

## دستورالعمل فنی میکروسکوپ

### چگونگی کاربری

پس از گذاشتن لام روی صفحه مخصوص میکروسکوپ و روشن نمودن دستگاه از عدسی (لنز) x10 به منظور بررسی کل لام از نظر پراکندگی یکنواخت سلولی، یافتن انگل در گستره خون و کنترل آگلوتیناسیون گلبول‌های قرمز در انتقال خون؛ از عدسی x40 برای بررسی عادی گستره، شمارش افتراقی گلبول‌های سفید، شناسایی مرفولوژی سلول غیر طبیعی، مشاهده پلاسمودیوم و سایر انگل‌های خونی؛ از عدسی x100 برای دیدن انکلوژیون‌های کوچک گلبول‌های قرمز (مانند هاول جولی-بادی)، شناسایی نوع پلاسمودیوم و تعیین مرفولوژی گلبول سفید استفاده می‌شود. استفاده از این عدسی جهت کار روزمره سرعت کار را کند می‌کند و نیاز به روغن دارد.

### نحوه نگهداری

- میکروسکوپ باید در یک محیط تمیز نصب شود که دور از مواد شیمیایی، نور مستقیم خورشید، منبع حرارت یا رطوبت باشد. اگر صفحه لام با سالیین یا KOH آلوده شود باید فوری تمیز گردد تا از خوردگی جلوگیری شود. رطوبت و دمای بالا باعث رشد قارچ‌ها شده که می‌تواند به سطوح اپتیک آسیب برسانند. نگهداری در یک محیط بسته باعث رشد قارچ می‌شود. در آب و هوای مرطوب نیاز به مصرف مواد خشک کننده مثل کلرید کلسیم در یک محیط کوچک است.
- بعد از استفاده از عدسی ایمرسیون باید آن را توسط ورقه‌های مخصوص پاک کردن عدسی (lens papers) یا کاغذ جاذب یا پارچه نرم یا پنبه بدون کرک پاک کنید. سایر عدسی‌ها (چشمی و شیئی) را که آلوده به روغن شدند باید با کمی محلول تمیز کننده شامل دی اتیلن اتر 70% و اتانول 30% پاک گردند.
- عدسی‌ها نباید در الکل گذاشته شوند چون داربست آنها حل می‌شود. سایر قسمت‌ها با یک دترژان خفیف پاک شود. روغن و چربی ابتدا توسط اترپترولئوم و سپس محلول 45% اتانول در آب مقطر تمیز شود.
- اگر داخل عدسی چشمی نیز غبار رفته باشد باید باز و تمیز گردد.
- در صورت نیاز، کندانسور و عدسی دیافراگم با پارچه نرم آغشته به گزیلول یا تولوئن تمیز شود. آینه با پارچه آغشته به الکل 95% تمیز شود. مراقب باشید دیافراگم بسیار حساس بوده و اگر آسیب ببیند معمولاً تعمیر نمی‌شود.
- بخش‌های مکانیکی متحرک باید به سهولت حرکت کنند. هر قسمتی که به سختی کار کند، نیاز به روغن کاری دارد. باید از روغن مناسب استفاده شود و توجه به این نکته ضروری است که روغن گیاهی خشک شده و سفت می‌گردد. این عمل برای پیچ تنظیم coarse، پیچ تنظیم fine، حرکت کندانسور و صفحه لام انجام می‌گیرد. توصیه می‌شود به‌طور مرتب قسمت‌های متحرک تمیز و روغن کاری شود. این لغزندگی نه تنها باعث حرکت روان قسمت‌ها شده بلکه ساییدگی را کاهش داده و از خوردگی جلوگیری می‌کند. سطح ثابت صفحه لام باید خشک نگه‌داشته شود. اگر لامی خیس باشد به سختی حرکت می‌کند و به صفحه لام فشار آورده و به آن صدمه می‌زند.

### کالیبراسیون

معمولاً پس از خرید دستگاه جدید و توسط شرکت پشتیبان صورت می‌گیرد ولی در صورتی که کاربر در کالیبراسیون دستگاه مهارت داشته باشد می‌تواند به روش زیر عمل نماید:

### روشن سازی

یک لام (با لامل) روی صفحه لام قرار داده عدسی x10 را انتخاب کرده و مراحل زیر را انجام دهید:

۱- تمرکز منبع نور

- با آینه:

از سطح صاف آینه استفاده کنید. دیافراگم را حداکثر باز کنید. کندانسور را بالا ببرید. یک تکه کاغذ سفید نازک در بالای کندانسور روی عدسی قرار دهید. این کاغذ باید تصویری از لامپ الکتریکی را نشان دهد که توسط حلقه‌ای از نور احاطه شده باشد. آینه را طوری تنظیم کنید تا تصویر لامپ درست در مرکز حلقه نور قرار بگیرد. در صورتی که از روشنایی محیط استفاده می‌شود آینه را طوری تنظیم کنید که روشن‌ترین قسمت نور در مرکز قرار بگیرد.

• با نور توکار (لامپ):

نور را با پیچ تنظیم در وسط قرار دهید تا نتایج بالا به دست آید.

## 2- تمرکز کندانسور

کندانسور را پایین قرار دهید. دیافراگم را باز کنید. لام را با عدسی  $\times 10$  امتحان کنید. تصویر را میزان کنید. دیافراگم را ببندید. یک حلقه کدر نور که توسط دایره‌ای تاریک احاطه شده در میدان ظاهر می‌شود. به آهستگی کندانسور را بالا ببرید تا حلقه نور میزان شده و لبه آن کاملاً واضح و شارپ شود. اگر لازم است محل آینه را تنظیم کنید تا حلقه نور درست در وسط یا روی منطقه روشن محاط با تاریکی بیافتد. پیچ کندانسور را بالا ببرید تا حلقه نور درست در مرکز میدان باشد. در برخی از میکروسکوپ‌ها صفحه لام (stage) توسط پیچ بالا و پایین می‌رود که در این صورت لازم است با حرکت صفحه لام تصویر را میزان کنید.

## 3- تنظیم دیافراگم

دیافراگم را به‌طور کامل باز کنید. عدسی چشمی را در آورده و از لوله نگاه کنید. میدان را با یک حلقه نور می‌بینید. آهسته دیافراگم را ببندید تا حلقه نور فقط دو سوم میدان را بپوشاند.

### نحوه میزان کردن عدسی شیئی

• استفاده از عدسی ( $\times 10$ ):

کندانسور را تا انتها پایین ببرید. عدسی شیئی را آنقدر پایین بیاورید تا درست روی لام قرار بگیرد. با کمک پیچ بزرگتر، عدسی را بالا ببرید تا یک تصویر واضح دیده شود. اگر واضح نشد پیچ کوچکتر را در خلاف جهت تا ته بچرخانید. اگر باز هم تصویر واضح نشد کندانسور را کمی بالا ببرید.

• استفاده از عدسی ( $\times 40$ ):

کندانسور را تا وسط پایین بکشید. عدسی شیئی را تا روی لام پایین بیاورید. با کمک پیچ بزرگتر عدسی را بالا ببرید تا یک تصویر تار در میدان دیده شود. با پیچ کوچکتر آن را واضح کنید. اگر نشد کندانسور را برای روشنایی مناسب بالا ببرید.

• استفاده از عدسی با روغن ایمرسیون:

بهتر است، لام رنگ شده و خشک به کار برید. یک قطره روغن در محل مورد نظر بگذارید (از روغن مصنوعی استفاده کنید تا خشک نشود چون روغن چوب سدر به سرعت خشک می‌شود). کندانسور را تا جایی که ممکن است بالا ببرید. عدسی  $\times 100$  را به طرف لام پایین آورید تا در تماس با روغن قرار گیرد ولی فشار ندهید. به کمک پیچ کوچکتر تصویر را میزان کنید.

## لام و لامل

فاصله کاری عدسی، فاصله بین عدسی و چیزی است که باید دیده شود. هر قدر قدرت بزرگ‌نمایی عدسی بیشتر باشد این فاصله کمتر است. اگر لامل خیلی ضخیم باشد در درشت‌نمایی بالا نمی‌توان تصویر را میزان کرد.

لامل نیاید	فاصله کاری	عدسی شیئی	بنابراین
0/15 میلی‌متر	5-6 میلی‌متر	X10	ضخیمتر از
X100 روغنی	0/5-1/5 میلی‌متر	X40	در بررسی
اگر لام	0/15-0/20 میلی‌متر	X100	باشد. مسلماً

Mount نشده باشد و لامل نداشته باشد در بررسی با روغن ایمرسیون چنین مشکلی مطرح نخواهد بود.

## ایمرسیون با روغن

وقتی پرتو نور از هوا گذر کرده و به شیشه می‌رسد می‌شکند و وقتی از شیشه به هوا بر می‌گردد دوباره پرتو نور شکسته و به جای اول خود بر می‌گردد. این موضوع در درشت‌نمایی کم اثر زیادی ندارد اما در درشت‌نمایی بالا این شکست نور نه تنها باعث محدودیت میزان نوری است که به عدسی می‌رسد بلکه باعث محدودیت قدرت عدسی می‌شود. این شکست نور و محدودیت‌های آن را با کمک روغن و حذف هوای بین عدسی شیئی و لام کنترل می‌کنیم چون خاصیت اپتیک روغن مثل شیشه است. بدین ترتیب به جای این که نور از شیشه به هوا رفته و بشکند و دوباره از هوا به شیشه برگردد گویی تماما از شیشه عبور کرده است.

## درخشندگی

در مباحث بالا نحوه تنظیم نور میکروسکوپ مشخص شد. عدم موفقیت در هر مرحله منجر به بروز درخشندگی و تداخل آن با ایجاد یک تصویر خوب می‌شود. علل درخشندگی را باید رفع کرد:

- اشعه نوری که خارج از میکروسکوپ به چشم می‌رسد:  
(نور پنجره یا هر منبع نور در اتاق)، این مسئله را می‌توان با قرار دادن میکروسکوپ در محل تاریک یا کم نور اتاق رفع کرد. اگر ممکن نبود به کمک یک سایه‌بان برای چشم این درخشندگی را حذف می‌کنیم.
- یک منبع نور بزرگتر از آنچه مورد نیاز است:  
(مقدار نور بیشتر از نور مورد نیاز عدسی شیئی باشد)، این مشکل را با استفاده از منبع نوری که فقط میدان دید را روشن نماید رفع می‌کنیم. پس برای هر عدسی یک منبع نور لازم داریم. منبع نور بزرگ برای درشت‌نمایی کم و منبع نور کم برای درشت‌نمایی زیاد.
- کندانسور، با شکاف بزرگتر از آنچه مورد نیاز است:  
(کندانسوری که نور زیاد به عدسی شیئی می‌دهد)، این مسئله را با افزایش کنتراست در میکروسکوپ حل می‌کنیم ولی باعث هدر رفتن قدرت می‌شویم و اگر منابع دیگر درخشندگی محدود شود شکاف کندانسور نیاز به کاهش زیاد ندارد.
- انعکاس به عقب و جلو در نمونه بین لام و لامل یا هوای بین نمونه و عدسی شیئی:  
باعث درخشندگی شده و با انتخاب مونته مناسب مثل روغن، کانادا بالزام یا مواد مونته خنثی می‌توان کاهش داد. اگر لامل را حذف کنید و روغن غوطه وری به کار برید انعکاس کم شده و درخشندگی، کاهش می‌یابد.
- اشعه نور در داخل عدسی شیئی، لوله میکروسکوپ یا چشمی:  
که رفع این مشکل نیاز به فرد متبحر یا سازنده میکروسکوپ دارد.

## ایمینی

سیم برق دستگاه پس از استفاده و خاموش کردن آن از پریز جدا گردد.