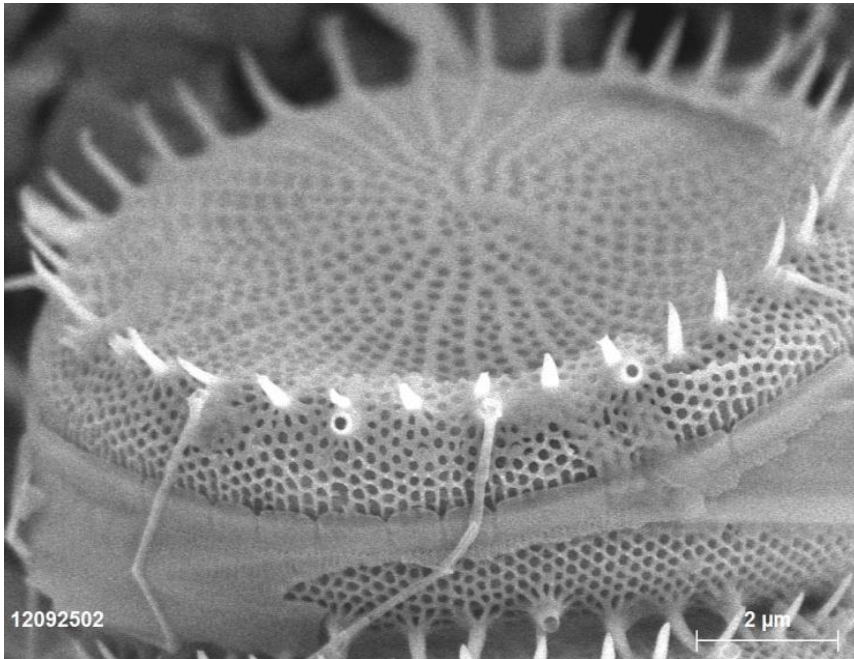


Fig. 3 : HT 5 kV

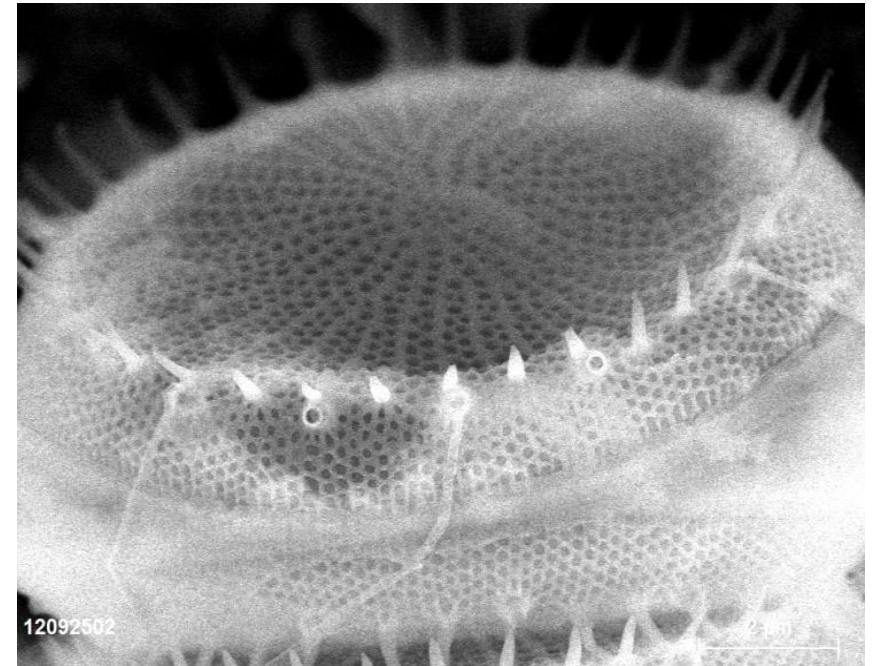
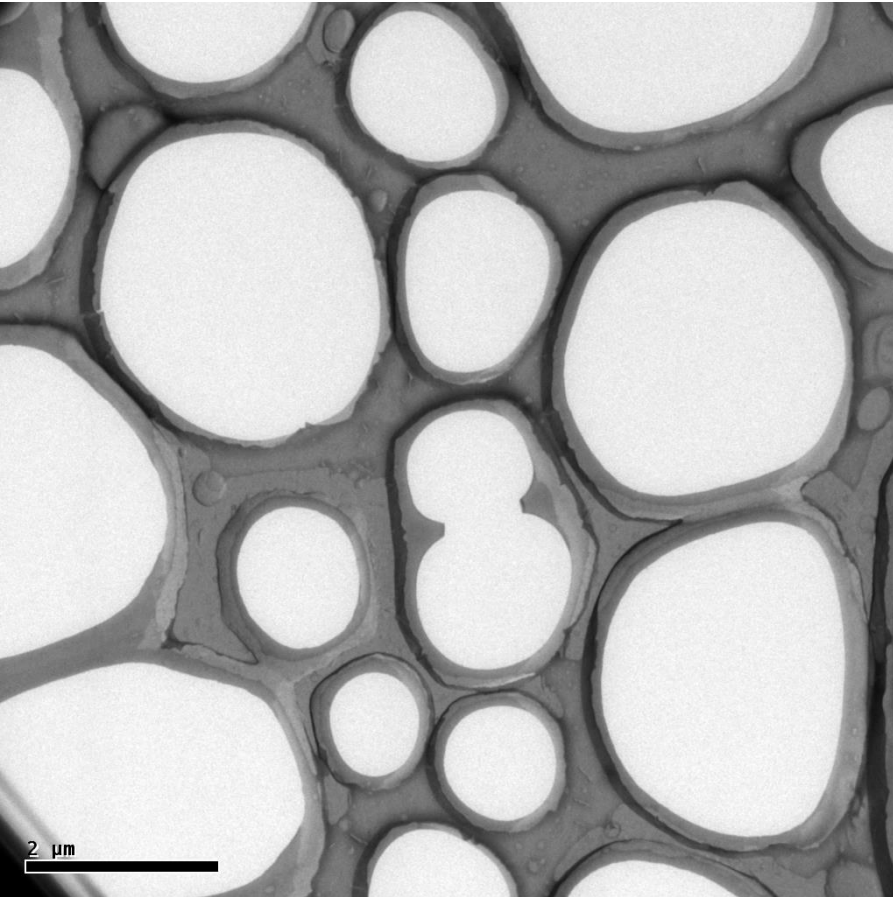


Fig. 4 : HT 15 kV

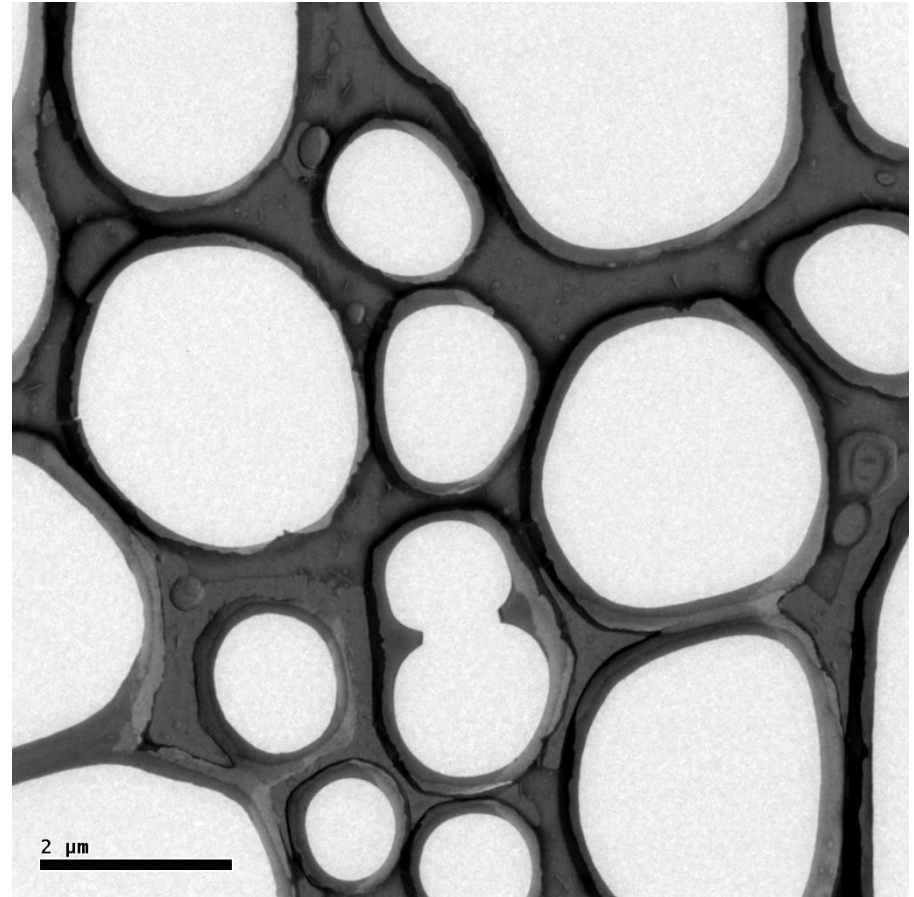
Diatomée métallisée – influence de la Haute Tension (tous les autres paramètres les mêmes)



Illustrations: Contraste en fonction HT



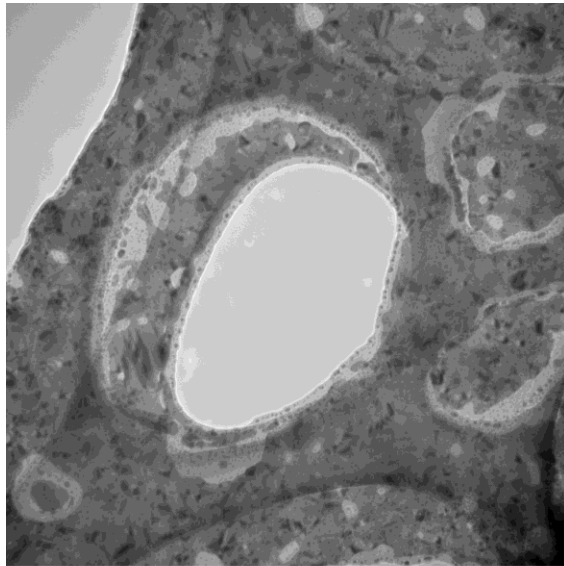
120kv



60kv

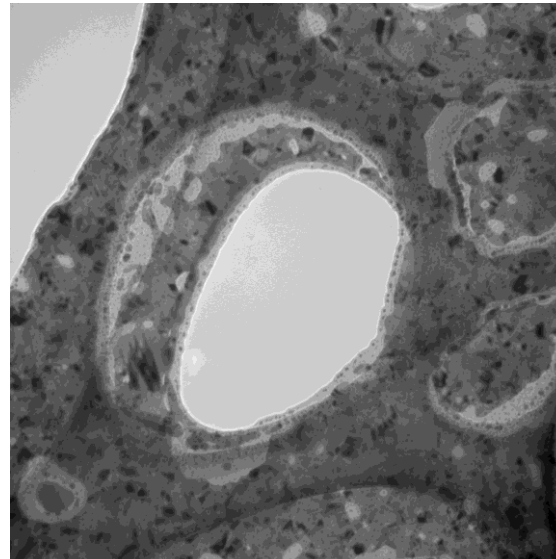
Membrane à trous à focus constant

# Formation de l'image – Contraste de diffusion



Essai Christelle Gpe3 25-03-2010.016.tif  
80kV Obj 0  
Print Mag: 161000x @ 150 mm

100 nm  
HV=80.0kV

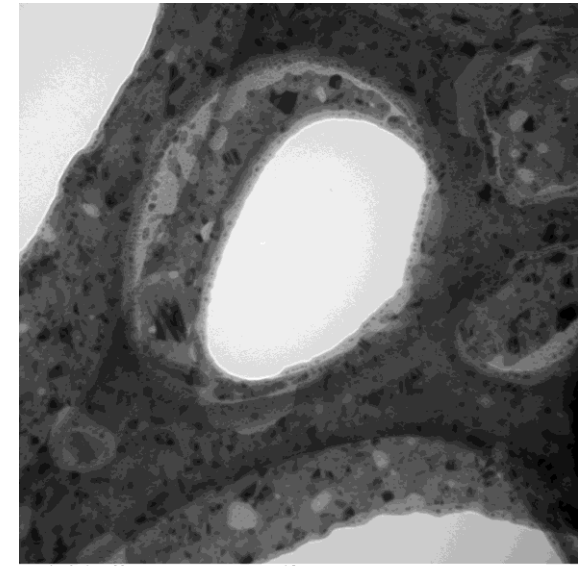


Essai Christelle Gpe3 25-03-2010.017.tif  
80kV Obj 1

100 nm

80µm

Membrane à trous à focus constant



Essai Christelle Gpe3 25-03-2010.019.tif  
80kV Obj 4  
Print Mag: 161000x @ 150 mm

100 nm  
HV=80.0kV

10µm

Diaphragmes objectifs : absent

**Les électrons diffusés élastiquement sont éliminés par le diaphragme objectif.  
Plus ce diaphragme est petit, plus le contraste de diffusion est marqué.**



Merci de votre attention!



Lyon 2009



Paris 2012