

Microtomy and sectioning – Mikrotom ve kesit alma

Naziye Özkan

Pathology Laboratory, Vocational School of Health Services, Marmara University and Department of Pathology, Medical Faculty, Marmara University, Istanbul, Turkey

Accepted for publication on 6 December 2004

**Bu çalışma XVII. Ulusal Patoloji Sempozyumu (2–3 Ekim 2004, Gaziantep) Patoloji Teknik Elemanları Uydu Toplantısında sunulmuştur.*

Microtomes are essential instruments of pathology laboratories. Nowadays, rotary and sliding microtomes are very often used in sectioning of paraffin embedded tissues and cryostat is used in fresh tissue sectioning in histopathology laboratories. All microtomes consist of three main parts; the base (microtome body), the knife attachment and the knife, and material or tissue holder. Rotary microtomes are used for cutting thin and serial sections from paraffin blocks. The block moves up and down and the knife is stable. Sliding microtome is used for sectioning celloidin and large paraffin blocks. The block is hold stationary on the sliding microtome and the knife is moved along a horizontal plane on the block face. The cryostat in the routine laboratory is used for special stains and intraoperative diagnoses. The cryostat is a refrigerated chamber containing a microtome, usually of the rotary type. Its main advantage is the automatic sterilization system and obtaining serial and thin sections from the cryostat. In all these microtomes, disposable blades are preferred for higher quality sections.

Key Words: Microtome, paraffin section, rotary microtome, sliding microtome, cryostat.

Mikrotomlar patoloji laboratuvarlarının vazgeçilmez cihazlarıdır. Günümüzde en sık kullanılan mikrotomlar: parafin dokularda rotary ve kızaklı mikrotom, taze dokularda ise kriyostattır. Bütün mikrotomlar üç ana yapıdan oluşur; mikrotom gövdesi, bıçak tutucusu, blok veya materyal tutucusu.

Rotary mikrotom, ışık mikroskobu için parafin dokudan ince ve seri kesit alınmasında kullanılır. Rotari mikrotomda blok hareketli, bıçak sabittir.

Kızaklı mikrotom ise daha çok selloidine gömülü dokularda ve büyük parafin blokların kesiminde tercih edilir. Kızaklı mikrotomda blok sabit, bıçak hareketlidir. Kriyostat, acil cerrahi biyopsilerinde ve özel boyama tekniklerinde kullanılır. Soğuk alan içerisine yerleştirilmiş rotary mikrotom yapısındadır. İnce ve seri kesit alınabilmesi ve otomatik sterilizasyon sistemi içermesi, cihazın en büyük avantajlarıdır. Bu üç tip mikrotomda da kesit kalitesi yüksek olan disposable bıçaklar tercih edilir.

Anahtar sözcükler: Mikrotom, kesit, rotari mikrotom, kızaklı mikrotom, kriyostat

Giriş

Mikrotomlar rutin patoloji laboratuvarlarının vazgeçilmez cihazlarıdır. Günümüzde en sık kullanılan mikrotomlar: parafin dokular için rotary (çarklı) ve

kızaklı mikrotom, taze dokular için ise kriyostattır (frozen cihazı)²

Bütün mikrotomlar üç ana yapıdan oluşur.⁹ Bunlar:

1. Mikrotom gövdesi
2. Bıçak tutucusu ve bıçak
3. Blok veya materyal tutucusu

Rotary mikrotom, bugün için birçok patoloji laboratuvarında kızaklı mikrotomun yerini almış durumdadır. Bu mikrotomun avantajı, ışık mikroskobu için parafin dokudan ince ve seri kesit (0,5–60 µ) alınabilmesidir. Rotary mikrotomda blok hareketli, bıçak sabittir.

Kızaklı mikrotom ise daha çok selloidine gömülü dokularda ve büyük parafin blokların kesiminde tercih edilir. Rotary mikrotomdan farklı olarak, kızaklı mikrotomda blok sabit, bıçak hareketlidir.

Kriyostat, acil cerrahi biyopsilerde ve özel boyama tekniklerinde kullanılır. Soğuk alan içerisine yerleştirilmiş bir çeşit rotary mikrotom yapısındadır. İnce ve seri kesit alınabilmesi ve otomatik sterilizasyon sistemi içermesi, cihazın en büyük avantajlarıdır.¹⁻⁹

Bu mikrotomlarda günümüzde en yaygın kullanılan bıçak çeşidi *disposable* bıçaklardır (tek kullanımlık bıçaklar). Bu bıçakların kesit kalitesi oldukça yüksektir.^{2,9} Paslanmaz çelikten imal edilirler ve bıçak ağzı platin ve krom ile kaplı olanlar parafine gömülü dokuların kesiminde kullanılırken, bıçak ağzı teflon ile kaplı olanlar kriyostatta kullanılır.⁹ Blok ve bıçak arasındaki açı genellikle 5°–10°'dir.

Parafine gömülü dokularda, kesit işlemi esnasında doku su banyosu, lam, etüv gibi araç gereçlere ihtiyaç vardır.¹ Kullanılan doku su banyosu termostatlı olmalıdır, distile su tercih edilmelidir ve suyun sıcaklığı parafinin erime derecesinden yaklaşık 10°C düşük olmalıdır.² Bunun yanı sıra her 100 ml suya ilave edilen 5 ml %95 alkol, dokuda hava kabarcığı kalmasını önleyebilir.

Lam üzerinde kesit tutuculuğunu arttırmak için albumin, jelatin, poly-l-lysine, 3-aminopropyl-triethoxysilane (APES) gibi ajanlar kullanılabilir.^{1,2}

Kesit sırasında karşılaşılan bazı sorunlar ve çözümleri aşağıda sıralanmıştır.¹

EĞRİ KESİT

Neden	Çözüm
Blok paralel traşlanmamıştır	Blok paralel olana kadar traşlanmaya devam edilir veya yeniden gömülür
Bıçak ağzı düzensiz	Bıçağın başka kenarı ile kesilir

DEĞİŞEN KALINLIKTA KESİTLER (kalın ve ince)

Neden	Çözüm
Kullanılan parafin çok yumuşak	Blok buz ile soğutulur veya daha yüksek erime derecesine sahip parafine tekrar gömülür
Blok veya bıçak sıkıştırması yetersiz	Blok veya bıçak sıkıştırılır
Mikrotom mekanizmasında aksaklık	Bilinen ayarlar kontrol edilir

BIÇAK AĞZINDA KESİTLERİN SIKIŞIP BÜZÜŞMESİ

Neden	Çözüm
Bıçak kör	Bıçak değiştirilir
Blok veya bıçak sıcak	Soğutulur
Bıçak açısı dar	Açı arttırılır
Kesit çok ince	Daha kalın kesit

KESİTLERİN PARÇALANMASI VE DOKUNUN UFALANMASI

Neden	Çözüm
Yetersiz dehidrasyon, şeffaflandırma ve/veya infiltrasyon	Dokular yeniden takibe alınır
Gömme ve/veya infiltrasyon sırasında parafin çok sıcak	Parafin banyosunun sıcaklığı her gün kontrol edilir

PARAFİN ŞERİTTE YARILMA VEYA UZUNLAMASINA ÇİZİKLER

Neden	Çözüm
Bıçak kör veya çentikli	Bıçak değiştirilir
Bıçak ağzı kirli	Kullanmadan önce temizlenir
Doku parafine göre çok sert	Selloidine gömme önerilir
Dokuda sert partiküller	Kalsiyum ise dekalsifiye edilir, diğer partiküller dokudan uzaklaştırılır

KESİTLERİN BIÇAKTAN KALKMASI

Neden	Çözüm
Bıçak açısı dik	Açı arttırılır
Bıçak kirli	Temizlenir

SU BANYOSUNDA KESİTLERİN DAĞILMASI

Neden	Çözüm
Yetersiz infiltrasyon, yumuşak veya yağlı doku	Kesitler lama çok hızlı alınır veya su soğutulur

Kaynaklar

1. Bancroft JD. Theory and practice of histological techniques. 3rd ed. London: Churchill Livingstone 1990.
2. Carson FL. Histotechnology-A self-Instructional text. 2nd ed. ASCP Chicago 1997.
3. Culling CFA: Handbook of histopathological and histochemical techniques. London, Butterworths, 1974.
4. Davenport AH. Histological and Histochemical Technics. London: W.B. Saunders Company, 1960.
5. Küpelioğlu AA, Pabuçcuoğlu U. Patoloji ve sitopatoloji laboratuvar teknikleri. DEÜ Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu yayın no:3, İzmir, 1995.
6. Luna G. L. Manual of Histologic Staining Methods of the Armed Forces Institute of Pathology, McGraw-Hill Book Company. 2nd ed., 1968.
7. Prophet ED, Mills B, Arrington JB., Sobin LH. Laboratory Methods in Histotechnology. Armed Forces Institute of Pathology Washington, DC. 1994.
8. Sheehan DC, Hrapchak BB. Theory and practice of histotechnology. 2nd ed. Columbus, Ohio, Battelle Press, 1980.
9. Woods EA, Ellis. Laboratory Histopathology. A Complete Reference. Churchill Livingstone, 3rd ed. 1996.