

برش یا مقطع گیری

- مقطع گیری توسط دستگاهی به نام میکروتوم انجام می شود
- اساس کار این دستگاه بر حرکت قالب حاوی نمونه در مقابل تیغه تیز استوار است که با هر حرکت بر حسب ضخامت تعیین شده، برشی از قالب جدا می شود.

• انواع میکروتوم:

میکروتوم راکینگ: در دو اندازه ساخته می شود و برای بلوک پارافینی بزرگ و کوچک قابل استفاده است. برای مقاطع سریال توصیه نمی شود.

میکروتوم چرخان: متداولترین انواع میکروتوم است. در این میکروتوم گیره حاوی بلوک در مقابل تیغه به طور عمودی بالا و پایین شده و برش انجام می شود. در هر بار بالا رفتن بلوک، پیچ میکروتوم چرخیده و باعث حرکت بلوک به طرف تیغ به مقدار تعیین شده خواهد شد.

میکروتوم لغزان: دو نوع دارد. در یک نمونه تیغ در طول یک صفحه که به یک پایه سنگین متصل است به جلو و عقب حرکت می کند. گیره بلوک هم در طول صفحه واقع شده است. حرکت تیغ به سمت عقب سبب چرخش پیچ میکروتوم شده و در نتیجه بلوک با ضخامت تعیین شده به سمت تیغ حرکت می کند. در نوع دوم هر دو انتهای تیغ بر روی گیره نگهداری می شود. یکی از این گیره ها متحرک است. گیره بلوک که روی صفحه سنگین قرار دارد از زیر تیغ به جلو و عقب می رود. در هر دو نوع تیغ می تواند به صورت مورب برای مقاطع سلونئیدین و به صورت مسطح برای مقاطع پارافینی استفاده شود. چون استحکام میکروتوم زیاد است برای مقاطع سخت کاربرد دارد.

میکروتوم انجمادی: برای برش بافت آبگیری نشده به حالت منجمد کاربرد دارد. تیغ بر روی گیره بافت که بلافاصله در زیر آن شیری جهت خروج دی اکسید کربن وجود دارد و بافت را به اندازه مورد نیاز جهت مقطع گیری منجمد نگه می دارد، نوسان می کند. برای متد های هیستوشیمی و نمونه هایی که نیاز به تشخیص سریع دارند، کاربرد دارد. این میکروتوم محکم به لبه میز متصل می شود.

Rocking microtome



Sliding microtome
میکروتوم لغزنده



میکروتوم های انجمادی (کرایوستات)

- شرکت های سازنده سعی در تولید میکروتوم های انجمادی با برشهای دقیق و تخصصی دارند لذا بیشتر تولیدات در **3مدل رومیزی کوچک – ایستاده استاندارد و ایستاده پیشرفته** با ابعاد کوچک تا بزرگ مناسب برای مراکز درمانی با تعداد آزمایشات بسیار بالا خلاصه میشوند. این 3مدل کرایوستات برشهای دقیق و تخصصی از بافت را به صورت دستی یا اتوماتیک انجام می دهند. این نوع میکروتوم ها کاملاً پایدار و ضد رنگ هستند و قسمتهای مکانیکی آن مستقل از نوسانات دمایی است و به آسانی برشهای در حد 1 میکرون را انجام می دهند.

میکروتوم انجمادی

• میکروتوم انجمادی مدل رومیزی:

فضای کمی از آزمایشگاه را اشغال می کند. چون فضای داخلی آن وسیع است این خود یک ویژگی منحصر به فرد نسبت به نمونه های هم اندازه است. این دستگاه امکان خنک سازی تا 35 درجه سانتی گراد را داراست و سیستم (Defrost ذوب برفک) آن اتوماتیک می باشد. این دستگاه بسیار تخصصی و منحصر به فرد و در عین دقت بالا ، بسیار قدرتمند و محکم است طوری که نیاز به نگهداری و سرویس را به حداقل می رساند.

میکروتوم انجمادی مدل ایستاده:

که از جمله برتریهای آن به مدل رومیزی آن است که این مدل فضایی وسیعتری برای فریز کردن نمونه ها دارد امکان خنک کردن محفظه نمونه ها -40 میسر شده است. این دستگاه نیز مانند مدل رو میزی تمام اتوماتیک می باشد و امکان برش از 0 تا 60 میکرون را دارد.

میکروتوم انجمادی مدل ایستاده پیشرفته:

این دستگاه بسیار شبیه مدل ایستاده استاندارد است با این تفاوت که اولاً ابعاد بزرگتری دارد ثانیاً امکان آماده سازی تعداد بیشتری نمونه به طور همزمان در آن وجود دارد. به این ترتیب برای مراکزی که تعداد آزمایشات روزانه بسیار بالا دارند مناسب است. چند ایشن شامل، سیستم انجماد سریع تا دمای 60 °C- و امکان خنک سازی تا دمای 45 °C- را دارا میباشد.

میکروتوم انجمادی نیمه اتوماتیک

میکروتوم انجمادی



*Control panel
UV sterilization*

*The chamber was
stainless steel 304*

*Equipped with
cleaner to keep
the chamber clean*



Double HD LCD screen

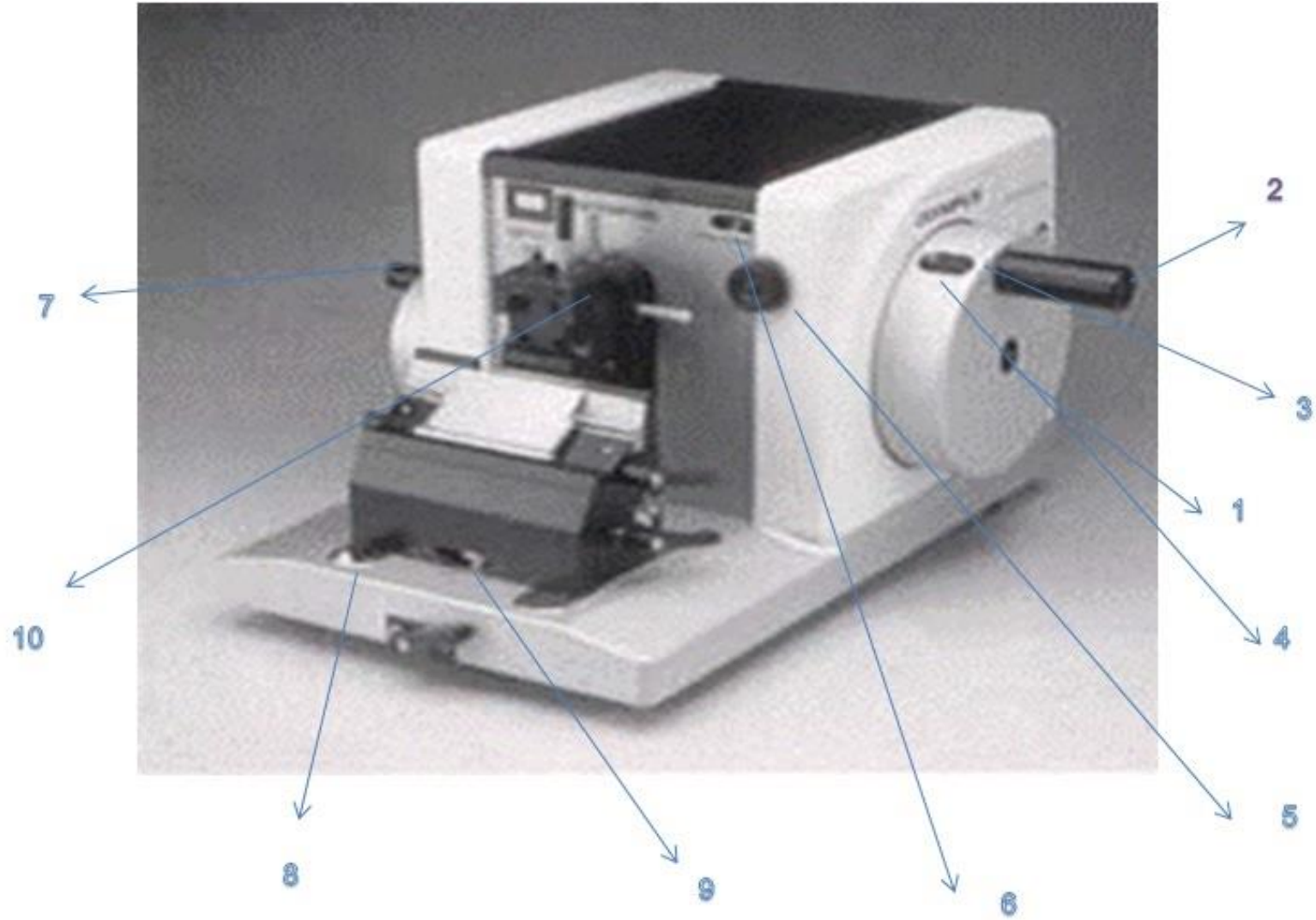
Control panel

*16 points any position
locked function*

Automatic air switch

Inside silent fan

میکروتوم چرخان
Rotary microtome



اجزاء دستگاہ میکروتوم چرخان

- 1- ہندل بزرگ: با حرکت دورانی این ہندل عملیات برش انجام می شود.
- 2- دستگیرہ ہندل بزرگ: برای ایجاد حرکت دورانی آسان تعبیه شده است.
- 3- قطعہ پلاستیکی قفل کننده ہندل بزرگ: با فشار دادن این قطعہ ہندل قفل می شود.
- 4- قطعہ آزاد کننده قفل ہندل بزرگ: با فشار دادن این قطعہ قفل ہندل بزرگ آزاد می شود.
- 5- دکمہ تنظیم ضخامت برش
- 6- دریچہ نمایش اعداد: جهت تنظیم ضخامت های مختلف برش از 0.5 تا 60 میکرون
- 7- اهرم قفل کننده تیغ نگہدار
- 8- ریل های ہدایت کننده
- 9- قطعہ قفل کننده مجموع تیغ های نگہدارندہ بدنہ دستگاہ
- 10- محور اصلی دستگاہ
- 11- ہندل کوچک

انواع میکروتوم چرخان

میکروتوم ها به سه صورت **دستی (روتاری)**، **نیمه اتوماتیک و تمام اتوماتیک** تقسیم بندی می شوند. طراحی بسیار تخصصی و منحصر به فرد این دستگاهها امکان تهیه برش هایی با کیفیت بسیار بالا از بافت را فراهم نموده است. انواع تیغ های یکبار مصرف در این میکروتوم ها قابل استفاده می باشد. در نمونه اتوماتیک کلیه عملیات برش، تنظیم و حرکت افقی نمونه، تعداد و سرعت برشها و بصورت اتوماتیک انجام می پذیرد. در نوع میکروتوم دستی میزان ضخامت برش از 0.5 تا 60 میکرومتر و اندازه نمونه ها 50×50 میباشد.

در نوع نیمه اتوماتیک میزان ضخامت برش از 0.5 تا 99 میکرومتر و اندازه نمونه ها حداکثر 50×50 ، سرعت برش گیری 28 میلی متر در 12 ثانیه و یا در 45 ثانیه میباشد.

در نوع تمام اتوماتیک میزان ضخامت برش از 0.5 تا 99 میکرومتر و اندازه نمونه ها حداکثر 50×50 ، سرعت برش گیری 28 میلی متر در 12 ثانیه و یا در 45 ثانیه میباشد.

میکروتوم چرخان نیمه اتوماتیک



میکروتوم چرخان اتوماتیک

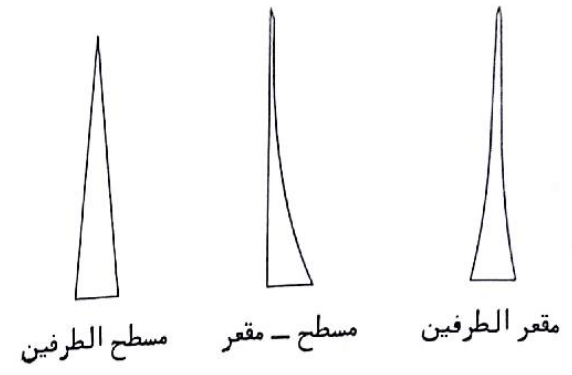


نحوه نگهداری دستگاه میکروتوم

- قبل از تمیز کردن دستگاه، هندل بزرگ را قفل کنید.
- جهت تمیز کردن دستگاه از مایعاتی مانند استون و گزیلول به هیچ عنوان استفاده نکنید.
- جهت تمیز کردن دستگاه از فرچه و پارچه استفاده کنید و اگر احیانا از مواد شیمیایی استفاده می کنید از عدم آسیب رساندن آن به دستگاه اطمینان حاصل نمایید.

تیغ های میکروتوم و مراقبت از تیغ

- تیغ مقعر الطرفین: برای مقاطع پارافینی کاربرد دارد.
- تیغ مسطح- مقعر: روتین برای مقاطع انجمادی و نمونه های سخت به کار می رود. سطح مقعر کم برای مقاطع سلوئیدین و سطح مقعر زیاد برای مقاطع پارافینی استفاده می شود.
- مسطح الطرفین: برای مقاطع انجمادی و نمونه سخت قالب گیری شده در پارافین به کار می رود.
- تیغ های یکبار مصرف
- **مراقبت از تیغ:**
 - 1- در زمان عدم استفاده در جعبه قرار گیرد.
 - 2- به نحوی روی میز قرار گیرد که لبه آن با سطح میز تماس نگیرد.
 - 3- لبه تیغ دنداندار نشود.
 - 4- لبه تیغ قبل از استفاده پرداخت شود.
 - 5- برای تیز کردن تیغ از بک استفاده شود. برای تیغ مقعر الطرفین لزومی ندارد.
 - 6- قبل و بعد از استفاده باید تیغ را با گزیلول و تولوئن تمیز کرد. تیغ نباید زنگ بزند.



شکل ۱۴ - مقطع تیغ های میکروتوم



شکل ۱۵ - تیغ تیز کن اتوماتیک

تیز کردن تیغ

• **استفاده از سنگ ساب:** سنگ ساب درون جعبه باید خریداری شده و بعد از استفاده سنگ با آب و صابون ولرم شسته شده و خشک گردد و سپس در جعبه قرار گیرد. تیز کردن تیغ دو مرحله دارد. **اول پرداخت و سپس چرم کشی.** پرداخت یعنی سائیدن لبه تیغ روی سنگ تا لبه تیغ هم سطح شود. این عمل طی حرکات رفت و برگشتی (ده تا بیست حرکت ابتدا به انتهای تیغ. ابتدای تیغ نزدیک دسته می باشد) انجام می شود به گونه ای که در حرکت برگشت، تیغ باید بدون جدا شدن از سطح سنگ برگردد تا لبه دیگری تیغ با سنگ تماس پیدا کند. در طول پرداخت هیچ فشار اضافه ای روی تیغ وارد نمی شود. منظور از چرم کشی، از بین بردن دندان‌های ایجاد شده ناشی از پرداخت اولیه تیغ است. عمدتاً جنس چرم کش از نوع کانواس و چرم است و باید با روغن چرب شوند. حرکات چرم کشی عکس حرکات پرداخت انجام می شود. انواع سنگ عبارتست از:

1- **بلژیوم یلو.** بهترین سنگ طبیعی برای تیز کردن تیغ است.

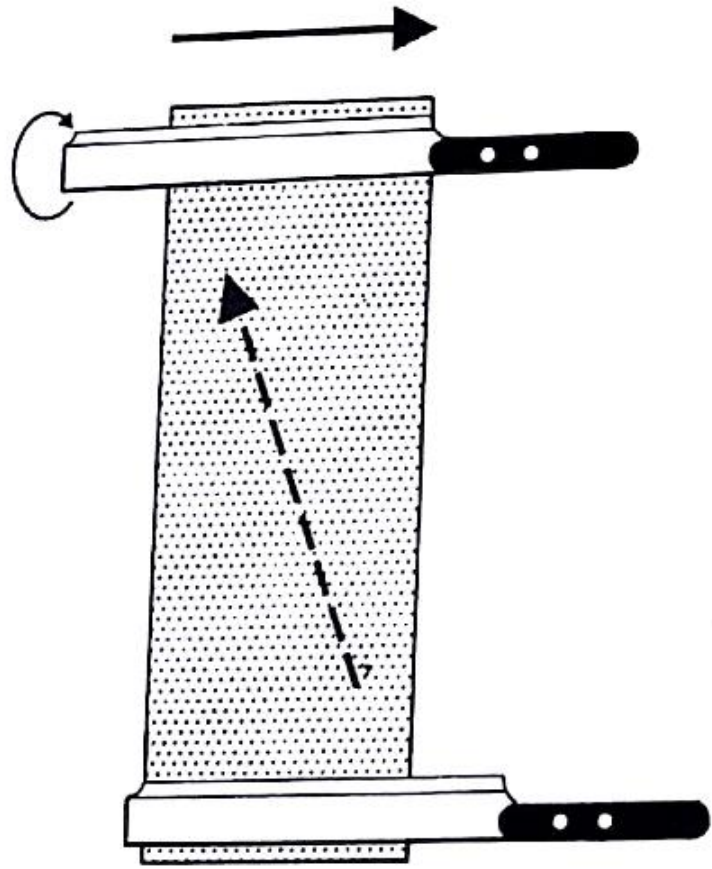
2- **آرکانزاس.** سنگ مصنوعی است که قدرت پرداخت آن از سنگ بلژیوم زرد بیشتر است.

3- **کربوروندوم نرم.** سنگ مصنوعی است که زبر بوده و برای تیغ های دندان‌دار استفاده می شود. تیغ باید مجدداً با استفاده از سنگ دیگری پرداخت شود.

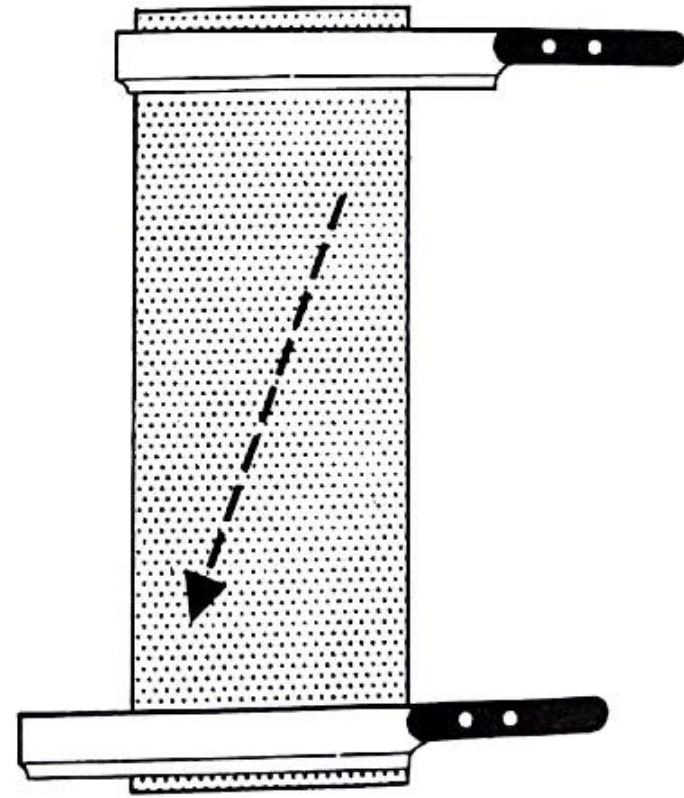
4- **شیشه سنگ:** جایگزین مناسبی به جای سنگ می باشد. از یک ماده ساینده نیز باید استفاده شود مثل پودر اکسید آلومینیم که با آب خمیر شده و استفاده می شود.

لوبریکانت های سنگ ساب: سطح سنگ باید با استفاده از لوبریکانت لغزنده شود. آب و صابون- مخلوط سه روغن حیوانی، گیاهی و معدنی- روغن معدنی- روغن کرچک- روغن میخک- گزیلول

• **تیغ تیز کن مکانیکی:** دستگاهی که وظیفه تیز کردن تیغ را انجام می دهد. انواع مختلفی از این دستگاه موجود است. در این دستگاه ها عمدتاً از شیشه سنگ استفاده شده است.



1st. stroke



2nd. stroke

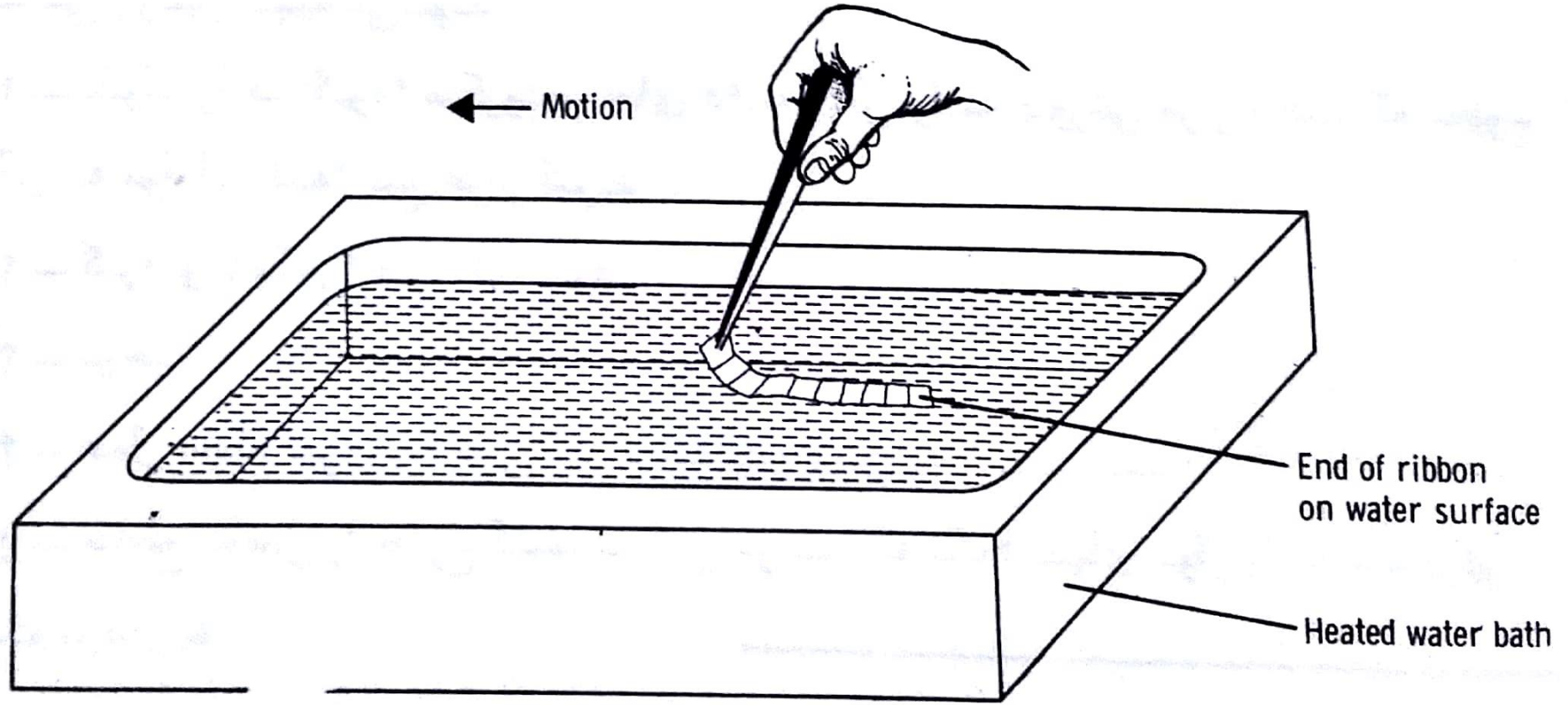
شکل ۱۶ - تیز کردن تیغ بکمک سنگ ساب



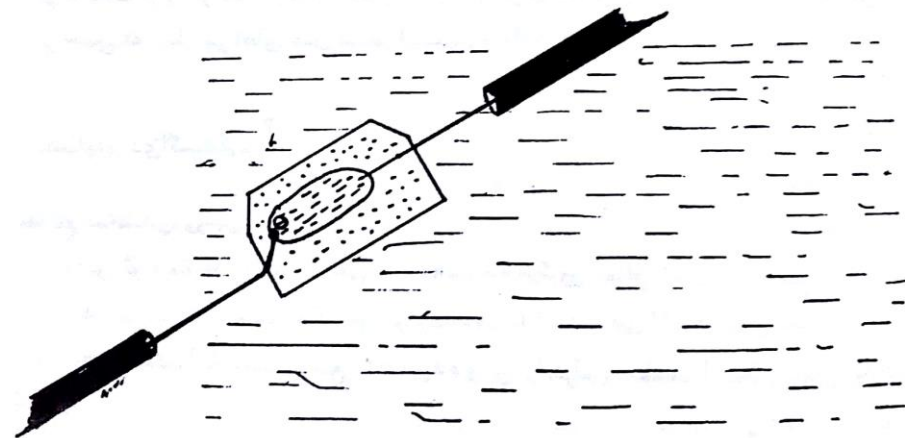
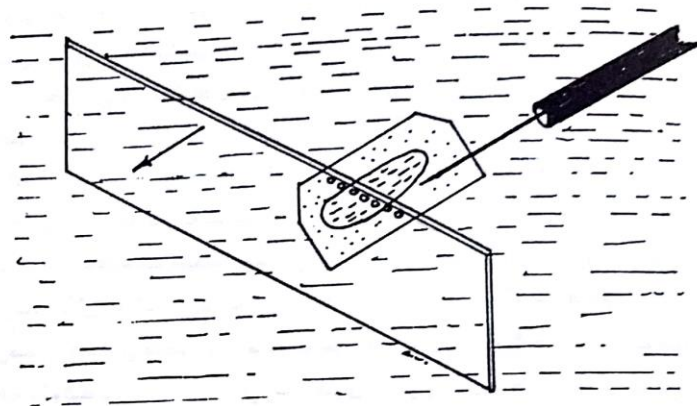
مراحل برش

- تراش بلوک. طرفین بلوک تراشیده می شود تا کاملاً یک شکل شده و سپس سطح بلوک تا نمایان شدن بافت با استفاده از برش های ضخیم تراشیده می شود و کاملاً صاف می شود.
- قرار دادن بلوک در گیره میکروتوم به گونه ای که لبه بالا و پایین بلوک موازی لبه تیغ باشد.
- گیره و بلوک قفل می شود.
- اطمینان از بسته شدن تیغ.
- عمل برش انجام می شود (ضخامت روتین مقاطع بافتی 4 تا 6 میکرون است) تا مقاطع کامل به دست آید.
- مقاطع ناقص خارج می شوند.
- مقطع گیری با ریتم ملایم شروع و به آرامی نوار مقاطع کشیده می شود.
- مقاطع به صورت نوارهایی حاوی 10 مقطع از تیغ جدا می شوند. این عمل باعث سهولت در جابجایی مقاطع در روش مقطع گیری سریالی می شود.
- مقاطع بر روی حمام آب با درجه 45 تا 50 درجه برای صاف شدن شناور می شوند. چروکیدگی مقاطع را می توان با کمک سوزن تشریح در حمام آب صاف کرد.
- مقطع مورد نظر برای رنگ آمیزی انتخاب و روی لام قرار داده می شود.
- مقاطع قرار گرفته روی لام جهت خشک شدن در تنور با درجه 37 قرار می گیرند.





شکل ۱.۷ - عمل شناور ساختن نوار مقاطع پارافینی



شکل ۱۸ - دو روش برای برداشتن حبابها از زیر مقطع
 A: برداشتن حبابها بکمک اسلاید B: برداشتن حبابها توسط سوزن تشریح

جدول ۱ - نقایص ایجاد شده در حین مقطع‌گیری

علت	خطا
a : دندانه‌دار بودن لبه تیغ b : وجود گرد و غبار یا مو در لبه تیغ	بریدگی مقطع
وجود اجسام خارجی کلسیم، کربن و غیره در - بافت یا صغ	بریدگی قسمتی از مقطع
a : شل بودن تیغ b : شل بودن بلوک c : سختی زیاد بلوک d : کندی تیغ	وجود نوارهای افقی ضخیم و نازک در مقطع
فشرده شدن بلوک در طول تیغ به خاطر زاویه نامناسب	تولید متناوب مقاطع ضخیم و نازک
وجود ناحیه کند بر روی تیغ	نازک بودن مقاطع در یک انتها
a : وجود ناحیه کند بر روی تیغ b : موازی نبودن حواشی بلوک	انحنادار بودن نوار مقاطع
a : وجود حباب در مایع مخصوص قالب‌گیری b : وجود ناحیه سخت در بافت	وجود حفره در مقطع

جدول ۲ - نقایصی که در طی عملیات تهیه مقطع به وجود می‌آید

نقص	دلیل
بافت بوی معرف شفاف‌کننده را می‌دهد .	عامل شفاف‌کننده به طور کامل از بافت خارج نشده به خاطر این که به مدت کافی در صمغ نگهداری نشده است .
به هنگام تراش بلوک ملاحظه می‌شود که بافت دهیدراسیون ناقص و در نتیجه شفاف شدن و دچار چین‌خوردگی شده است .	آغشتگی ناقص
بافت به هنگام تراش کاملاً " نرم است	فیکس‌اسیون ناقص
به هنگام تراش بافت پر از حفرات هوا است	آغشتگی ناقص
به هنگام تراش صمغ بلوری به نظر می‌رسد	a: صمغ آلوده
	b: بلوک به سرعت به اندازه کافی سرد نشده است