

میکروتوم یک دستگاه دقیق و حساس در آزمایشگاه‌های پاتولوژی و هیستولوژی است که برای برش مقاطع بسیار نازک (معمولاً ۲ تا ۶۰ میکرومتر) از بافت‌های تثبیت شده و قالب‌گیری شده در پارافین استفاده می‌شود. این مقاطع نازک پس از رنگ‌آمیزی، زیر میکروسکوپ مورد بررسی قرار می‌گیرند.

۱. هدف و کاربرد (Purpose and Applications)

میکروتوم برای تهیه مقاطعی از بافت که ضخامتی در حد چند میکرومتر دارند، طراحی شده است تا بتوان ساختار سلولی و بافتی را زیر میکروسکوپ مشاهده کرد.

کاربردهای اصلی در آزمایشگاه:

کاربرد	زمینه
تشخیص بیماری‌ها از جمله سرطان با بررسی بافت‌های بیماران	پاتولوژی تشخیصی
مطالعه آناتومی و بافت‌شناسی جانوری و گیاهی	تحقیقات زیست‌شناسی
بررسی نمونه‌های بافتی در موارد جنایی	پزشکی قانونی
بررسی مواد و پوشش‌ها	صنعت
تهیه اسلایدهای آموزشی برای دانشجویان پزشکی و زیست‌شناسی	آموزش

۲. انواع میکروتوم (Types of Microtomes)

انواع مختلفی از میکروتوم برای کاربردهای متفاوت وجود دارد:

نمونه دستگاه	کاربرد اصلی	مکانیزم برش	نوع میکروتوم
Thermo Finesse E+, MICROM HM 325	برش بافت‌های پارافینه - رایج‌ترین نوع در آزمایشگاه	چرخش دستی یا موتوری چرخ طیار	Rotary (دوار)
Sliding Microtome	برش بافت‌های بزرگ و سخت، چوب و صنعت	حرکت افقی بلوک به سمت تیغه	Sliding (غزشی)
Cryostat	برش بافت‌های منجمد شده (Fresh Frozen) برای تشخیص حین جراحی	میکروتوم در داخل فریزر (-۲۰ تا -۳۰ درجه)	Cryostat (فریزینگ)
Compresstome	برش بافت‌های نرم و تازه بدون تثبیت و پارافین	تیغه با لرزش بالا و پایین می‌رود	Vibratome (لرزشی)
Ultramicrotome	برش مقاطع نانو (۱۰۰-۵۰ نانومتر) برای میکروسکوپ الکترونی	پیشرفته با ضخامت نانومتری	Ultramicrotome

۳. اجزای اصلی میکروتوم دوار - Rotary Microtome (رایج‌ترین نوع)

بر اساس مستندات دستگاه MICROM HM 325 و مدل Finesse E+:

توضیح و عملکرد	جزء
چرخشی که کاربر می چرخاند تا بلوک به سمت تیغه حرکت کرده و برش انجام شود. مجهز به قفل ایمنی (Wheel Lock)	Handwheel (چرخ طیار)
محل قرارگیری بلوک پارافینی حاوی بافت. قابل تنظیم در سه جهت (X)، (Y)، (Z)	Block Holder (گیرنده بلوک)
محل قرارگیری تیغه برش. تیغه‌ها یکبار مصرف (Disposable) یا قابل تیز کردن هستند	Blade Holder (گیرنده تیغه)
پوشش پلاستیکی یا فلزی که هنگام عدم استفاده، تیغه تیز را می پوشاند	Knife Guard (محافظ تیغه)
صفحه تنظیم ضخامت برش. در دستگاه HM 325 از ۰.۵ تا ۶۰ میکرومتر قابل تنظیم است	Section Thickness Dial (تنظیم ضخامت)
کلید 切换 بین حالت Trimming (برش ضخیم: ۳۰-۱۰ میکرومتر برای تراش اولیه) و Sectioning (برش نهایی: ۶-۲ میکرومتر)	Trim/Section Switch
قابلیت جمع شدن بلوک در حرکت برگشت (بازگشت) برای محافظت از تیغه و بلوک	Specimen Retraction
شمارنده دیجیتالی تعداد مقاطع برش داده شده	Section Counter
مخزن آب ۴۵-۴۸ درجه برای صاف کردن و باز کردن چروک مقاطع قبل از انتقال به لام	Water Bath (حمام آب)

۴. لوازم و مواد مصرفی (Consumables)

توضیحات	قلم
تیغه‌های یکبار مصرف استیل (Low-profile) یا (High-profile) که بسیار تیز هستند و پس از هر بار استفاده دور انداخته می شوند	Microtome Blade (تیغه)
بافت تثبیت شده در فرمالین و قالب گیری شده در پارافین	Paraffin Block (پارافینی)
حاوی آب مقطر یا دافیونیزه در دمای ۴۵-۴۸ درجه سانتی گراد	Floatation Bath (بات)
لام‌های معمولی (یا Positively Charged برای جلوگیری از جدا شدن مقاطع در رنگ آمیزی‌های خاص)	Glass Slides (شیشه‌ای)
برای جابجایی مقاطع و ربان بافت	Forceps (فورسپس)
برای کمک به جدا کردن مقاطع از تیغه	Small Paintbrush (قلممو)
برای سرد کردن بلوک قبل از برش (بهبود کیفیت برش)	Ice Tray (ایس)

۵. روش کار گام به گام (Step-by-Step Procedure)

این روش بر اساس SOP های معتبر از دانشگاه آکلند (سایت) و (NHS سایت) تهیه شده است.

📌 مرحله ۰: نکات ایمنی (Safety) حیاتی)

خطر	نکته ایمنی
-----	------------

تیغه میکروتوم از تیغ جراحی هم تیزتر است. همیشه قفل چرخ (Wheel Lock) را قبل از تعویض بلوک یا تیغه فعال کنید	تیغه بسیار تیز
هنگامی که برش نمی‌زنید، حتماً محافظ روی تیغه باشد	محافظ تیغه (Knife Guard)
طبق قانون کالیفرنیا (CCR 3558)، دستان اپراتور باید حداقل ۱ اینچ (۲,۵ سانتی‌متر) از تیغه و قطعات متحرک فاصله داشته باشد	فاصله ایمن (1 Inch Rule)
برای برداشتن مقاطع و تمیز کردن حتماً از فورسپس استفاده کنید، نه انگشتان	استفاده از فورسپس
هنگام تعویض تیغه از دستکش‌های ضد برش (Cut Resistant Gloves) استفاده کنید	دستکش ضد برش
بافت‌های انسانی یا حیوانی ممکن است حاوی عوامل بیماری‌زا (HIV)، هپاتیت، پرین (باشند	بیولوژیکال هزارد (خطر عفونت)

مرحله ۱: آماده‌سازی دستگاه (Set-Up)

۱. واتر بات را روشن کنید: حداقل ۳۰ دقیقه قبل از برش، واتر بات را روشن کنید تا به دمای ۴۵-۴۸ درجه سانتی‌گراد برسد.
۲. Microtome را روشن کنید: دستگاه را به برق بزنید. در دستگاه‌های موتوری، کلید پشت دستگاه را روشن کنید.
۳. Home کردن (صفر کردن): دکمه Home را بزنید تا Block Holder به موقعیت اولیه برگردد.
۴. تمیز کردن: سطوح را از واکس‌های اضافی تمیز کنید.

مرحله ۲: نصب تیغه (Blade Installation - پرخطرترین مرحله)

۱. قفل چرخ را بزنید Wheel. باید قفل باشد.
 ۲. گیرنده تیغه را شل کنید.
 ۳. تیغه جدید را خارج کنید: فقط لبه‌های تیغه را بگیرید، به سطح برش دست نزنید.
 ۴. قرار دهید: تیغه را روی لبه گیرنده قرار دهید تا کاملاً صاف و سنتر باشد.
 ۵. محکم کنید: گیرنده را سفت کنید و بلافاصله Knife Guard را ببندید.
 ۶. زاویه تیغه: معمولاً ۵ درجه برای برش پارافین مناسب است.
- نکته: در برخی دستگاه‌ها (مانند Finesse E+) برای جابجایی تیغه در طول برش (برای استفاده از قسمت تیز جدید) باید اهرم سمت چپ را شل کنید و کل Blade Holder را جابجا کنید. تیغه نباید از صفحه holder بیرون بزند.

مرحله ۳: آماده‌سازی و نصب بلوک (Block Preparation)

۱. بررسی بلوک: مطمئن شوید واکس اضافی در اطراف کاست وجود ندارد. بافت باید در کاست مرکز باشد.
۲. سرد کردن: بلوک را به مدت حداقل ۵ دقیقه روی یخ یا در فریزر قرار دهید. بافت سرد، برش بهتری دارد و چروک کمتری می‌خورد.

۳. نصب: قفل چرخ را بزنید. بلوک را داخل Block Holder قرار دهید و محکم کنید.
۴. اورینت کردن: بلوک را در سه جهت تنظیم کنید تا لبه بافت موازی با تیغه شود.

مرحله ۴: تراشیدن (Trimming)

۱. دستگاه را روی حالت Trim قرار دهید.
۲. ضخامت را روی ۱۵-۱۰ میکرومتر تنظیم کنید.
۳. قفل چرخ را باز کنید.
۴. چرخ را بچرخانید (فقط جهت عقربه‌های ساعت) تا واکس رویی بافت تراشیده شود.
۵. وقتی سطح کامل بافت نمایان شد و ظاهری مات (دل) پیدا کرد، توقف کنید.

توجه: هنگام تراشیدن، بافت را با دمیدن هوا خنک کنید. اما اگر قصد کار مولکولی (DNA/RNA) دارید، روی آن نفس نزنید تا به DNA آسیب نرسد.

مرحله ۵: برش اصلی (Section Cutting)

۱. دستگاه را روی حالت Section قرار دهید.
۲. ضخامت را روی ۵-۲ میکرومتر (برای تشخیص معمول) تنظیم کنید.
۳. سطح بلوک را با یخ خنک کنید.
۴. چرخ را به آرامی و یکنواخت بچرخانید.
۵. مقاطع اول معمولاً به صورت ریان (Ribbon) از روی تیغه جدا می‌شوند. با فورسپس یا قلممو، ابتدای ریان را بگیرید و به آرامی روی آب واتر بات شناور کنید.

نکته: اگر مقاطع رول می‌شوند یا به تیغه می‌چسبند، بلوک به اندازه کافی سرد نیست یا زاویه تیغه نیاز به تنظیم دارد.

مرحله ۶: شناورسازی در واتر بات (Floatation - رفع چروک)

۱. ریان بافت را روی آب ۴۵-۴۸ درجه بیندازید (سمت براق مقطع باید پایین باشد).
۲. با فورسپس، مقطع را از هم جدا کنید.
۳. بافت روی آب باز می‌شود و چروک‌ها صاف می‌شوند. بافت‌های چرب یا سخت ممکن است نیاز به زمان بیشتری داشته باشند.

مرحله ۷: انتقال به لام (Section Mounting)

۱. لام را با زاویه ۴۵ درجه داخل آب فرو ببرید.
۲. مقطع را با فورسپس به سمت لام هدایت کنید.
۳. لام را به آرامی بیرون بکشید. مقطع به صورت خودکار روی لام می‌چسبند.

۴. اسلاید را شماره گذاری و برچسب بزنید.

□ مرحله ۸: تمیز کاری (Clean-Up)

۱. تیغه را با احتیاط خارج کرده و در **Sharps Container** بیندازید.
۲. واتر بات را خالی کرده و خشک کنید.
۳. دستگاه را با برس و دستمال تمیز کنید. سطح برش تیغه را با دستمال نکشید.
۴. **Block holder** را به حالت **Home** برگردانید.
۵. دستگاه را خاموش کنید و کاور بپوشانید.

۶. عیب یابی مشکلات رایج (Troubleshooting)

مشکل ظاهری	علت احتمالی	راه حل
(Chatter خطوط عمودی شانه شانه)	لرزش دستگاه، تیغه کند، زاویه تیغه نادرست	میز را محکم کنید، تیغه را جابجا کنید، زاویه را ۵ درجه تنظیم کنید
(Compression فشردگی بافت)	تیغه کند، بلوک گرم، زاویه تیغه خیلی زیاد	تیغه را عوض کنید، بلوک را بیشتر خنک کنید، زاویه را کم کنید
(Scoring خط خش طولی)	تیغه خراش دارد (ناخنک)	تیغه را جابجا کنید تا از قسمت سالم استفاده شود
Ribbon نمی شود	بلوک خیلی سرد، استاتیک	اجازه دهید بلوک کمی گرم شود، از آنتی استاتیک استفاده کنید
(Section Roll-up حلقه شدن)	بلوک خیلی گرم یا خیلی سرد، تیغه کند	دما را تنظیم کنید، تیغه را عوض کنید
(Cracking ترک خوردن بافت)	دهیدراتاسیون بیش از حد (خیلی خشک)، بافت سخت	بافت را با نرم کننده (IDA) تیمار کنید
(Wrinkles چروک، قابل باز شدن در آب نیست)	حرارت آب خیلی کم	دما را به ۴۵-۴۸ درجه برسانید
(Sections Dispersing از هم پاشیدن در آب)	بافت چرب بیش از حد، حرارت زیاد	آب سرد یا الکل ۷۰ درصد استفاده کنید

۷. نکات نگهداری و ایمنی (Maintenance & Safety)

- گارد تیغه (**Knife Guard**) قانون است :طبق کد کالیفرنیا، محافظ تیغه باید همواره روی تیغه باشد مگر لحظه برش.
- قفل چرخ (**Wheel Lock**) هنگامی که دستگاه استفاده نمی شود، حتماً قفل چرخ فعال باشد.
- دستکش :حتماً از دستکش نیتریل استفاده کنید. برای تعویض تیغه از دستکش ضد برش استفاده کنید.

- فاصله ایمنی : هنگام تنظیم بلوک، دستتان از تیغه دور باشد. از فورسپس استفاده کنید.
- سیکل تمیزکاری : بین نمونه‌های مختلف برای جلوگیری از Contamination ، سطوح را تمیز کنید.
- دفترچه ثبت : تاریخ مصرف تیغه، کالیبراسیون و سرویس‌های دوره‌ای را ثبت کنید.

۸. چک لیست سریع برای کاربران

مرحله	اقدام	انجام شد؟
۱	واتر بات روشن و به ۴۸-۴۵ درجه رسیده است؟	<input type="checkbox"/>
۲	بلوک حداقل ۵ دقیقه روی یخ سرد شده است؟	<input type="checkbox"/>
۳	Wheel Lock فعال است؟	<input type="checkbox"/>
۴	تیغه به درستی نصب شده و محافظ روی آن است؟	<input type="checkbox"/>
۵	دستکش پوشیده شده؟	<input type="checkbox"/>
۶	ضخامت روی ۱۰-۱۵ برای Trim و بعد ۲-۵ برای Section تنظیم شده؟	<input type="checkbox"/>
۷	مقاطع به آرامی و با فورسپس روی آب منتقل شده‌اند؟	<input type="checkbox"/>
۸	پس از پایان، تیغه در ظرف Sharps انداخته شد؟	<input type="checkbox"/>
۹	دستگاه تمیز و قفل شده است؟	<input type="checkbox"/>

✦ جمع‌بندی نهایی

میکروتوم ابزاری دقیق و حیاتی برای تهیه مقاطع بافتی با ضخامت چند میکرومتر است. با رعایت اصول زیر می‌توانید مقاطع با کیفیت و قابل قبولی تهیه کنید:

۱. ایمنی اولویت اول – همیشه از Wheel Lock و Knife Guard استفاده کنید
۲. بلوک سرد، تیغه تیز – سرد کردن بلوک قبل از برش کیفیت مقاطع را به طور چشمگیری افزایش می‌دهد
۳. تنظیمات صحیح ضخامت: Trim – ۱۰-۱۵ میکرومتر، Section: ۲-۵ میکرومتر
۴. تمیزکاری مکرر – از آلودگی متقابل بین بلوک‌ها جلوگیری کنید