

دستورالعمل فنی میکروتوم

کلیات

این دستگاه برای تهیه برش‌های بافتی بسیار نازک از بلوک‌های پارافینی کاربرد دارد.

چگونگی کاربری

به طور کلی دستگاه میکروتوم از دو قسمت تشکیل شده است: یک قسمت که بر روی آن بلوک تهیه شده را ثابت می‌نمایند و دیگری تیغ برش.

قسمتی که بر روی آن بلوک ثابت است، مرتبط با یک دسته (چرخ) میکرومتری است که در هر گردش دسته میکروتوم، به اندازه چند میکرون به جلو یا عقب می‌رود. میکروتوم انواع مختلفی دارد و لی بہترین نوع آن بهصورتی است که بلوک بر روی چرخ میکروتوم ثابت و در نتیجه مرتباً در مقابل تیغ در یک جهت حرکت می‌کند و بدین ترتیب برش‌ها تشکیل نوارهای پاریکی را می‌دهند. برای تهیه برش از بلوک‌های پارافینی ابتدا باید بلوک‌ها را تهیه نمود و سپس میکروتوم را به صورت صحیح تنظیم کرد.

میکروتوم چرخشی رایج‌ترین وسیله مورد استفاده در تهیه برش‌ها است. قبل از تهیه برش‌ها، باید بلوک‌های پارافینی را مرتب کرد. سپس بلوک‌ها با استفاده از چاقوی استیل یا تیغ یکبار مصرف از قالب جدا می‌گردند به‌طوری که در آنها فقط پارافین به ضخامت سه میلی‌متر در اطراف یافت وجود داشته باشد. سطوح قالب‌ها باید با یکدیگر موazی باشند و علاوه بر آن بافت بهصورت کامل و مساوی داخل بلوک قرار گرفته باشد. در هنگام برش باید تیغ کاملاً تیز باشد تا از ترک خوردن یا شکستن بلوک‌ها جلوگیری شود. باید بلوک‌ها روی پایه میکروتوم به‌طریقی ثابت شود که محور بلند (طولی) بلوک‌ها به موازات تیغ قرار گیرند. باید تیغ را در محل مورد نظر به‌طور ثابت و محکم قرار دهیم و درجه انحراف آن بهدقت تعیین شده و مناسب باشد. تمام پیچ و مهره‌های مربوط به تیغ باید محکم باشند. آنقدر از سطح بلوک باید بریده شود تا تمام سطح بافت در برابر تیغ برش قرار گیرد و سپس برش نهایی داده شود.

معمولًا برای بافت‌های معمولی ضخامت برش دستگاه بین سه الی پنج میکرون تنظیم می‌شود. بافت‌های بریده شده را در هنگام برش با دست چپ نگاه می‌داریم ولی از پنس هم می‌توان استفاده کرد. برش‌ها باید نواری، صاف و بدون چین و چروک باشند. قطعات بریده شده پس از آن که بهن و صاف شدند روی ورقه یا روی لام قرار داده می‌شوند. تهیه برش خوب به تجربه شخصی و آشنایی کامل فرد تکنسین به وسائل مورد استفاده بستگی دارد؛ بنابراین تکنسین‌ها برای این کار باید به خوبی آموزش داده شوند. از آنجایی که نتایج کار عمدها به حساسیت و عملکرد تیغ بستگی دارد، هر تکنسین باید به خوبی با نحوه استفاده از تیغ و نگهداری آن آشنا باشد. از مهم‌ترین نکات در

هنگام برش حفظ زاویه مناسب برش یا cutting clearance angle است. معمولاً این زاویه بین پنج الی ده درجه است.

هنگامی که برش‌ها رضایت‌بخش نباشند و نمونه‌ها به خوبی برووس نشده باشند، بلوک و تیغ را می‌توان با بیخ، سرد کرد. در مورد نمونه‌های مشکل مثل ناخن و تاندون‌ها و یا نمونه‌های سفت می‌توان از یک عامل نرم کننده استفاده نمود. لازم به ذکر است که در حال حاضر اسپری‌هایی برای این منظور مورد استفاده قرار می‌گیرد. که به راحتی در دسترس می‌باشد.

نگهداری

- بدنه، پایه و تیغ میکروتوم باید هر روز بعد از هر دوره کاری تمیز گردد.
- دستگاه در هنگامی که استفاده نمی‌شود باید بدون تیغ و در حالت قفل شده باشد.
- روغن کاری مربوط به دستگاه، توسط تکنسین مربوطه و در فواصل مشخصی انجام گردد.
- تیغ‌ها باید همیشه در جعبه مخصوص خود حمل و نگهداری شوند تا به لب‌های آن صدمه وارد نشود.
- تیغ‌ها در صورتی که یکبار مصرف نیستند باید به صورت دوره‌ای و در هنگام لزوم تیز شوند.

کنترل کیفیت

در هنگام برش، بافت باید به صورت نواری شکل از بلوک‌ها بیرون آید و کاملاً مسطح و بدون چروک و خطوط پارگی باشند (مانند خارج شدن کاغذها از یک چاپگر). در مطالعه میکروسکوپی برش‌ها نباید دچار خراش‌های طولی و یا عدم یکنواختی‌ها به صورت عرضی باشند و علاوه بر آن ضخامت نسوج تعیین شده باید برای روش مطالعه و درجه تنظیم میکروتوم تناسب داشته باشد. به عنوان یک قانون کلی تیغ‌های میکروتوم باید همیشه کاملاً تیز و تمیز باشند. در جدول ۴-۳ برخی از اشکالات در هنگام کار با میکروتوم و تهیه برش‌ها و نحوه رفع آن توضیح داده شده است.

جدول ۴-۳: اشکالات کار میکروتوم و نحوه رفع آنها

نوع اشکال	علل ایجاد	رفع اشکال
نوار و برش‌ها حالت خمیده دارند.	(۱) لبه‌ها و یا کناره‌های بلوک موازی نیستند. (۲) تیغ در یک ناحیه کند است. (۳) پارافین اضافی را بردارید. (۴) قوام نسوج متغیر است. (۵) بلوک‌های منفرد را جداگانه mount کنید. (۶) بلوک‌ها را با بیخ سرد کنید.	(۱) تراشیدن بلوک با تیغ جراحی (اسکالبل) تا هنگامی که کناره‌ها موازی گردد. (۲) از قسمت‌های دیگر تیغ استفاده کنید. (۳) پارافین اضافی را بردارید. (۴) بلوک‌هارا ۹۰ درجه دوباره بچرخانید. (۵) بلوک‌ها را با بیخ سرد کنید.

<p>(۱) بلوک را با یخ، سرد کنید و یا در داخل پارافین با نقطه ذوب بالاتر دوباره قالب گیری کنید.</p> <p>(۲) تیغ یا بلوک شل هستند.</p> <p>(۳) زاویه کلیرانس ناکافی است.</p> <p>(۴) سیستم مکانیکال میکروتوم دچار مشکل است.</p>	<p>برش‌ها سه صورت متنابع (alternate)</p> <p>ضخم و نازک هستند.</p>
<p>(۱) سطح بلوک‌ها را به طور ملایم گرم نمایید و یا در داخل پارافین با نقطه ذوب پایین تر دوباره قالب گیری کنید.</p> <p>(۲) با پارچه آغشته به گزیلول تمیز کنید.</p> <p>(۳) آن را تنظیم کنید.</p>	<p>برش‌ها بیوسنتگی هستند.</p> <p>(۱) بارافین بسیار سخت است.</p> <p>(۲) بر روی لبه تیغ دبری وجود دارد.</p> <p>(۳) لبه تیغ بسیار کوتاه یا با شیب نزدیک است.</p>
<p>(۱) نسوج را به حمام واکوم برای چند ساعت بازگردانید یا آنکه اگر اشکال زیادی وجود دارد دوباره پردازش را انجام دهید.</p> <p>(۲) با استفاده از اسیاجولای داغ آن را دوباره بچسبانید.</p>	<p>قسمت‌هایی از بافت بلوک شده در برش وجود ندارند.</p> <p>(۱) آغشتنی ناکامل است.</p> <p>(۲) بلوک‌های پارافینی از کاست جدا شوند.</p>
<p>(۱) زاویه را افزایش دهید.</p> <p>(۲) با پارچه آغشته به گزیلول تمیز گردد.</p> <p>(۳) با تیغ جراحی (اسکالیل) تمیز آن را بردارید.</p> <p>(۴) یک بارچه مرطوب را نزدیک تیغ قرار دهید.</p>	<p>برش‌ها در ضربه برگشت به بلوک‌ها چسبانیده شوند.</p> <p>(۱) زاویه کلیرانس بین بلوک و تیغ ناکافی است.</p> <p>(۲) در لبه تیغ دبری‌های پارافینی وجود دارد.</p> <p>(۳) روی لبه بلوک دبری‌ها وجود دارد.</p> <p>(۴) پارالکتریکی ساکن روی نوارهای برش‌های نسجی پارافین وجود دارد.</p>
<p>(۱) تیغ را جایگزین یا دوباره نیز کنید.</p> <p>(۲) سرویس شود.</p> <p>(۳) تیغ سفت گردد.</p> <p>(۴) زاویه را کاهش دهید ولی کلیرانس حفظ شود.</p> <p>(۵) از تیغ مخصوص کل سگین یا از مایعات نرم کننده روی نسوج استفاده کنید.</p> <p>(۶) آب گیری مجدد و دکلسيفيه کنید یا به طور سطحی دکلسيفيه نمایید.</p>	<p>نوارهایی از نسوج متنابع ضخم و ظرف در بیک برسن مساوی با لبه تیغ</p> <p>(۱) تیغ کند است.</p> <p>(۲) میکروتوم ارتعاش دارد.</p> <p>(۳) تیغ شل است.</p> <p>(۴) زاویه تیغ بسیار زیاد است.</p> <p>(۵) نسوج با پارافین برای برش بسیار سخت است.</p> <p>(۶) نواحی کلسيفيکاسيون در نسج وجود دارد.</p>
<p>(۱) از قسمت دیگر تیغ استفاده گردد.</p> <p>(۲) اگر دارای کلیم است آن را دکلسيفيه کنید یا در بقیه موارد با استفاده از تیغ جراحی (اسکالیل) آن را بردارید.</p> <p>(۳) با پارافین فیلتر شده تازه دوباره قالب گیری کنید.</p>	<p>خطدار شدن با شکاف‌دارشدن برش‌ها در زاویه راست نسبت به لبه تیغ</p> <p>(۱) لبه تیغ ناصاف است.</p> <p>(۲) اجزاء سفت و زیر در نسوج وجود دارد.</p> <p>(۳) پارتمکل‌های سفت در پارافین وجود دارد.</p>

(۱) آن را دوباره نیز با عوض کنید. (۲) دوباره تیغ را بساید (صف کنید). (۳) بلوک‌ها را باخ سرد کنید با از پارافین با نقطه ذوب بالاتر استفاده کنید.	(۱) تیغ کند است. (۲) لبه تیغ بسیار بین است. (۳) پارافین برای نسوج با شرایط برش بسیار نرم است.	برش‌ها فشره می‌شوند.
(۱) نسوج را به ظرف خلاه آغشته کننده به صدت دو ساعت برگردانید. (۲) حمام آب را سرد کنید.	(۱) آغشتنگی ناکامل نجی وجود دارد. (۲) درجه حرارت آب بسیار بالاست. (۳) حمام آب را سرد کنید.	برش‌ها باز شوند یا در سطح حمام آب گرم از هم جدا شوند.
(۱) آن را تیز کنید با عوض کنید. (۲) کاهش میزان کج بودن تیغ اگر زاویه کلیرانس بسیار زیاد است. (۳) کاهش ضخامت برش با استفاده از پارافین دارای نقطه ذوب بالاتر. گرم کردن ملایم سطح بلوک‌ها همان طور که نسوج بریده می‌شوند.	(۱) تیغ کند است. (۲) زاویه Rake بسیار کوچک است. (۳) ضخامت برش‌ها به نسبت پارافین بسیار زیاد است.	پیچیده شدن (برش‌ها پیچ‌دار شده به طوریکه روی تیغ نصی ماند).

ملاحظات ایمنی در هنگام کار با میکروتوم (و گرایوستات)

تفاوت اصلی این دو دستگاه آن است که در میکروتوم، بافت‌هایی مورد برش قرار می‌گیرند که ثابت شده در بلوک‌های پارافینی بوده و عموماً آلوده کننده نیستند، اما در گرایوستات به علت اینکه بافت مورد استفاده بافت منجمد فیکس نشده است، خطر آلودگی با عوامل عفونی نیز وجود دارد. به همین منظور باید توصیه‌های ایمنی زیر شامل پیشگیری از ایجاد عفونت و صدمات مکانیکی در مورد آنها رعایت گردد.

۱) پیشگیری از ایجاد عفونت

- پیشگیری از گیره نگهدارنده بلوک و برس باید جهت آلودگی زدایی در محلول ضد عفونی کننده مناسب قرارداده شود.
- بعد از اتمام کار با گرایوستات، دستگاه به دفعات با الكل ۷۰٪ ضد عفونی گردد.
- باید حداقل هفته‌ای یکباره بخ دستگاه آب گردد و اگر احتمال آلودگی بافت به مایکروب‌اکترویوم توبرکولوزیس وجود دارد بلافاصله دستگاه با یک ماده موثر بر علیه عامل توبرکولوز ضد عفونی گردد.
- در موقعی که خطر آلودگی با عامل Creutzfeldt-Jakob وجود دارد، باید اقدامات حفاظتی شدیدی به کار گرفته شود. استفاده از هیپوکلریت‌سدیم ۲٪ جهت آلودگی زدایی توصیه می‌شود.
- هنگام کار باید از دستکش و سایر وسائل حفاظتی استفاده نمود.
- هنگام برش، دریچه دستگاه بسته باشد.

- * باید دستورالعمل‌های مربوط به روش‌های آنودگی‌زدایی مکتوب شده، در اختیار کارکنان مرتبط قرار داده شود و سوابق مربوط به اجرای آن نگهداری گردد.

۷- پیشگیری از صدمات مکانیکی

این دستگاه‌ها به سبب دارا بودن تیغه برنده ممکن است موجب برویدگی و آسیب پوستی گرددند به منظور جلوگیری از آسیب‌های مکانیکی باید به نکات زیر توجه شود:

وسایل فوق به علت استفاده از تیغ خطرناک هستند، لذا باید توصیه‌های زیر را هنگام کار با آنها بکار بست:

- * تیغ بدون محافظ رها نگردد.
- * تیغ یکبار مصرف در محافظه مقاوم مخصوص وسایل برنده قرار گیرد.
اگر بدون برداشتن تیغ، نمونه‌ها تعویض می‌گردند، تیغ را باید با محافظ انگشتان پوشاند و در این هنگام دسته آن باید قفل شده باشد.
- * باید از قفل بودن ضامن مربوطه در هنگامی که از دستگاه میکروتوم استفاده نمی‌گردد، مطمئن گردید.

