



**SAĞLIK HİZMETLERİ MESLEK
YÜKSEKOKULU**

**PATOLOJİ LABORATUVAR
TEKNİKLERİ PROGRAMI**

PLT113-Genel Histoteknoloji-I

Öğretim Görevlisi Dr. Nurhan ÇON

**Mikrotomda Kesit Alınması
Ve Kesit Alma Sırasında
Karşılaşılan Problemler**

PLT113-Genel Histoteknoloji-I

Hafta-10



- Histopatolojik olarak incelenecek dokuların mikroskopik değerdendirilebilmesi için 3-6µ kalınlığında kesilip mikroskopik inceleme camı olan lama alınması gerekir. Bu işleme **kesit alma** denir.
- Kesit alma işleminin **mikrotom** adı verilen cihazlarda gerçekleştirilir.



Kesit alma işleminde

- Mikrotom
- Su banyosu
- Pens
- Samur ya da deve tüyü fırça
- Temiz lamalar
- Buz tepsisi
- Elmas uçlu kalem ya da kurşun kalem
- Bistüri



Mikrotom Çeşitleri

El mikrotom

- Botanik kesitlerle sınırlıdır.



Rotary mikrotom

- Işık mikroskobu için parafin bloklardan ince ve seri kesit alınabilir.
- Kesit kalınlığı 0.5-60 mikrondur.
- Blok hareketli, bıçak sabittir.
- Glikol metakrilat ve parafine gömülü doku kesitlerinde uygundur.
- Günümüzde patoloji laboratuvarlarında kullanılan mikrotom tipidir.



Mikrotom Çeşitleri

Kızaklı mikrotom

- Tüm doku tipi, boyutu ve sertliği için uygundur.
- Blok sabit, bıçak hareketlidir.
- Selloidin ve büyük parafin bloklarda tercih edilir.



Dondurucu mikrotom (freezing mikrotom)

- Taze, dondurulmuş doku kesitinde kullanılan bir mikrotomdur.
- Doku sabit, bıçaklı hareketlidir.
- Mikrotoma adapte termomodül veya sıvı karbon dioksit taşıyıcı sistem içerir.
- Seri kesit için uygun değildir.
- Kalın kesit verir.



Mikrotom Çeşitleri

Kriyostat (frozen cihazı)

- Soğuk alan içerisine yerleştirilmiş bir çeşit rotary mikrotom yapısındadır.
- İnce ve seri kesit verir.
- Otomatik sterilizasyon sistemi içerir.
- Acil cerrahi biyopsi ve özel boyama tekniklerinde kullanılır.



Ultramikrotom

- Işık ve elektron mikroskobu için çok ince kesitler verir.
- Çok küçük dokular (1 mm ve daha küçük) için uygundur.
- 10 nanomikron'dan daha ince kesitler verir.



Mikrotom Çeşitleri

Testere bıçaklı mikrotom (saw mikrotom)

- Çok sert materyallerin kesilmesinde kullanılır. (Ör: dekalsifiye olmamış kemik)
- 20 mikron ve üzeri kalınlıkta kesitler verir.

Vibrasyon bıçak taşıyıcı mikrotom

- Taze, fikse olmamış materyallerde kullanılır.
- Kesit esnasında bıçakta yüksek hızda vibrasyon görülür.

Rocking mikrotom

- Sadece parafin kesitlerde kullanılır.
- Dokunun yay vasıtasıyla sabit bıçağa doğru hareketi ile kesitler alınır.
- İnce kesit için uygun değildir.



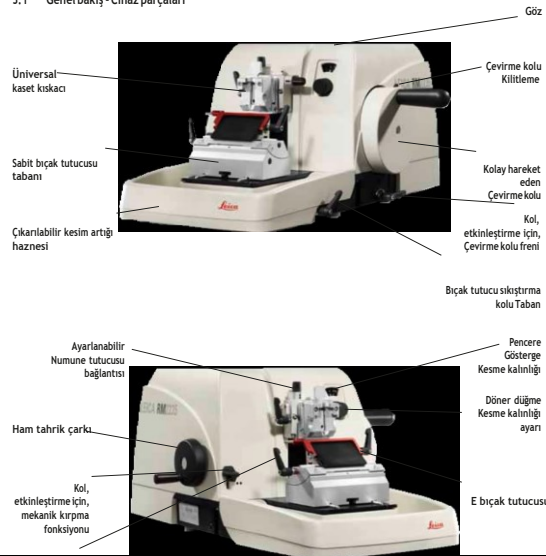
Bütün mikrotomlar üç ana yapıdan oluşur;

- mikrotom gövdesi,
- bıçak tutucusu,
- blok veya materyal tutucusu.



ROTARY MİKROTOM KISIMLARI

3.1 Genel bakış - Cihaz parçaları



Çizim: 0002235

10



- Rotary mikrotomda doku örneği, geniş bir el çarkı yardımıyla 360° dönebilen blok tutucuya yerleştirilir.
- Blok tutucu olukta düşey düzlemde aşağı yukarı hareket eden çelik bir taşıyıcıya monte edilmiştir.
- Çarkın her dönüşünde blok, düşey hareketle, ayarlanan kesit kalınlığında yatay yerleştirilmiş sabit bıçak üzerine ilerler ve her defasında bloktan bir kesit



Mikrotom Cihazının Yapısı

- Mikrotom gövdesi:
 - Çalışma mekanizmasının içinde olduğu üstü kapaklı gövdedir.
 - Sağ yanında kesit alma kolu, sol yanında traşlama kolu (mandal veya dijital düğme) bulunur.
 - Blok tutucu ve bıçak tutucu başlıkları da üzerinde bulundurulur.
 - Önünde atık toplama kabı mevcuttur.



Mikrotom Cihazının Yapısı

- **Blok tutucu başlık:**
 - Parafin blokların tutulduğu başlıktır.
 - Blok tutucu dört yönlü (sağ, sol, üst, alt) hareket ettirilebilir.
- **Bıçak tutucu başlık:**
 - Disposable bıçağın yuvaya takılıp bir mandal ile kilitlenmesini sağlar.
 - Blok ve bıçak arasındaki açı 5° - 10° ayarlanır.
 - Bıçak tutucu başlık veya bıçak sağ-sola hareket ettirilebilir



Mikrotom Bıçakları

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



Mikrotomda Kesit Alma

1. Bıçak tutucu başlık 5° - 10° ayarlanır.
2. Bıçak tutucu başlığa daha önce kullanılmış (traşlama için) bıçak takılır.
3. Blok tutucu ve bıçak tutucu başlık ayarı yapılır.
 - Blok tutucu başlık alt kısmı, bıçak tutucu üst kısmına 5 mm yaklaştırılarak tüm bıçak yüzeyi boyunca eşit ayarlanır. Böylece blok alt kısmı bıçağa değecek, kesit öne doğru akacaktır.



Mikrotomda Kesit Alma

8. Su banyosu 45° - 50° olmalıdır.
9. Kesit kolu üst seviyede kilitlenir.
10. Bıçak başlıktan dışarı alınır, üzerindeki parafin temizlenir, makroskopi alımı için kullanılır. Bu sistem % 25 bıçak tasarrufu sağlar.
11. Bıçak tutucu başlığın, bıçak takılan kısmının hemen arkasındaki parafinler gazlı bezle temizlenir.



Mikrotomda Kesit Alma

12. Bıçak tutucu başlığın, bıçak takılan kısmının hemen arkasındaki parafinler gazlı bezle temizlenir.
13. Bıçak tutucuya yeni bıçak takılır. Bıçak üç bölgeye ayrılarak sırayla kullanılır.
14. Soğutucudan alınan blok yuvaya takılır.
15. Kesit alma kolu kilidi açılır, saat yönünde dairesel hareket ettirilmeye başlanır.



Mikrotomda Kesit Alma

16. Plaka üzerine düşen 2-3 kesit fırça yardımı ile birbirinden ayrılmadan yukarı kaldırılıp parmaklarla tutulur.
17. Kesit alma kolu yavaşça aşağıya inerken plaka üzerine düşen kesitler üflenerek açılır, 3-4 kesit alınır.
18. Plaka üzerindeki son kesit fırça yardımı ile plakadan alınır.



Mikrotomda Kesit Alma

19. Su banyosuna önce fırçanın ucundaki kesitler, sonra da parmaklardaki kesitler bırakılır.

- Bu işlem kesitlerin sırayla ve açtırılarak suya atılmasını sağlar.
- İki ucundan tutulan kesitlerin uçması engellenmiş olur.

20. Su banyosunda açılan kesitler lamlara alınıp, lam taşıma sepetine dizilir.

21. Bıçak, tutucudan dışarıya alınır. Bıçak koruyucu aparat bıçak tutucu üzerine getirilir. Kesit kolu kilitlenir.

22. Mikrotomun tüm üniteleri temizlenir.



Özetle..

Blok soğutma

Bıçağı tutucuya sabitleme
ve bıçak açısı ayarlama

Blok sabitleme

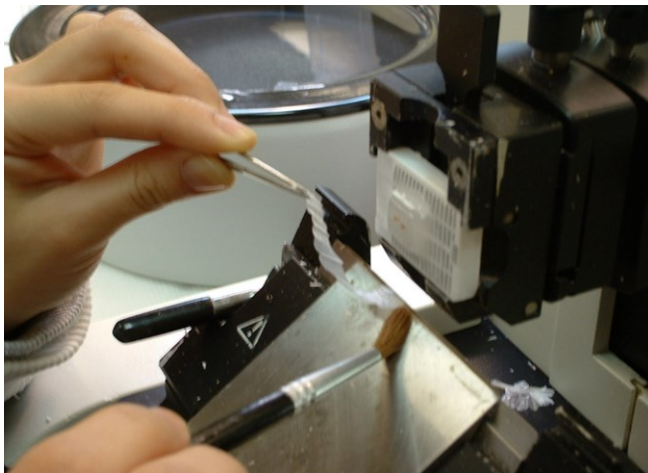
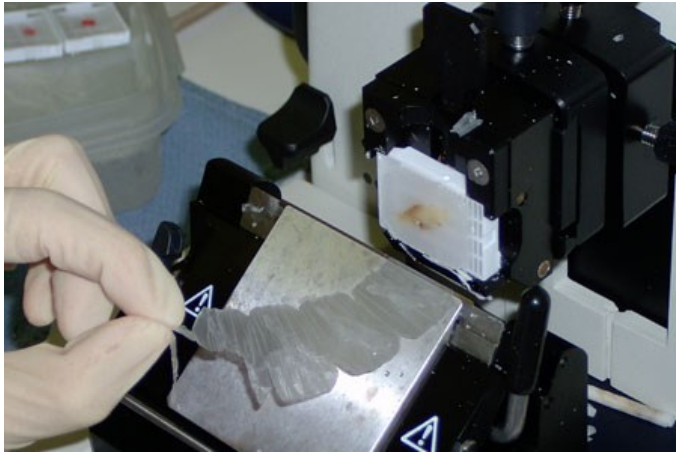
Blok tıraşlama

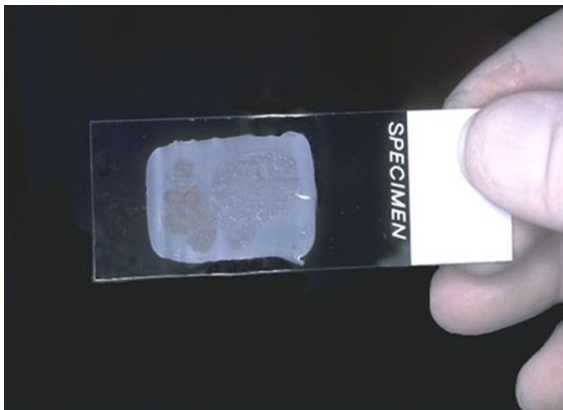
Kesit alma

Kesiti suya bırakma

Kesiti lama alma

Lamı deparafinizasyon için
sepete dizme





Lam üzerinde kesit tutuculuğunu arttırmak için;

- albumin,
- jelatin,
- poly-l-lysine,
- 3-aminopropyltriethoxysilane (APES) gibi ajanlar kullanılabilir.



Kesit Almada Dikkat Edilecek Hususlar

- Küçük dokular:
 - 3-4 mikron kesilir.
 - Kesit kolu aşağıya hızlı ve ritmik indirilerek seri 10 kesit alınır.
 - Lam ikiye bölünerek her biri yarısına 4 kesit alınır.
- Rutin dokular:
 - 3-4 mikron kesilir.
 - Kesit kolu aşağıya yavaş indirilerek 3-4 seri kesit alınır.
 - Lama 2 kesit alınır.



Kesit Almada Dikkat Edilecek Hususlar

- **Sert dokular:**

- 2-4 mikron kesilir.
- Kesim kolu aşağıya yavaş indirilerek 3-4 seri kesit alınır.
- Lama poly-L-Lysine solüsyonu 1 damla damlatılıp, 2.lam ile yayma yapılır, havada kurutulur.
- Doku dökülmesini önleyen poly-L-Lysinle kaplı lama 2 kesit alınır.

- **Yumuşak dokular:**

- 4-7 mikron kesilir.
- Kesim kolu aşağıya hızlı ve ritmik indirilerek seri 3-4 kesit alınır.
- Lama 2 kesit alınır.



Kesit İşleminde Oluşabilen Problemler



EĞRİ KESİT

Nedenleri	Çözümleri
• Blok paralel traşlanmamıştır. • Bıçak ağzı düzensizdir.	• Blok paralel olana kadar traşlanmaya devam edilir veya yeniden gömülür. • Bıçağın başka kenarı ile kesilir.

Kesit İşleminde Oluşabilen Problemler



DEĞİŞEN KALINLIKTAKİ KESİTLER

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

Kesit İşleminde Oluşabilen Problemler



BIÇAK AĞZINDA KESİTLERİN SIKIŞIP BÜZÜŞMESİ

Nedenleri	Çözümleri
• Bıçak kör olabilir. • Blok veya bıçak sıcak olabilir. • Bıçak açısı dar olabilir. • Kesit çok incedir.	• Bıçak değiştirilir. • Blok/bıçak soğutulur. • Bıçak açısı artırılır. • Daha kalın kesit alınır.

Kesit İşleminde Oluşabilen Problemler



KESİTLERİN PARÇALANMASI VE DOKUNUN UFALANMASI

Nedenleri

- Yetersiz dehidrasyon, şeffaflandırma veya infiltrasyon.
- Gömme ve infiltrasyon esnasında parafin çok sıcak olabilir.

Çözümleri

- Dokular yeniden takibe alınır.
- Parafin banyosunun ısısı hergün kontrol edilir.

Kesit İşleminde Oluşabilen Problemler



PARAFİN ŞERİTTE YARILMA VEYA UZUNLAMASINA ÇİZİKLER

Nedenleri

- Bıçak ağızı kirli olabilir.
- Bıçak kör veya çentikli olabilir.
- Doku parafine göre çok sert olabilir.
- Dokuda sert partiküller olabilir.

Çözümleri

- Bıçak kullanmadan önce temizlenir.
- Bıçak değiştirilir.
- Selloidine gömme önerilir.
- Kalsiyum ise dekalsifiye edilir, diğer partiküller dokudan uzaklaştırılır.

Kesit İşleminde Oluşabilen Problemler



KESİTLERİN BIÇAKTAN KALKMASI

Nedenleri

- Bıçak açısı diktir.
- Bıçak kirlidir.

Çözümleri

- Bıçak açısı arttırılır.
- Bıçak temizlenir.

Kesit İşleminde Oluşabilen Problemler



SU BANYOSUNDA KESİTLERİN DAĞILMASI

Nedenleri

- Yetersiz infiltrasyon, yumuşak veya yağlı doku.

Çözümleri

- Kesitler lama çok hızlı alınır veya su soğutulur.

Kesit Alma İşlemiyle İlgili Tavsiyeler



Dokuların kalsifiye, iplikli, yağlı ve yumuşak gibi zor kesilen kısımları, bloğun üst kısmına bıçağa son temas noktasına denk getirilmelidir.

Doku özelliğine göre (sert-yumuşak) soğutucu ısı ayarlanmalıdır.

Kesitlerin rahat bir şekilde havada uçmadan suya atılabilmesi için ortamda hava sirkülasyonu olmamalıdır.

Kesitlerin mikrotom plakasına yapışmaması, blokların hemen ısınıp kesit almanın zorlaşmaması için ortam ısı 20-25 derece olmalıdır.