

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 8^ο ΜΙΚΡΟΣΚΟΠΙΑ

8.1. Γενικά

Οι μικροοργανισμοί, στους οποίους οφείλονται τα περισσότερα μεταδιδόμενα νοσήματα, δηλαδή τα λοιμώδη, είναι πολύ μικροί για να τους δούμε με γυμνό μάτι, όπως επίσης και τα περισσότερα κύτταρα. Το μικροσκόπιο είναι ένα όργανο που μεγεθύνει και μπορούμε να παρατηρήσουμε αντικείμενα και λεπτομέρειες που δεν είναι ορατά με το μάτι. Τα μικροσκόπια χρησιμοποιούνται και σε άλλους τομείς, όπως στη βιολογία, για ερευνητικούς σκοπούς, κτλ.



Σχήμα 8.1. Μικροσκόπια: μονοφθάλμιο και διοφθάλμιο

8.2. Είδη μικροσκοπίων

Τα μικροσκόπια διακρίνονται σε φωτεινά-οπτικά και ηλεκτρονικά. Με τα οπτικά μικροσκόπια μπορούμε να δούμε αντικείμενα και μικροοργανισμούς ορισμένου μεγέθους, όπως βακτήρια και κύτταρα. Για μικρότερα, όπως οι ιοί ή τα πολύ μικρά οργανίδια ή λεπτομέρειες, χρησιμοποιείται το ηλεκτρονικό μικροσκόπιο.

Τα φωτεινά –οπτικά μικροσκόπια χωρίζονται σε:

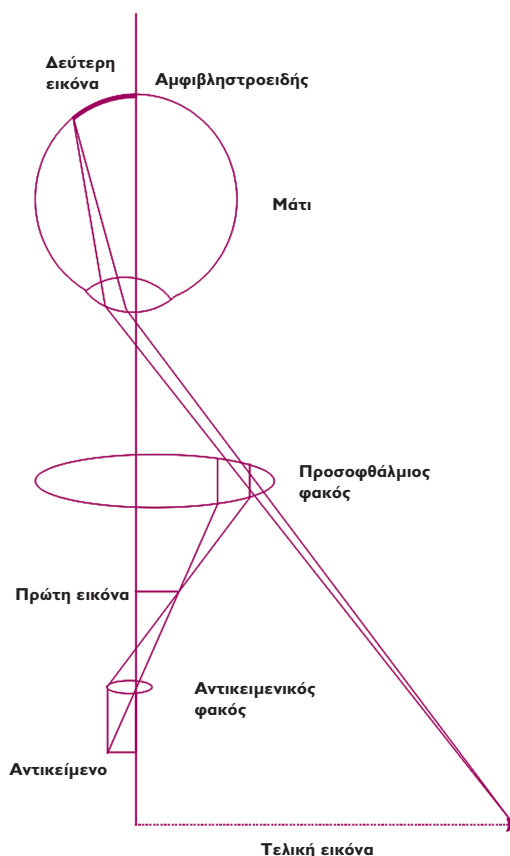
- Κλασσικό φωτεινό μικροσκόπιο.
- Μικροσκόπιο αντιθέτου φάσης.
- Μικροσκόπιο σκοτεινού πεδίου.
- Μικροσκόπιο φθορισμού-ανοσοφθορισμού.

Τα ηλεκτρονικά διακρίνονται σε:

- Transmission.
- Ανοσοφθορισμού.
- Σάρωσης.

8.3. Αρχή μικροσκοπίου

Το σύνθετο μικροσκόπιο έχει βασικά δύο συστήματα φακών, τους προσοφθάλμιους και τους αντικειμενικούς. Τα δυο συστήματα χωρίζονται από ένα σωλήνα έτσι, ώστε η απόσταση των δύο φακών να βοηθά στη μεγέθυνση του αντικειμένου. Το φως από την κατάλληλη φωτεινή πηγή περνά μέσα από το συμπυκνωτή, ο οποίος το συγκεντρώνει στο αντικείμενο που θέλουμε να μικροσκοπίσουμε, π.χ. μία αντικειμενοφόρο πλάκα με επίστρωση αίματος. Αφού το αντικείμενο φωτιστεί, παράγεται η πρώτη εικόνα από τον αντικειμενικό φακό και μεγεθύνεται από τον προσοφθάλμιο. Ο φακός του ματιού μεγεθύνει την εικόνα που σχηματίζει ο προσοφθάλμιος και την εστιάζει στο αμφιβληστροειδή.

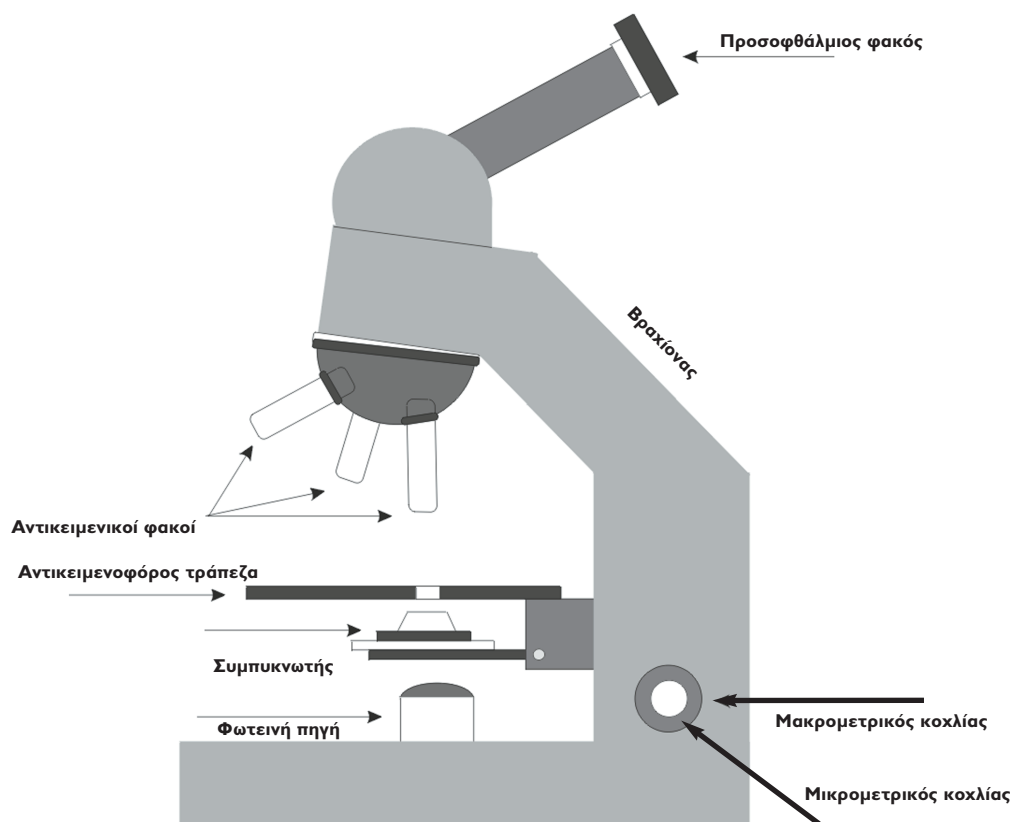


Σχήμα 8.2.
Αρχή λειτουργίας του φωτεινού μικροσκοπίου.

8.4. Περιγραφή της συσκευής

Το σύνθετο μικροσκόπιο μπορούμε να το χωρίσουμε σε συστήματα για καλύτερη κατανόηση. Έχουμε λοιπόν:

- Το σύστημα υποστήριξης (μηχανικό-στατό).
- Το σύστημα μεγέθυνσης.
- Το σύστημα φωτισμού.
- Το σύστημα εστίασης (προσαρμογής).



Σχήμα 8.3. Τα κυριότερα μέρη του μικροσκοπίου.

8.4.1. Το σύστημα υποστήριξης

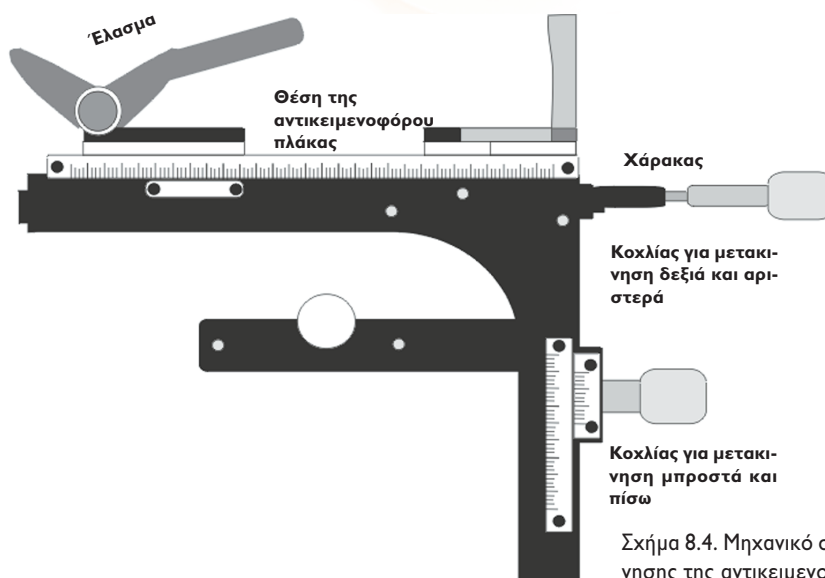
Στηρίζει και συνδέει τα μέρη του μικροσκοπίου. Αποτελείται από:

- Τη βάση.
- Το βραχίονα ή στέλεχος.
- Το σωλήνα που συγκρατεί τα συστήματα των φακών.
- Την αντικειμενοφόρο τράπεζα με το σύστημα μετακίνησης της πλάκας.

Η βάση ή στατώ είναι το τμήμα στο οποίο στηρίζεται το μικροσκόπιο. Στο κέντρο της βάσης βρίσκεται η φωτεινή πηγή. Σε πολλά μικροσκόπια εκεί υπάρχει διακόπτης για το άνοιγμα του μικροσκοπίου, διακόπτης για τη ρύθμιση της έντασης του φωτισμού και είσοδος του καλωδίου ρεύματος.

Στη βάση στηρίζεται κάθετα ο βραχίονας ή το στέλεχος του μικροσκοπίου. Ο βραχίονας είναι ένας μεταλλικός άξονας (σωλήνας) που παρουσιάζει προς τα πάνω μικρή κάμψη. Σ' αυτόν προσαρμόζονται: στη μέση η αντικειμενοφόρος τράπεζα, προς τα πάνω ο σωλήνας των φακών, (στο ένα άκρο του υπάρχει το σύστημα των προσοφθαλμίων και στο άλλο των αντικειμενικών, όπως θα αναφερθεί παρακάτω) και κάτω από την τράπεζα συνδέεται ο συμπυκνωτής. Στα αντίστοιχα σημεία υπάρχουν κοχλίες, που βοηθούν στην εστίαση του παρασκευάσματος. Από το βραχίονα μπορεί να κρατηθεί το μικροσκόπιο για να μετακινηθεί.

Στην τράπεζα τοποθετείται το αντικείμενο που θέλουμε να μικροσκοπίσουμε και για αυτό την ονομάζουμε αντικειμενοφόρο. Είναι τετράγωνη και έχει στο κέντρο ένα άνοιγμα από όπου περνά το φως από τη φωτεινή πηγή και φωτίζει το παρασκεύασμα. Πάνω στην τράπεζα προσαρμόζεται σύστημα για τη συγκράτηση της αντικειμενοφόρου πλάκας. Το σύστημα αυτό αποτελείται από μεταλλικό χάρακα (Βερνιέρο) που στα άκρα του υπάρχουν ελάσματα ή πίεστρα, τα οποία ανοίγουν, τοποθετείται η πλάκα και κλείνουν, οπότε η πλάκα είναι σταθερή. Όλο αυτό το σύστημα (χάρακας, πλάκα και ελάσματα) μπορεί, με τη βοήθεια κοχλίων, να μετακινηθεί, δεξιά-αριστερά, μπροστά και πίσω, ώστε να μετακινείται το παρασκεύασμα και να παρατηρείται σε όποιο σημείο θέλουμε.



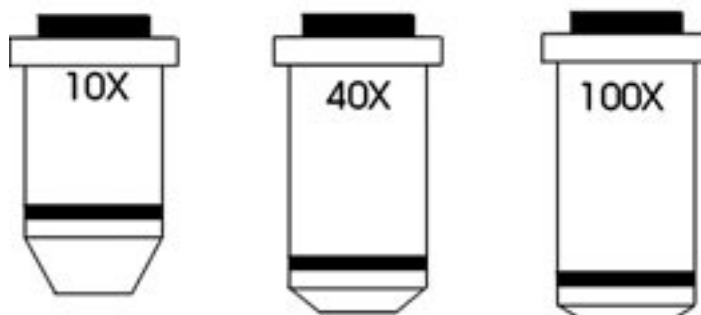
Σχήμα 8.4. Μηχανικό σύστημα μετακίνησης της αντικειμενοφόρου πλάκας

8.4.2. Το σύστημα μεγέθυνσης

Αποτελείται από τους φακούς που μεγεθύνουν τα παρασκευάσματα. Η μεγέθυνση του αντικειμένου γίνεται στο μικροσκόπιο με δύο ομάδες φακών, οι οποίοι βρίσκονται στα άκρα ενός σωλήνα. Το μήκος του σωλήνα βοηθά στη μεγέθυνση του αντικειμένου. Οι φακοί στο πάνω μέρος του σωλήνα ονομάζονται προσοφθαλμίοι (οφθαλμός), όπου ο χειριστής τοποθετεί τα μάτια του. Στο κάτω μέρος του σωλήνα βρίσκονται οι φακοί που είναι πάνω από το αντικείμενο και για αυτό ονομάζονται αντικειμενικοί.

Αντικειμενικοί φακοί

Προσαρμόζονται (βιδώνονται) σε μεταλλικό δίσκο, τη στεφάνη, ο οποίος περιστρέφεται. Με αυτό τον τρόπο επιλέγεται ο φακός με τη μεγέθυνση που επιθυμούμε. Οι αντικειμενικοί χωρίζονται σε ξηρούς και σε καταδυτικούς. Ονομάζονται ξηροί, επειδή μεταξύ αυτών και του παρασκευάσματος δεν παρεμβάλλεται υγρό και έχουν μεγέθυνση συνήθως X10, X20, X40. Ο καταδυτικός μπορεί να έχει μεγέθυνση X95 ή X100 και ονομάζεται έτσι επειδή καταδύεται, βυθίζεται, στο κεдрέλαιο. Το κεдрέλαιο χρησιμοποιείται, επειδή το φως, όταν περάσει μέσα από υλικά που δεν έχουν την ίδια πυκνότητα, αλλάζει διεύθυνση. Το φαινόμενο αυτό ονομάζεται διάθλαση. Στους φακούς με μικρή μεγέθυνση αυτό δεν έχει συνέπειες, στη μεγάλη μεγέθυνση όμως το άνοιγμα του φακού είναι πολύ μικρό, το φως εκτρέπεται περισσότερο και περνά λιγότερο φως στον αντικειμενικό φακό, ενώ παράλληλα επηρεάζει και τη διακριτική ικανότητα του φακού. Το πρόβλημα λύνεται, αν μεταξύ του φακού και του παρασκευάσματος τοποθετήσουμε υλικό που είναι παρόμοιο με το γυαλί, όπως κεдрέλαιο ή άλλο υγρό, που έχει τον ίδιο δείκτη διάθλασης με το φακό. Οι ακτίνες εκτρέπονται λιγότερο και η εικόνα είναι καθαρότερη.



Σχήμα 8.5. Αντικειμενικοί φακοί

Πάνω στους αντικειμενικούς φακούς είναι γραμμένα:

Ι. Η μεγεθυντική ικανότητα: δηλώνει πόσες φορές μεγαλώνει η διάμετρος του αντικειμένου. Σημειώνεται με ένα κεφαλαίο Χ και ο αριθμός, δηλαδή:

Χ10, μεγεθύνει το αντικείμενο δέκα φορές.

Χ100, μεγεθύνει το αντικείμενο εκατό φορές.

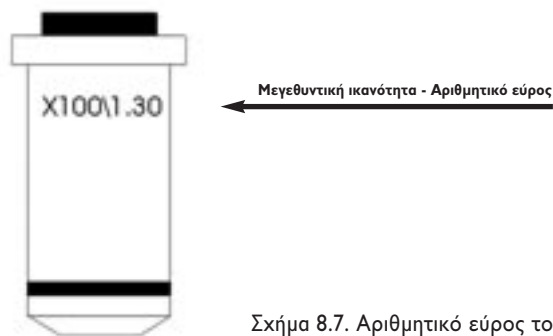


Σχήμα 8.6.

Μεγεθυντική ικανότητα του φακού και δακτύλιος

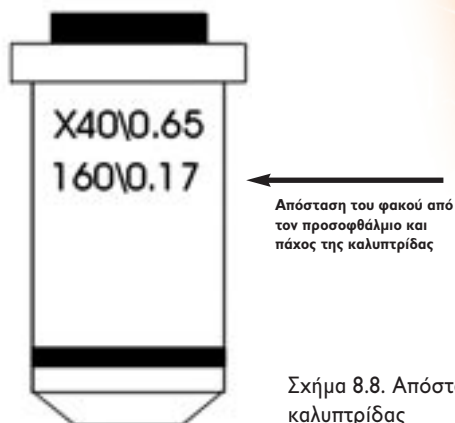
Οι φακοί έχουν συνήθως ένα χρωματιστό δακτύλιο για να ξεχωρίζουν, ο καταδυτικός έχει κόκκινο δακτύλιο.

2. Το αριθμητικό εύρος: συνήθως είναι γραμμένο και αυτό στον αντικειμενικό φακό, δίπλα στη μεγέθυνση, μετά την κάθετο (π.χ. Χ100/1.30). Όσο μεγαλύτερο είναι το αριθμητικό εύρος του φακού τόσο μεγαλύτερη είναι η διακριτική ικανότητά του. Όσο μεγαλύτερη είναι η διακριτική ικανότητα τόσο μικρότερο είναι το άνοιγμα του φακού. Η μύτη του καταδυτικού φακού είναι πολύ μικρή, σαν κεφάλι καρφίτσας, γι' αυτό πρέπει να το χειριζόμαστε με πολλή προσοχή.



Σχήμα 8.7. Αριθμητικό εύρος του φακού

3. Σε μερικούς αντικειμενικούς φακούς είναι επίσης γραμμένο, σε mm, το προτεινόμενο μήκος του σωλήνα, από τον προσοφθάλμιο μέχρι τον αντικειμενικό, που είναι συνήθως 160 mm. Επίσης, σημειώνεται και το προτεινόμενο πάχος της καλυπτρίδας (π.χ. X100/1.30, 160/0,17).



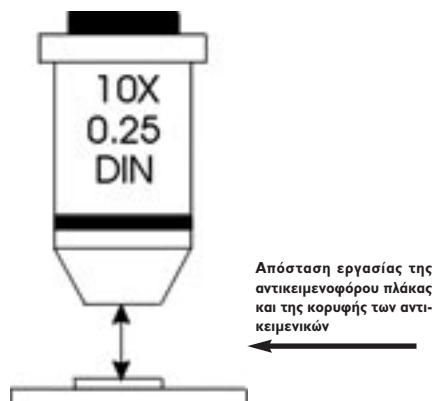
Σχήμα 8.8. Απόσταση του φακού από τον προσοφθάλμιο και πάχος της καλυπτρίδας

Οι θέσεις όπου βιδώνονται οι φακοί είναι ίδιες και οι φακοί μπορούν να βιδώνονται σε οποιοδήποτε θέση της στεφάνης. Η διάμετρος δηλαδή των φακών είναι ίδια. Διαφέρει το μήκος.

Η απόσταση εργασίας του αντικειμενικού.

Είναι η απόσταση της αντικειμενοφόρου πλάκας, όπου είναι το παρασκεύασμα, όταν έχουμε εστιάσει από την κορυφή του αντικειμενικού. Όσο μεγαλύτερη είναι η μεγεθυντική ικανότητα του φακού τόσο πιο μικρή είναι αυτή η απόσταση, δηλαδή στο καταδυτικό είναι η μικρότερη και στο X10 είναι η μεγαλύτερη.

- X10 η απόσταση εργασίας είναι 5-6mm
- X40 είναι 0,5-1,5mm
- X100 είναι 0,15-0,20mm



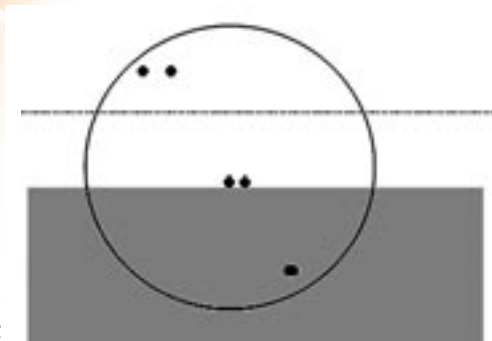
Σχήμα 8.9.

Απόσταση εργασίας της αντικειμενοφόρου πλάκας και της κορυφής των αντικειμενικών

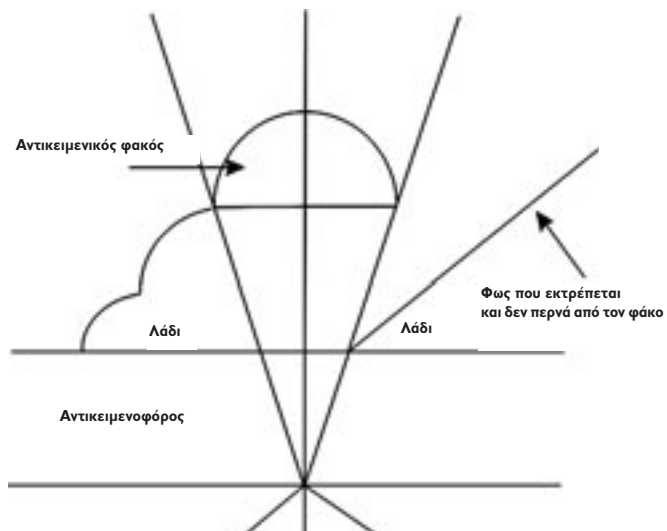
Διακριτική ικανότητα

Θεωρητικά, οι φακοί είναι δυνατό να μεγαλώνουν πάρα πολύ ένα μικρό αντικείμενο, αλλά καθώς μεγαλώνει το αντικείμενο, μειώνεται η καθαρότητά του, η ευκρίνειά του. Δηλαδή, όταν μεγαλώνει πολύ το αντικείμενο, δεν το βλέπουμε καθαρά. Το πόσο καθαρά βλέπουμε το αντικείμενο εξαρτάται από τη διακριτική ικανότητα του φακού.

Σχήμα 8.10
Κατανόηση της
διακριτικής ικανότητας



Όταν δύο πολύ μικρά σημεία βρίσκονται πολύ κοντά το ένα με το άλλο φαίνονται σαν να είναι ένα. Η ικανότητα ενός φακού να δείχνει τα δύο σημεία ξεχωριστά και με ευκρίνεια ονομάζεται διακριτική. Όσο μεγαλύτερη είναι η διακριτική ικανότητα ενός φακού τόσο πιο κοντά είναι τα σημεία, η εικόνα είναι καθαρότερη και μπορούμε να δούμε περισσότερες λεπτομέρειες. Το κεδρέλαιο αυξάνει τη διακριτική ικανότητα του φακού, επειδή μειώνει την εκτροπή των ακτίνων.



Σχήμα 8.11
Αρχή λειτουργίας του
καταδυτικού φακού

Το φυσιολογικό ανθρώπινο μάτι έχει διακριτική ικανότητα 0,25 mm, δηλαδή ξεχωρίζει δύο σημεία που βρίσκονται σε απόσταση 0,25 mm. Αν η απόσταση είναι μικρότερη, τα βλέπει σαν ένα. Η μεγαλύτερη διακριτική ικανότητα που έχει ένα μικροσκόπιο, το οποίο χρησιμοποιείται στα κλινικά εργαστήρια, είναι 0,25 μm.

Εκτροπές του φωτός, σφάλματα φακών

Όταν το φως περνά μέσα από το φακό, εκτρέπεται, αλλάζει κατεύθυνση, περισσότερο στις άκρες από ό,τι στο κέντρο. Εδώ έχουμε τη σφαιρική εκτροπή, που μπορεί να διορθωθεί με το διάφραγμα ή με ειδικούς φακούς.

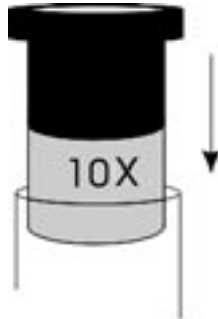
Το φως αποτελείται από διαφορετικές ακτινοβολίες, κάθε μία από αυτές έχει διαφορετικό χρώμα και όλες μαζί μας δίνουν το λευκό φως. Αν περάσει το φως μέσα από πρίσμα, αναλύεται, χωρίζεται στα διαφορετικά χρώματα. Οι φακοί του μικροσκοπίου αναλύουν και αυτοί το λευκό φως. Το **μπλε** χρώμα διαθλάται, εκτρέπεται, περισσότερο από το **κόκκινο**. Μ' αυτόν τον τρόπο δεν έχουμε καθαρή εικόνα. Αυτό το είδος της εικόνας που βλέπουμε και χαρακτηρίζεται ως χρωματική εκτροπή, μπορεί να διορθωθεί με ειδικούς φακούς.

- **Αχρωματικοί αντικειμενικοί φακοί:** χρησιμοποιούνται περισσότερο και διορθώνουν τη χρωματική εκτροπή του φωτός.
- **Αποχρωματικοί αντικειμενικοί φακοί:** εμποδίζουν τις σφαιρικές και χρωματικές εκτροπές του φωτός και η εικόνα είναι καθαρότερη.

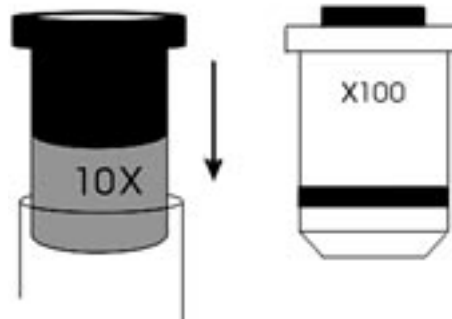
Στα σύγχρονα μικροσκόπια οι αντικειμενικοί με μεγάλη μεγέθυνση είναι εφοδιασμένοι με ελατήριο. Μ' αυτό τον τρόπο αν, όταν εστιάζουμε, ο αντικειμενικός πιεστεί στο παρασκεύασμα κατά λάθος, ανεβαίνει προς τα πάνω και δεν πιέζεται πάνω στην πλάκα. Έτσι δε σπάει το παρασκεύασμα και ο φακός δε γρατζουνίζεται.

Προσοφθάλμιοι

Υπάρχουν μικροσκόπια με έναν προσοφθάλμιο (μονοφθάλμια). Τα σύγχρονα μικροσκόπια έχουν δύο προσοφθάλμιους (διοφθάλμια). Με τα διοφθάλμια μικροσκόπια δε βλέπουμε περισσότερα πράγματα και καλύτερα, αλλά το πλεονέκτημά τους είναι ότι η χρήση τους είναι πιο ξεκούραστη για τα μάτια ιδίως, όταν μικροσκοπούμε πολλή ώρα, επειδή η εικόνα παρατηρείται και με τα δύο μάτια την ίδια στιγμή. Χρειάζονται όμως περισσότερο φως από τα μονοφθάλμια.



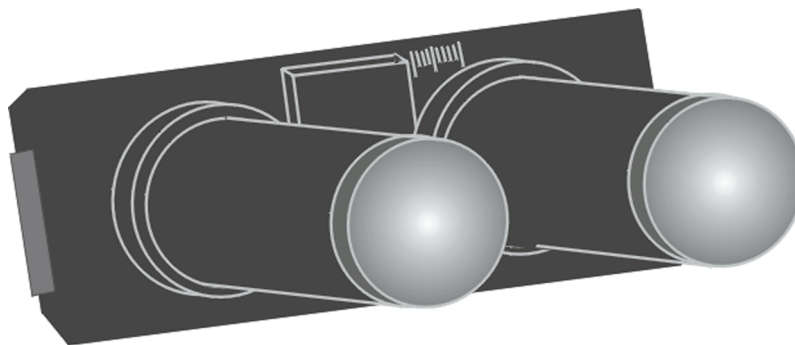
Σχήμα 8.12. Προσοφθάλμιος



Σχήμα 8.13. Μεγέθυνση του αντικειμένου ($10 \times 100 = 1000$)

Σε μερικά μικροσκόπια υπάρχει ένας παραπάνω προσοφθάλμιος, ο οποίος χρησιμοποιείται για φωτογράφιση.

Οι δύο προσοφθάλμιοι βρίσκονται στην κορυφή του βραχίονα του μικροσκοπίου, ο οποίος καταλήγει σε δύο σωλήνες, όπου στηρίζονται οι προσοφθάλμιοι. Δεν είναι ενσωματωμένοι, απλώς στηρίζονται στους κενούς σωλήνες και μπορούν να αλλάξουν. Οι δύο σωλήνες και οι προσοφθάλμιοι βρίσκονται σε ένα σύστημα όπου μπορεί να απομακρύνονται (αποκλίνουν) ή να πλησιάζουν (συγκλίνουν). Αποκλίνουν και συγκλίνουν ανάλογα με την απόσταση που έχουν οι κόρες των ματιών του χειριστή. Το σύστημα των προσοφθάλμιων έχει κλίση, είναι λοξό, έτσι ώστε η παρατήρηση να είναι ξεκούραστη.



Σχήμα 8.14. Σύστημα προσαρμογής των προσοφθαλμίων

Η μεγεθυντική ικανότητα είναι γραμμένη πάνω στο φακό. Οι πιο συνηθισμένοι προσοφθάλμιοι είναι Χ10. Για να δούμε πόση είναι η μεγέθυνση του αντικειμένου, πολλαπλασιάζουμε τη μεγέθυνση του προσοφθάλμιου με τη μεγέθυνση του αντικειμενικού. Δηλαδή, αν ο προσοφθάλμιος είναι Χ10 και ο αντικειμενικός Χ40, η μεγέθυνση του αντικειμένου θα είναι $10 \times 40 = 400$. Τα μικροσκόπια που χρησιμοποιούνται στα κλινικά εργαστήρια μεγεθύνουν από 50 ως 1000 φορές το αντικείμενο.

Για όσους φορούν γυαλιά, υπάρχουν ειδικοί προσοφθάλμιοι με τους οποίους δε χρειάζεται να απομακρύνονται τα γυαλιά. Σ' αυτούς τους φακούς προσαρμόζονται ειδικά προστατευτικά ελαστικά, για να μην γρατσουνίζονται. Αν δεν υπάρχουν οι ειδικοί προσοφθάλμιοι, ελέγχουμε το είδος των γυαλιών. Υπάρχουν τύποι γυαλιών που μπορούμε να τα φοράμε όταν μικροσκοπούμε.

Αν για κάποιο λόγο χρειαστεί να απομακρυνθούν οι προσοφθάλμιοι από τη θέση τους, δεν πρέπει οι σωλήνες να μένουν κενοί, αλλά να τοποθετηθούν άλλοι ή ειδικά ανταλλακτικά.

Φακοί του μικροσκοπίου		
Προσοφθάλμιοι	Αντικειμενικοί	
10X (5X)	Ξηροί 10X, 20X, 45X	Καταδυτικοί 100X (κεδρέλαιο)

8.4.3. Το σύστημα φωτισμού

Αποτελείται από την πηγή φωτισμού και το συμπυκνωτή. Παλαιότερα, υπήρχαν μικροσκόπια με φυσικό ή τεχνητό φωτισμό και κάτοπτρο (καθρέπτη). Σήμερα, ο φωτισμός είναι τεχνητός και η φωτεινή πηγή ενσωματωμένη στη βάση του μικροσκοπίου. Υπάρχει διακόπτης ON και OFF και διακόπτης που ρυθμίζει την ένταση του φωτισμού.

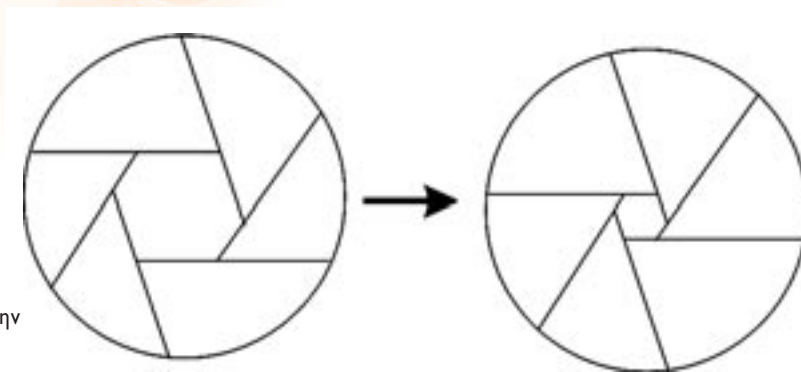
Ο συμπυκνωτής

Ο συμπυκνωτής αποτελείται από φακούς και βρίσκεται μεταξύ της φωτεινής πηγής και της αντικειμενοφόρου τράπεζας. Συγκεντρώνει τις ακτίνες που

εκπέμπονται από τη φωτεινή πηγή, τις κατευθύνει στο παρασκεύασμα που είναι πάνω στην τράπεζα και το φωτίζει. Μπορεί να ανεβαίνει (έντονος φωτισμός) και να κατεβαίνει (χαμηλός φωτισμός). Ο συμπυκνωτής μπορεί να είναι τύπου Abbe ή να διαθέτει φακό που απομακρύνεται, όταν η μεγέθυνση είναι μικρή, ή άλλου τύπου, που να διορθώνει τη σφαιρική εκτροπή πιο καλά από το σύστημα Abbe.

Το διάφραγμα

Το διάφραγμα είναι μέσα στο συμπυκνωτή. Το διάγραμμα ανοιγοκλείνει και έτσι μεγαλώνει ή μικραίνει αντίστοιχα η διάμετρος της δέσμης των ακτινών που περνούν από το συμπυκνωτή, προς το παρασκεύασμα. (Το άνοιγμα του διαφράγματος είναι η ίρις, που μοιάζει με την ίριδα του ματιού μας, η οποία όταν υπάρχει πολύ φως μικραίνει, ενώ αντίθετα όταν το φως είναι χαμηλό μεγαλώνει.). Το αποτέλεσμα είναι να αυξομειώνεται η ένταση και η γωνία του φωτός.



Σχήμα 8.15
Διάγραμμα με την
ίριδα

Φίλτρα

Σε μερικά μικροσκόπια τοποθετούνται κάτω από το συμπυκνωτή χρωματιστά φίλτρα, κυρίως μπλε. Αυτά δεν είναι μόνιμα, χρησιμοποιούνται ανάλογα με το είδος της μικροσκόπησης, μειώνουν την ένταση του φωτός, αυξάνουν τη διακριτική ικανότητα του μικροσκοπίου, επιτρέπουν τη δίοδο ορισμένων μόνο ακτινοβολιών, όπως στα μικροσκόπια φθορισμού, ή προστατεύουν τα μάτια από ορισμένες ακτινοβολίες.

8.4.4. Σύστημα εστίασης

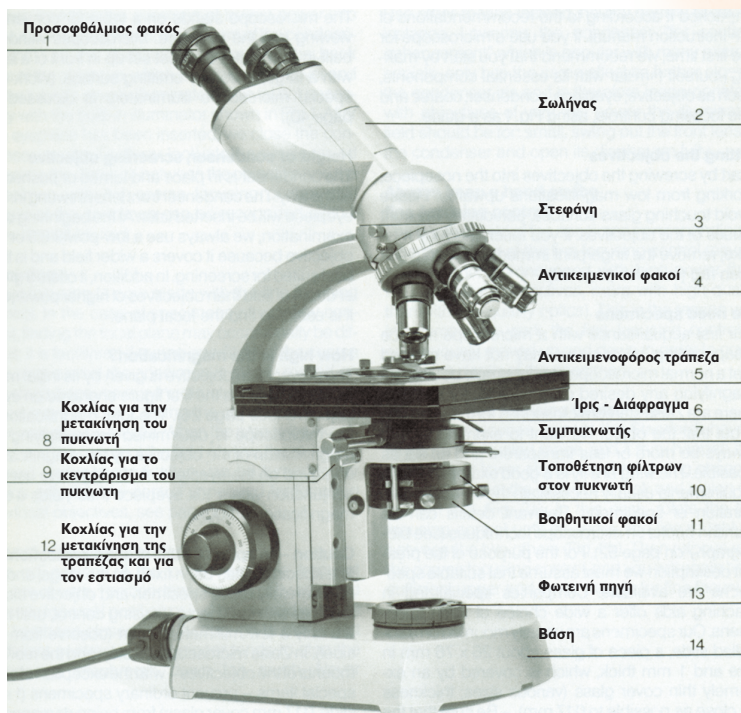
Εστίαση για το μικροσκόπιο χαρακτηρίζουμε όλες τις ενέργειες που κάνουμε (ρύθμιση αποστάσεων φακών και παρασκευάσματος, ρύθμιση συμπυκνωτή κτλ.), για να σχηματιστεί η εικόνα ενός αντικειμένου πάνω στον αμφιβληστροειδή και να το διακρίνουμε με ευκρίνεια και καθαρά.

Το σύστημα εστίασης αποτελείται από κοχλίες που βοηθούν στην εστίαση και στην εύρεση πεδίου, (σχήμα 8.16).

- Αδρός ή μακρομετρικός κοχλίας.
- Μικρομετρικός κοχλίας.
- Κοχλίες για τη ρύθμιση του συμπυκνωτή.
- Κοχλίας που μετακινεί το σύστημα που συγκρατεί την αντικειμενοφόρο πλάκα.

Αδρός ή μακρομετρικός κοχλίας: είναι ο μεγαλύτερος κοχλίας, μπορεί να κινεί την αντικειμενοφόρο τράπεζα πάνω-κάτω με μεγάλες (αδρό-μακρο) κινήσεις. Σε μερικά μικροσκόπια δεν κινείται η τράπεζα αλλά το σύστημα των φακών. Είναι σαν «καρούλι» που διαπερνά το βραχίονα του μικροσκοπίου, βρίσκεται δεξιά και αριστερά του μικροσκοπίου και, όταν κινείται ο δεξιός κοχλίας, κινείται και ο αριστερός. Ο αδρός βοηθά να βρούμε πεδίο χωρίς μεγάλη καθαρότητα.

Ο μικρομετρικός: είναι για μικρές αργές κινήσεις και πολύ καλό εστιασμό. Συνήθως είναι ενσωματωμένος στο κέντρο του μακρομετρικού και χρησιμοποιείται, αφού έχουμε βρει πεδίο με το μακρομετρικό.



Σχήμα 8.16.
Τα μέρη του μικροσκοπίου

Κοχλίες για την προσαρμογή του συμπυκνωτή: χρησιμεύουν για τη μετακίνηση του συμπυκνωτή πάνω-κάτω, για περισσότερο ή λιγότερο φωτισμό.

Ο μοχλός για τη ρύθμιση του διαφράγματος ανοίγει και κλείνει το διάφραγμα.

Κοχλίες για το κεντράρισμα του συμπυκνωτή: υπάρχουν συνήθως τρεις βίδες γύρω από το συμπυκνωτή, που χρησιμοποιούνται για να βρίσκεται ο συμπυκνωτής στην ίδια ευθεία με το αντικειμενικό φακό. Σε μερικά μικροσκόπια είναι μόνιμα κεντραρισμένοι.

Κοχλίας που μετακινεί το σύστημα το οποίο συγκρατεί την αντικειμενοφόρο πλάκα. Η μετακίνηση μπορεί να είναι δεξιά ή αριστερά, μπρος και πίσω.

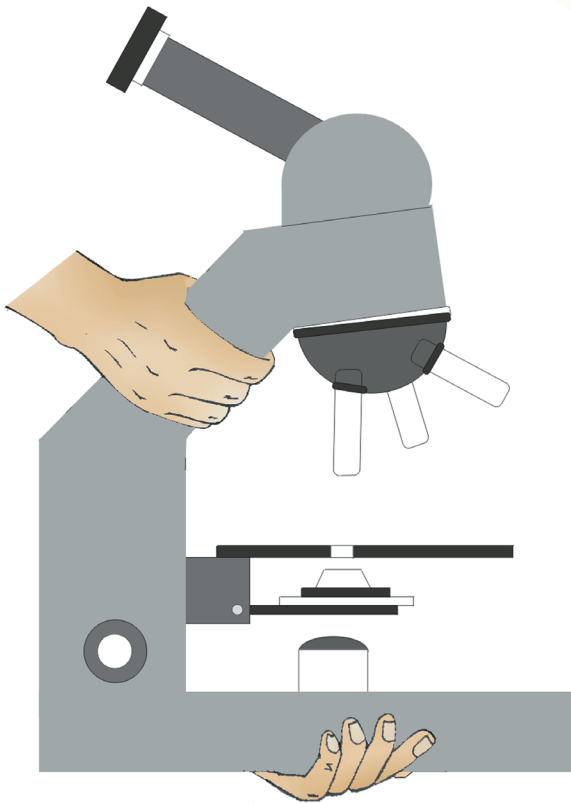
8.5. Συντήρηση και φροντίδα του μικροσκοπίου

Τα μικροσκόπια και τα εξαρτήματά τους είναι όργανα ακριβείας, λεπτεπίλεπτα, ακριβά, και μας προσφέρουν την ευκαιρία να παρατηρήσουμε έναν ωραίο, αόρατο κόσμο. Θα πρέπει λοιπόν όλοι να τα χειριζόμαστε με μεγάλη προσοχή και φροντίδα.

Τοποθέτηση. Το μικροσκόπιο τοποθετείται σε πάγκο καθαρό και τακτοποιημένο, όπου δεν υπάρχουν όργανα που προκαλούν κραδασμούς. Ο χειριστής δεν πρέπει να έχει απέναντί του τον ήλιο ούτε πολύ δυνατό φωτισμό, γιατί καταστρέφει το μικροσκόπιο, είναι επικίνδυνος για τα μάτια και εμποδίζει το φωτισμό του παρασκευάσματος.

Το τραπέζι και το κάθισμα πρέπει να είναι σε τέτοιο ύψος, ώστε η παρατήρηση στο μικροσκόπιο να γίνεται με τη μεγαλύτερη σωματική άνεση, όπως να μην τεντώνουμε το λαιμό μας ούτε να σκύβουμε. Τα πόδια πρέπει να στηρίζονται και όχι να αιωρούνται (να κρέμονται). Αν δεν καθόμαστε σωστά και μικροσκοπούμε πολλή ώρα, κουραζόμαστε και μειώνεται η οξύτητα της όρασης.

Μετακίνηση. Το μικροσκόπιο πρέπει να τοποθετείται σε μία σταθερή θέση και να μη μετακινείται. Αν χρειαστεί να μετακινηθεί, το κρατάμε και με τα δύο χέρια. Με το ένα χέρι το πιάνουμε από το βραχίονα και το σηκώνουμε, ενώ τοποθετούμε το άλλο κάτω από τη βάση και το μεταφέρουμε. Το κρατάμε κάθετα (γιατί, αν γείρει, μπορεί οι προσοφθάλμιοι να πέσουν) και μπροστά μας, για να μην χτυπήσει σε έπιπλα ή όργανα.



Σχήμα 8.17.
Μεταφορά του μικροσκοπίου

Καθαρισμός. Οι φακοί του μικροσκοπίου μπορεί να λερωθούν και να γίνει η παρατήρηση δύσκολη ή αδύνατη. Συνήθως λερώνονται από τα χέρια μας, που έχουν λιπαρότητα και ιδρώτα, και τα οποία αποτυπώνονται στους φακούς, με τα μάτια μας, αν ακουμπάνε στους φακούς κτλ. Δεν πρέπει σε καμία περίπτωση λοιπόν να πιάνονται οι φακοί με τα χέρια και, ιδιαίτερα, με βρώμικα ούτε να έρχονται σε επαφή με άλλο αντικείμενο, σκληρό και ρυπαρό, ούτε να ακουμπάνε οι βλεφαρίδες μας στο φακό. Ακόμα και τα χαρτομάντηλα μπορεί να γρατσουνίσουν το φακό. Οι φακοί πιάνονται πάντα από το μεταλλικό τους μέρος, ακόμα και στην περίπτωση που θέλουμε να τους καθαρίσουμε.

Για να καθαρίσουμε τους φακούς, πρέπει να ακολουθούμε τις οδηγίες του κατασκευαστή. Από μερικούς προτείνεται να καθαρίζονται οι φακοί του μικροσκοπίου όπως τα γυαλιά που φοράμε, δηλαδή, πρώτα με την εκπνοή μας και μετά σκουπίζοντάς τα. Αυτό από άλλους απαγορεύεται.

Χαρτί - ύφασμα - διαλύτες

Ανάλογα με τον κατασκευαστή, προτείνεται οι φακοί να καθαρίζονται με ειδικό χαρτί ή ειδικό πανί ή με γάζα ή πολύ-πολύ μαλακό πανί, που δεν αφήνει

χνούδι, με πολύ λίγο νερό ή με νερό και πράσινο σαπούνι ή οινόπνευμα 95% ή ξυλόλη ή ακετόνη. Προσοχή, γιατί σε μερικά μικροσκόπια υπάρχουν μέρη του που χαλάνε με την ξυλόλη, την αλκοόλη ή την ακετόνη. Η κίνηση καθαρισμού καλύτερα είναι να γίνεται από δεξιά προς τα αριστερά και αντίστροφα, και όχι κυκλικά, μαλακά και όχι με δυνατό τρίψιμο.

Η σκόνη από τους φακούς, η φωτεινή πηγή κτλ. μπορεί να καθαρίζεται με πινελάκι καθαρό και στεγνό, κινώντας ελαφρά από δεξιά προς τα αριστερά και αντίστροφα ή φυσώντας τον αέρα από πλαστικό παστεράκι ή από σύριγγα (χωρίς τη βελόνα). Οι φακοί δεν πρέπει να βρέχονται. Σε περίπτωση που κατά λάθος βραχούν, σκουπίζονται και καθαρίζονται αμέσως και με τον τρόπο που έχει ήδη αναφερθεί.

Προσοχή πρέπει να δίνεται, όταν χρησιμοποιούμε κεδρέλαιο. Πολλές φορές, επειδή ο X40 έχει περίπου ίδιο μήκος με τον καταδυτικό, μπερδεύεται και χρησιμοποιείται κεδρέλαιο για X40 και το πεδίο είναι σκοτεινό. Το κεδρέλαιο καθαρίζεται από τον καταδυτικό με χαρτί ή πανί, όπως έχει αναφερθεί παραπάνω. Στο τέλος κάθε ημέρας οι φακοί πρέπει να καθαρίζονται αρχίζοντας από το μικρότερο και τελειώνοντας με τον καταδυτικό. Το μηχανικό μέρος του μικροσκοπίου καθαρίζεται περιοδικά με μαλακό ύφασμα.

Αντικειμενοφόρος τράπεζα. Πρέπει να διατηρείται σε καλή κατάσταση και να μετακινείται με ευκολία. Η τράπεζα πρέπει να είναι στεγνή και να μην είναι λερωμένη με κεδρέλαιο ή άλλες ουσίες, επειδή το πλακάκι θα κολλάει και δε θα μετακινείται. Αυτό θα έχει ως αποτέλεσμα να πιέζουμε τους κοχλίες που μετακινούν το παρασκεύασμα και να πάθει ζημιά ή να καταστραφεί το έλασμα που συγκρατεί την πλάκα.

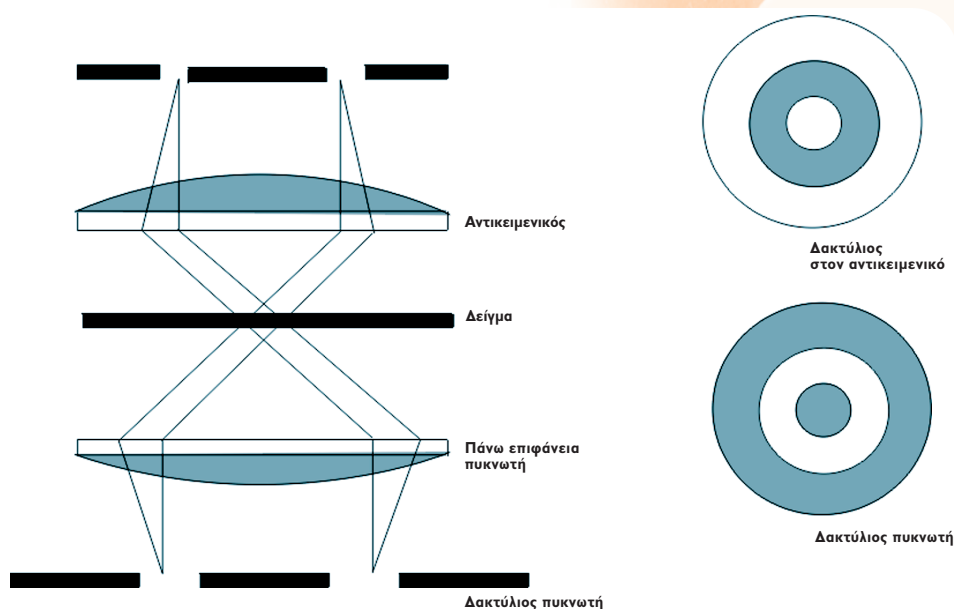
Διατήρηση. Μετά το τέλος της εργασίας το μικροσκόπιο καθαρίζεται και καλύπτεται με το πλαστικό συνήθως κάλυμμα, για να προστατευτεί από την σκόνη.

8.6. Τύποι μικροσκοπίων

Οι ζωντανοί μικροοργανισμοί, τα κύτταρα χωρίς χρώση, τα διάφορα οργανίδια που υπάρχουν μέσα στα κύτταρα, όπως ο πυρήνας, είναι πολύ δύσκολο ή αδύνατο να τα παρατηρήσουμε στο κοινό μικροσκόπιο, επειδή υπάρχει πολύ μικρή διαφορά ανάμεσα σε αυτά και το υγρό με το οποίο έχουν αραιωθεί αλλά και μεταξύ των οργανιδίων. Υπάρχουν φωτεινά μικροσκόπια που δημιουργούν αντίθεση χωρίς χρώση, μεταξύ των κυττάρων και του περιβάλλοντός τους αλλά και μεταξύ των οργανιδίων του κυττάρου. Τα μικροσκόπια αυτά είναι της αντίθετης φάσης, σκοτεινού πεδίου.

8.6.1. Μικροσκόπιο αντίθετης φάσης

Καθώς το φως περνά μέσα από το άβαφο παρασκεύασμα, οι πολύ μικρές διαφορές μεταξύ του δείκτη διάθλασης των οργανιδίων, της πυκνότητας των ζωντανών κυττάρων και του υγρού στο οποίο έχουν αραιωθεί, δε γίνονται αντιληπτές από το μάτι μας. Με το μικροσκόπιο αντίθετης φάσης ενισχύονται, μεγαλώνουν οι διαφορές αυτές και έτσι δημιουργείται εικόνα, στην οποία υπάρχει μεγαλύτερη αντίθεση μεταξύ των στοιχείων αυτών από ό,τι στο κοινό μικροσκόπιο και το μάτι μας τις αντιλαμβάνεται. Η αντίθεση αυτή δημιουργείται με την τοποθέτηση ενός ειδικού δακτύλιου στον πυκνωτή και ενός δεύτερου, στο αντικειμενικό σύστημα των φακών.



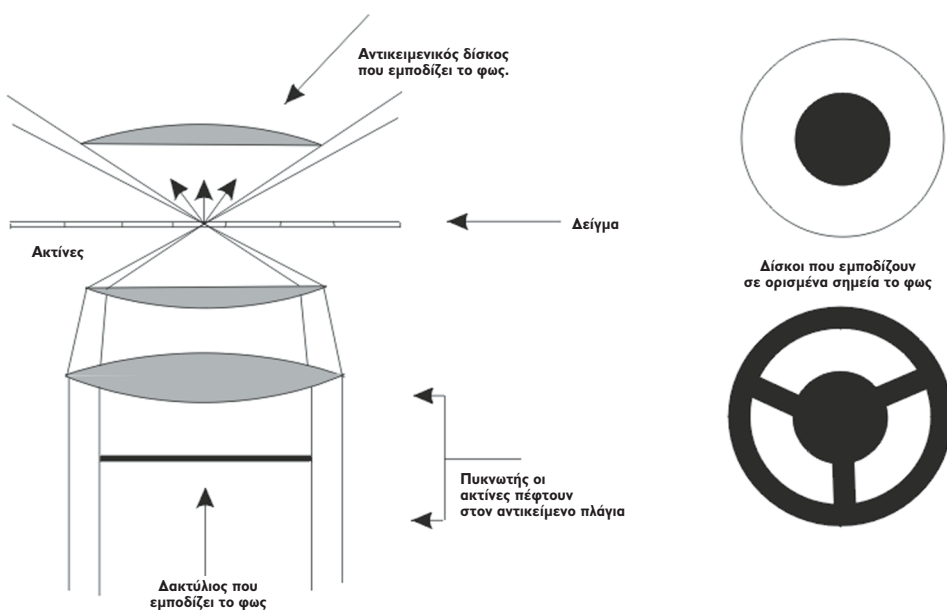
Σχήμα 8.18. Αρχή της λειτουργίας του μικροσκοπίου αντίθετης φάσης

Υπάρχουν δύο μέθοδοι σ' αυτό τον τύπο μικροσκοπίων. Στο πρώτο, το αντικείμενο φαίνεται φωτεινό σε σκοτεινό φόντο και στη δεύτερη, το αντικείμενο φαίνεται σκοτεινό σε φωτεινό φόντο. Με το μικροσκόπιο αντίθετης φάσης βλέπουμε άβαφα παρασκευάσματα βακτηρίων από βιολογικά δείγματα ή από καλλιέργειες και αναζητούμε παράσιτα, όπως αμοιβάδες στα κόπρανα κτλ.

8.6.2. Μικροσκόπιο σκοτεινού πεδίου

Με το μικροσκόπιο σκοτεινού πεδίου μπορούμε να διακρίνουμε καθαρά τη δομή και την κίνηση ζωντανών μικροοργανισμών αραιωμένων σε υγρά. Επίσης μπορούμε να δούμε ζωντανούς μικροοργανισμούς, που δεν μπορούμε να δούμε με άλλο τρόπο, όπως τη σπειροχαίτη που προκαλεί τη σύφιλη.

Η κεντρική περιοχή του πυκνωτή είναι μαύρη και το φως δεν μπορεί να περάσει κατευθείαν στο παρασκεύασμα, αλλά αντανακλάται στις άκρες του πυκνωτή και φωτίζει το παρασκεύασμα από το πλάι. Το μόνο φως που φθάνει στο μάτι είναι από τους μικροοργανισμούς που φαίνονται φωτεινοί - λαμπεροί σε σκοτεινό-μαύρο. Με τη μέθοδο αυτή, μπορούμε να δούμε πολύ λεπτά κύτταρα, όπως τη σπειροχαίτη, επειδή το φως που αντανακλάται από αυτά τα μεγεθύνει και είναι πιο εύκολο να παρατηρηθούν .



Σχήμα 8.19. Αρχή της λειτουργίας του μικροσκοπίου σκοτεινού πεδίου

8.6.3. Μικροσκόπιο φθορισμού

Το μικροσκόπιο φθορισμού χρησιμοποιείται για την ανοσοδιάγνωση, δηλαδή στην εύρεση αντισωμάτων ή αντιγόνων και την άμεση διάγνωση μικροοργανισμών στα βιολογικά δείγματα.

Στο μικροσκόπιο φθορισμού χρησιμοποιείται φως από την υπεριώδη ακτινοβολία, που είναι αόρατη στο μάτι μας, για να φωτίσει μικροοργανισμούς ή σωματίδια, τα οποία προηγουμένως έχουν βαφτεί - συνδεθεί με φθορίζουσες ουσίες. Οι φθορίζουσες ουσίες, όταν πέσει φως, διεγείρονται (φθορίζουν) και εκπέμπουν ορατό φως, οι μικροοργανισμοί φαίνονται λαμπεροί σε ένα σκοτεινό φόντο. Συνήθως χρησιμοποιείται χρωστική με πράσινο φθορισμό.

Η μικροσκόπηση γίνεται σε σκοτεινό δωμάτιο, χρειάζεται ειδικό μικροσκόπιο και ειδική τεχνική.

8.6.4. Εξοπλισμένα μικροσκόπια

Υπάρχουν μικροσκόπια με τα οποία μπορείς να φωτογραφίσεις τα παρασκευάσματα. Αυτά μπορεί να διαθέτουν και σύστημα συμπαράτηρησης, όπου μπορούν να παρατηρούν, συγχρόνως, δύο ή περισσότερα άτομα. Άλλα μικροσκόπια συνδέονται με οθόνη τηλεόρασης, όπου προβάλλεται το παρατηρούμενο πεδίο, ή με υπολογιστή, όπου φυλάσσονται αρχεία εικόνες και πληροφορίες.



Σχήμα 8.20.
Μικροσκόπιο με φωτογραφική
μηχανή

8.6.5. Το ηλεκτρονικό μικροσκόπιο

Όπως έχει ήδη αναφερθεί, δεν μπορούμε να μεγεθύνουμε πάρα πολύ ένα αντικείμενο επειδή δε φαίνεται καθαρά. Το πρόβλημα της μεγέθυνσης με καλή ευκρίνεια λύνεται με το ηλεκτρονικό μικροσκόπιο, με το οποίο μπορούμε να παρατηρήσουμε τα διάφορα οργανίδια του κυττάρου, όπως τα ριβοσωμάτια και τους ιούς. Έχει μεγάλη διακριτική ευκρίνεια και μεγεθύνει μέχρι 240.000 φορές. Αντί για φως υπάρχει μια δεσμίδα ηλεκτρονίων, που ελέγχεται από μαγνήτες σε κενό. Τα ηλεκτρόνια δε διεισδύουν στην ύλη και τα κύτταρα είναι πολύ παχιά, για να παρατηρηθούν κατευθείαν στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο. Γι' αυτό το λόγο τα δείγματα μονιμοποιούνται και εμβαπτίζονται σε πλαστικό υλικό, κόβονται σε πολύ λεπτές τομές και τοποθετούνται σε ειδικά πλέγματα. Οι τομές μπορεί να βαφούν με ειδικές χρωστικές για μεγαλύτερη ευκρίνεια. Τα ηλεκτρόνια περνούν από τις τομές και η εικόνα εμφανίζεται σε φθορίζουσα οθόνη. Οι εικόνες φωτογραφίζονται και μεγεθύνονται πάρα πολλές φορές.

Υπάρχει επίσης το ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σάρωσης, στο οποίο η εικόνα είναι με τρεις διαστάσεις. Το ηλεκτρονικό μικροσκόπιο μπορεί να χρησιμοποιηθεί και για ανίχνευση των ιών, που είναι δύσκολο ή αδύνατον να καλλιεργηθούν κατευθείαν από τα βιολογικά δείγματα. Τα εκκρίματα στεγνώνονται και τοποθετούνται σε χάλκινο πλέγμα και εξετάζονται. Για μεγαλύτερη ευαισθησία προστίθεται και το αντίσωμα για τον ιό που αναζητείται. Η μέθοδος αυτή είναι παρόμοια με τον ανοσοφθορισμό στο κοινό μικροσκόπιο και το μικροσκόπιο λέγεται ηλεκτρονικό μικροσκόπιο ανοσοφθορισμού.



Ανακεφαλαίωση

Το μικροσκόπιο είναι ένα όργανο που μεγεθύνει και κάνει ορατά αντικείμενα που είναι αόρατα με γυμνό μάτι. Συμβάλλει στη διάγνωση πολλών νοσημάτων. Υπάρχουν τα οπτικά μικροσκόπια και τα ηλεκτρονικά. Τα οπτικά χωρίζονται σε απλά, αντίθετης φάσης, σκοτεινού πεδίου και φθορισμού. Χρησιμοποιούν το φως και μεγεθύνουν με ευκρίνεια μέχρι 1.000 φορές. Τα ηλεκτρονικά μεγεθύνουν μέχρι 250.000 φορές, με μεγάλη ευκρίνεια, και χρησιμοποιούν δεσμίδα ηλεκτρονίων. Οι φακοί του μικροσκοπίου χωρίζονται σε προσοφθάλμιους και αντικειμενικούς. Οι αντικειμενικοί, σε ξηρούς και καταδυτικούς. Τα μικροσκόπια πρέπει να συντηρούνται και να χρησιμοποιούνται σύμφωνα με τις οδηγίες του κατασκευαστή και με μεγάλη προσοχή.



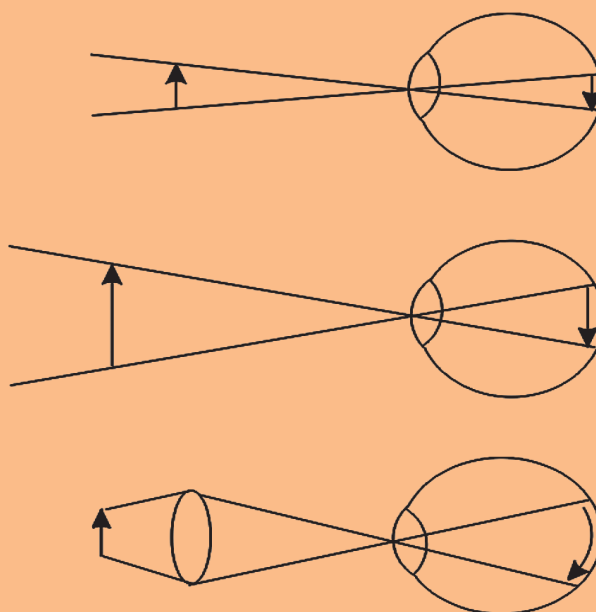
Ερωτήσεις



1. Να αναφέρετε τέσσερις κανόνες που πρέπει να ακολουθούμε, όταν μεταφέρουμε το μικροσκόπιο.
2. Ποια μέρη του μικροσκοπίου είναι υπεύθυνα για τον καλό φωτισμό του πεδίου;
3. Να αναφέρετε τις λειτουργίες των παρακάτω εξαρτημάτων του μικροσκοπίου.
 - Φωτεινή πηγή.
 - Συμπυκνωτής.
 - Αδρός ή μακρομετρικός κοχλίας.
 - Μικρομετρικός κοχλίας.
4. Πώς βρίσκεται η μεγέθυνση ενός αντικειμένου;
5. Με ποια υγρά καθαρίζουμε τους φακούς του μικροσκοπίου;
6. Γιατί άλλοτε έχουμε κλειστό το διάφραγμα και άλλοτε ανοικτό;
7. Πώς χωρίζονται οι φακοί του μικροσκοπίου;
8. Πότε χρησιμοποιούμε κεδρέλαιο και γιατί;
9. Γιατί χρησιμοποιούμε τα μικροσκόπια αντίθετης φάσης και σκοτεινού πεδίου και όχι το απλό μικροσκόπιο;
10. Πού χρησιμοποιούμε το μικροσκόπιο φθορισμού;
11. Ποιες είναι οι εφαρμογές του ηλεκτρονικού μικροσκοπίου;
12. Τι είδους φως χρησιμοποιείται στο μικροσκόπιο φθορισμού;



13. Από το βιβλίο της ανατομίας να διαβάσετε όσα αναφέρονται για το μάτι και να συγκρίνετε με το μικροσκόπιο. Επίσης μελετήστε το σχήμα. Μπορείτε να βρείτε πως λειτουργεί η φωτογραφική μηχανή; Να συγκρίνετε την αρχή λειτουργίας μικροσκοπίου-ματιού-φωτογραφικής μηχανής.



α) Τα μακρινά αντικείμενα εστιάζονται και εμφανίζονται ανάποδα στο αμφιβληστροειδή.
β) Αν πλησιάσει το αντικείμενο προς το μάτι μας, ο φακός προσαρμόζεται, ανοίγει και το είδωλο μεγαλώνει
γ) Αν πλησιάσει πολύ, μεγαλώνει, αλλά δε βλέπουμε καθαρά. Αν θέλουμε μεγάλη μεγέθυνση, χρησιμοποιούμε φακό, που δημιουργεί μεγαλύτερη εικόνα στο μάτι.

Άσκηση 1

Καθίστε ανά δύο, σε σωστή θέση, έχοντας μπροστά σας το μικροσκόπιο του εργαστηρίου σας και το βιβλίο σας. Να εντοπίστε πού είναι:

- Η βάση του μικροσκοπίου.
- Ο βραχίονας.
- Η πηγή φωτός.
- Το σύστημα των προσοφθαλμίων.
- Η στεφάνη με τους αντικειμενικούς.
- Ο συμπυκνωτής.
- Η αντικειμενοφόρος τράπεζα.
- Το σύστημα στήριξης της αντικειμενοφόρου πλάκας.



Οι κοχλίες (αδρός, μικρομετρικός, για την τράπεζα, την αντικειμενοφόρο πλάκα, το συμπυκνωτή, το διάφραγμα.)

Να επαναλάβετε και οι δύο. Μετά, ο ένας από τους δύο κρατά το βιβλίο και ελέγχει, ενώ ο άλλος ονομάζει τα μέρη του μικροσκοπίου. Κατόπιν, να επαναλάβετε αντίστροφα.

Κλείστε το βιβλίο και ελέγξτε ποια μέρη θυμάστε.

Άσκηση 2

Αφού μάθατε τα μέρη του μικροσκοπίου, να παρατηρήσετε και γράψετε στο τετράδιό σας:

1. Ποια πηγή φωτός έχει το μικροσκόπιό σας, ενσωματωμένη ή καθρέπτη;
2. Πόσους προσοφθάλμιους έχει, τι μεγέθυνση έχουν;
3. Πόσοι αντικειμενικοί υπάρχουν; Για τον καθένα να αναφέρετε:
 - αν είναι ξηρός ή καταδυτικός,
 - τι μεγέθυνση έχει,
 - αν υπάρχει χρωματιστός δακτύλιος και τι χρώμα έχει,
 - τι άλλο γράφει πάνω στον αντικειμενικό,

Με ποια σειρά είναι τοποθετημένοι;

Άσκηση 3

Να βρείτε, αν στο μικροσκόπιό σας:

1. Μετακινείται η τράπεζα ή οι αντικειμενικοί φακοί. Αν ναι, μετακινήσετε προσεκτικά την τράπεζα πάνω κάτω, δεξιά αριστερά.
2. Οι αντικειμενικοί έχουν ελατήριο για την προστασία τους, αν σταματάνε σε ένα σημείο.
3. Χρειάζεται να χρησιμοποιείτε τον αδρό με τους άλλους φακούς, αν βρείτε πεδίο με τον Χ10.