**4. میکروسکوپ**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **اسم آزمایشگاه:** | {{LabName}} | |
| **اسم سند:** | **دستورالعمل فنی و کنترل کیفی میکروسکوپ** | |
| **کد سند:** | D-002-0004 | |
| **دسته بندی سند:** | **دستورالعمل و کنترل کیفی دستگاه ها و تجهیزات** | |
| **شماره ویرایش:** | {{EditeNumber}} | |
| **تاریخ ویرایش:** | {{EditeDate}} | |
| **تاریخ بازنگری سند:** | {{ReviewDate}} | |
| **تهیه کننده:** | **تایید کننده:** | **امضاء :** |
| شرکت دارا ویرا آزما  دکتر داریوش شکری | {{ConfirmerOneName}} | {{ConfirmerTwoName}} |

**(1) هدف:**

شرح دستورالعمل فنی، تشریح روش کار، نگهداری و کنترل کیفی دستگاه میکروسکوپ.

**(2) دامنه كاربرد:**

واحدهای میکروب شناسی، پاتولوژی، ایمنی شناسی و آندرولوژی.

**(3) مسئولیت ها:**

در دستورالعمل کلی دستگاهها و تجهیزات آمده است.

**(4) تعاریف و اصطلاحات:**

* برای مشاهده سلول‌ها از انواع مختلف میکروسکوپ‌‌ها استفاده می شود. میکروسکوپ ابزاری است که اشیاء بسیار کوچک را با بزرگنمایی بسیار بالا قابل مشاهده می‌کند و تصویری را تولید می‌کند که در آن جسم، بزرگ‌تر از آنچه که در واقعیت است، به نظر می‌رسد.
* میکروسکوپ آزمایشگاهی با داشتن اجزایی چون عدسی ها (چشمی و شیئی)، پیچ تنظیم دقت، پایه اصلی، بازو، پنل، دیافراگم، گیره های لام گیر و منبع موتور به افراد امکان مشاهده نمونه های ریزی که با چشم مسلح قابل دیدن نیست را فراهم می نماید.

**(5) شرح دستورالعمل:**

* نمونه مورد نظر را در لام، زیر عدسی شیئی میکروسکوپ قرار دهید. سپس با چرخاندن عدسی شیئی جهت قرارگیری ضعیف ترین عدسی در مقابل عدسی چشمی، قسمت مورد نظر نمونه را پیدا و سپس مشاهده نمود. با تنظیم دیافراگم، میزان نور را نیز تنظیم کنید.
* در صورت تار بودن تصویر نمونه، باید با چرخاندن پیچ تنظیم و پیچ تنظیم دقیق به وضوح مناسبی از آن رسید.
* به منظور بررسی کل لام از نظر پراکندگی یکنواخت سلولی و یافتن انگل در گستره خون از عدسی ۴٠ استفاده می شود.
* برای بررسی عادی گستره باکتری ها (واکنش گرم، مورفولوژی و نوع آنها)، شمارش افتراقی گلبول های سفید و تعیین مورفولوژی، شناسایی مورفولوژی سلول غیرطبیعی، مشاهده پلاسمودیوم و شناسایی نوع پلاسمودیوم و سایر انگل های خونی از عدسی 100 استفاده می شود که نیاز به روغن ایمرسیون دارد.

**(6) کنترل کیفی و کالیبراسیون:**

معمولاً کنترل کیفی و کالیبراسیون پس از خرید دستگاه جدید توسط شرکت پشتیبان صورت می گیرد ولی در صورتی که کاربر در کالیبراسیون دستگاه مهارت داشته باشد می تواند به روش زیر عمل نماید:

**روشن سازي:** یک لام با لامل روي صفحه لام قرار داده عدسی 10 را انتخاب کرده و مراحل زیر را انجام دهید.

**تمرکز منبع نور:** دیافراگم را حداکثر باز کنید. کندانسور را بالا ببرید. یک تکه کاغذ سفید نازك در بالاي کندانسور روي عدسی قرار دهید. این کاغذ باید تصویري از لامپ الکتریکی را نشان دهد که توسط حلقه اي از نور احاطه شده باشد. آینه را طوري تنظیم کنید تا تصویر لامپ درست در مرکز حلقه نور قرار بگیرد. در صورتی که از روشنایی محیط استفاده می شود آینه را طوري تنظیم کنید که روشن ترین 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.

**تمرکز کندانسور:** تصویر را میزان کنید. دیافراگم x کندانسور را پایین قرار دهید. دیافراگم را باز کنید. لام را با عدسی 10 ببینید. یک حلقه کدر نور که توسط دایره هاي تاریک احاطه شده در میدان ظاهر می شود. 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 روي منطقه روشن محاط با تاریکی بیافتد. پیچ کندانسور را بالا ببرید تا حلقه نور درست در مرکز میدان باشد. در برخی از میکروسکوپ ها توسط پیچ بالا و پایین می رود که در این صورت لازم است با حرکت صفحه لام تصویر را روی صفحه لام میزان کنید.

**تنظیم دیافراگم:** دیافراگم را به طور کامل باز کنید. عدسی چشمی را در آورده و از لوله نگاه کنید. میدان را با یک حلقه نور می بینید. آهسته دیافراگم را ببندید تا حلقه نور فقط دو سوم میدان را بپوشاند.

**نحوه میزان کردن عدسی شیئی**

**استفاده از عدسی10X** : کندانسور را تا انتها پایین ببرید. عدسی شیئی را آنقدر پایین بیاورید تا درست روي 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 40X**: کندانسور را تا وسط پایین بکشید. عدسی شیئی را تا روي 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 براي روشنایی مناسب بالا ببرید.

**استفاده از عدسی با روغن ایمرسیون** (100X): این عدسی باید برای مشاهده لام رنگ شده و خشک استفاده شود. یک قطره روغن در محل مورد نظر بگذارید، کندانسور را تا جایی که ممکن است بالا ببرید. عدسی 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. از روغن مصنوعی استفاده کنید تا خشک نشود چون روغن چوب سدر به سرعت خشک می شود.

**لام و لامل:** فاصله کاري عدسی، فاصله بین عدسی و چیزي است که باید دیده شود. هر قدر قدرت بزرگنمایی عدسی بیشتر باشد این فاصله کمتر است. اگر لامل خیلی ضخیم باشد در درشت نمایی بالا نمی توان تصویر را میزان کرد. بنابراین لامل نباید از 15 میلیمتر ضخیمتر باشد.

**درخشندگی**:

* عدم موفقیت در هر مرحله از تنظیم میکروسکوپ منجر به بروز درخشندگی و تداخل آن با ایجاد یک تصویر خوب می شود. علل درخشندگی را باید رفع کرد**:**
* اشعه نوري که خارج از میکروسکوپ به چشم می رسد (نور پنجره یا هر منبع نور در اتاق): این مسئله را می توان با قرار دادن میکروسکوپ در محل تاریک یا کم نور اتاق رفع کرد. اگر ممکن نبود به کمک یک سایه بان براي چشم این درخشندگی را حذف می کنیم.
* مقدار نور بیشتر از نور مورد نیاز عدسی شیئی باشد: این مشکل را با استفاده از منبع نوري که فقط میدان دید را روشن نماید رفع می کنیم به این ترتیب که منبع نور بزرگ براي درشت نمایی کم و منبع نور کم براي درشت نمایی زیاد مورد استفاده است.
* وجود اشعه نور در داخل عدسی شیئی، لوله میکروسکوپ یا چشمی: رفع این مشکل نیاز به فرد متبحر یا سازنده میکروسکوپ دارد.

**(7) نگهداري:**

* میکروسکوپ باید در یک محیط تمیز و در جای کاملاً صاف نصب شود که دور از مواد شیمیایی، نور مستقیم خورشید، منبع حرارت یا رطوبت باشد.
* اگر آلوده شود باید فوري تمیز گردد تا از خوردگی جلوگیري شود. صفحه لام باید با سالین یا گزیلل تمیز شود.
* رطوبت و دماي بالا باعث رشد قارچها شده که می تواند به سطوح اپتیک آسیب برساند.
* نگهداري در یک محیط بسته در آب و هواي مرطوب نیاز به مصرف مواد خشک کننده مثل کلرید کلسیم در یک محیط کوچک است.
* بعد از استفاده از عدسی ایمرسیون باید عدسیها را که آلوده به روغن شدند توسط ورقه هاي مخصوص پاك کردن عدسی یا پارچه نرم یا پنبه بدون کرك پاك کنید. این تمیز کننده شامل دي اتیلن اتر 70% و اتانول 30% می باشند.
* عدسی ها نباید در الکل گذاشته شوند چون داربست آنها حل می شود. سایر قسمتها با یک دترژان خفیف پاك شود.
* چربی ابتدا توسط اتر پترولئوم و سپس محلول اتانول 45 درصد در آب مقطر تمیز می 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 45 درصد تمیز شود. مراقب باشید دیافراگم بسیار حساس بوده و اگر آسیب ببیند معمولاً تعمیر نمی شود.
* بخش هاي مکانیکی متحرك باید به سهولت حرکت کنند. هر قسمتی که به سختی کار کند، نیاز به روغن کاري دارد .باید از روغن مناسب استفاده شود. این عمل براي حرکت کندانسور و صفحه لام انجام می گیرد.
* توصیه می شود به طور مرتب قسمت هاي، پیچ تنظیم و پیچ تنظیم متحرك تمیز و روغن کاري شود. این لغزندگی نه تنها باعث حرکت روان قسمتها شده بلکه ساییدگی را کاهش داده و از خوردگی جلوگیري می کند.
* سطح ثابت صفحه لام باید خشک نگه داشته شود. اگر لامی خیس باشد به سختی حرکت می کند و به صفحه لام فشار آورده و به آن صدمه میزند و بنابراین قبل از قرارگیری باید زیر آن خشک شود.

**فواصل انجام نگهداری**

**نگهداري روزانه:**

* چک سلامت و عملکرد صحيح لامپ ميکروسکوپ
* باید به کمک یک برس نرم روزانه کندانسور را نظافت و غبارروبی کرد.
* مخلوط مساوی آب مقطر و الکل 96 درصد بهترین ماده تمیز‌کننده سطوح میکروسکوپ به صورت روزانه است ولی آب و صابون برای رفع آلودگی‌های شدید باید استفاده گردد.
* مهمترین قسمت‌های نیازمند مراقبت در میکروسکوپ، عدسی‌های چشمی و شیئی هستند که بعد از پایان روز کاری باید با کمک آب و یک سواب پنبه‌ای تمیز گردند. برای از بین بردن رسوبات غلیظ می‌توان از گزیلل استفاده کرد اما استفاده روزانه از آن ممنوع است زیرا گزیلل سیمان اطراف لنز را از بین برده و لنز را شل می‌کند. همچنین غوطه‌ور کردن عدسی‌های میکروسکوپ در گزیلل، اتانل و استون ممنوع است.
* بعد از استفاده از میکروسکوپ و انجام نگهداری روزانه باید بر روی آن روکش کشید.
* مقدار کمی ‌مایع تمیز کننده لنز یا اتانول ۷۰ درصد را روی كاغذ لنز پاك‌كن قرار دهید و لنز را تمیز کنید. اتانول ۷۰ درصد بیشتر توصیه می‌شود زیرا می‌تواند سطح را به طور موثر و ایمن تمیز و ضد عفونی کند.

**هفتگی**: قسمت‌هاي مكانيكي هر هفته تميز و روغن زده شود.

**ماهانه**: كندانسور هر ماه بايد تنظيم شود.

**نگهداري موردی:** تعويض لامپ در صورت سوختن

**(8) سرویس و تعمیرات:**

در دستورالعمل کلی دستگاهها و تجهیزات آمده است.

**(9) ملاحظات ایمنی:**

* در مدتی که به دنبال جستجو و بررسی کلی اسلاید هستید، آنقدر عدسی‌های شیئی را پایین نیاورید تا به سطح اسلاید برخورد داشته باشند، زیرا ممکن است این کار به لنزها آسیب برساند یا سبب شکستن اسلاید شود.
* میکروسکوپ را با هر روغن یا اسپری روغنی، روغن کاری نکنید، زیرا به تدریج روغن خشک و سفت شده، به دستگاه آسیب می‌رساند.
* سیم برق دستگاه پس از استفاده و خاموش کردن آن از پریز جدا گردد.
* ظروف حاوی اسید و باز نباید در نزدیکی میکروسکوپ باشند.
* از فشردن عدسی روی لام باید اجتناب کرد زیرا می‌تواند باعث خط افتادن یا شکستن لنز شود.

**خطرات آلودگی‌ها:** میکروسکوپ و اجزای سازنده آن در تماس با مواد و نمونه‌های مختلف قرار می‌گیرند که بعضی از آن‌ها برای سلامت انسان و محیط زیست خطرناک محسوب می‌شوند. جهت جلوگیری از انتقال آلودگی به وسیله میکروسکوپ به موارد زیر عمل کنید:

* قبل از استفاده از میکروسکوپ لازم است آن را تمیز کرده و سپس ضدعفونی کنید.
* هرکدام از اجزای میکروسکوپ را جداگانه بررسی کنید و در صورت لزوم و قسمت‌های آلوده را با دقت تمیز و ضدعفونی کنید.
* حین استفاده از میکروسکوپ از دستکش استفاده کنید.

**خطر انتقال عفونت‌ها:** تماس مستقیم با چشمی میکروسکوپ یکی از راه‌های انتقال عفونت‌های باکتریایی و ویروسی است. با استفاده از چشمی‌های شخصی، می‌توان احتمال انتقال عفونت را تا حد زیادی کاهش داد و در صورت موجود نبودن بهتر است قبل از استفاده با پنبه آغشته به اتانول 70 درصد عدسی های چشمی و لاستیک های محافظ اطراف آنها را ضدعفونی نمود. به طور کلی برای جلوگیری از انتقال عفونت‌های مختلف، از [تجهیزات حفاظت فردی (PPE)](https://medpip.com/mag/%D9%BE%D9%88%D8%B4%DB%8C%D8%AF%D9%86-%D9%88-%D8%AF%D8%B1%D8%A2%D9%88%D8%B1%D8%AF%D9%86-%D9%88%D8%B3%D8%A7%DB%8C%D9%84-%D8%AD%D9%81%D8%A7%D8%B8%D8%AA-%D9%81%D8%B1%D8%AF%DB%8C/) استفاده کنید. به عنوان مثال توصیه می‌شود حین کار با میکروسکوپ و تمیز کردن آن از دستکش استفاده کنید و مرتباً آن‌ها را تعویض کنید تا خطر انتقال آلودگی به حداقل برسد.

**(10) محدوديت ها و تداخلات:**

در جدول 1 خطاهای میکروسکوپ، دلایل این خطاها و راه‌حل‌های رفع آنها آمده است.

جدول 1. خطاهای میکروسکوپ و دلایل آنها.

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| خطاهای میکروسکوپ | دلیل/ دلایل | راه‌حل‌های رفع خطا |
| عدسی‌های شیئی در یک ارتفاع نیستند | شل بودن عدسی‌ها | محکم کردن عدسی‌ها |
| عدسی‌ها هنگام چرخش با لامل نمونه تماس دارند | لام و لامل ضخیم / تنظیم نبودن عدسی‌ها | انتخاب لامل مناسب و نازک / تنظیم عدسی‌ها |
| تغییر رنگ‌ها | کدورت و یا کثیفی عدسی شیئی | تمیز کردن عدسی با سواب پنبه‌ای مرطوب با آب مقطر |
| تصویر عدسی 100 مات دیده می‌شود | نشت رطوبت یا روغن در لوله عدسی/ باقی ماندن لام برای مدت طولانی زیر میکروسکوپ | تمیز یا در صورت شدت آلودگی تعویض عدسی 100 |
| قطع و وصل نور چراغ | شل یا نیمه‌سوز بودن لامپ و فیوز | سفت کردن لامپ و فیوز و یا تعویض |
| میدان دید، سایه یک طرفه دارد و یا تصویری وجود ندارد و نور میکروسکوپ عبور نمی‌کند | گرداننده لنزها و یا کندانسور در جای نامناسب / قسمت Head میکروسکوپ در مرکز نیست | قرار دادن گرداننده و کندانسور در جای درست/ قرار دادن Head در مرکز |

**(11) مستندات و سوابق :**

فرم سوابق یاLog book نگهداری روزانه و تمیزکاریوهمچنینسوابق کنترل کیفی و کالیبراسیون و موارد عدم انطباق و اقدامات اصلاحی و سرویس دستگاه.

**(12) منابع**

1. مهری علی اصغر پور، مهناز صارمی، راهنمای نگهداشت تجهیزات آزمایشگاهی، انتشارات سازمان بهداشت جهانی، ویرایش دوم (2008).
2. A Guide to Biosafety & Biological Safety Cabinets, ESCO. World Class. Worldwide.
3. ISO 15189:2022: Medical laboratories — Requirements for quality and competence. Edition 4, 2022.