



# Microtomia e preparazione delle sezioni in paraffina

Scientia

Serie didattica di Leica Microsystems

Living up to Life

*Leica*

MICROSYSTEMS



# Introduzione

La preparazione di sezioni di qualità nel campo dell'istopatologia richiede abilità ed esperienza, ma tutti devono pur cominciare da qualche parte. Il presente opuscolo si propone come supporto didattico per i principianti nel campo della microtomia e della preparazione di sezioni in paraffina, nonché come corso di aggiornamento per i tecnici più esperti. Vengono trattati gli elementi fondamentali per la configurazione e il funzionamento sicuro di un microtomo rotativo utilizzato per la preparazione di sezioni in paraffina. Inoltre vengono descritti gli errori più comunemente riscontrati nelle sezioni insieme alle procedure diagnostiche da seguire.

Il microtomo illustrato nel presente opuscolo è un microtomo manuale Leica RM2235; tuttavia i suggerimenti e i commenti forniti possono essere applicati a gran parte dei microtomi rotativi moderni. Nel manuale di istruzioni dello strumento specifico è riportata una descrizione delle funzioni meccaniche e di sicurezza di altri modelli insieme alle relative istruzioni per l'uso.

# Scientia

Conoscenza. Scienza. Competenza.

Scientia è la serie didattica proposta da Leica Microsystems per migliorare la teoria e la pratica dell'istologia attraverso la didattica, la formazione e la discussione scientifica.

**Autore**

Geoffrey Rolls

**Contributi a cura di**

Claudia Dorenkamp

Neville Farmer

Jan Minsheu

Kerrie Scott-Dowell

Fiona Tarbet

# Indice dei contenuti

<b>1.</b>	Fissare correttamente i campioni . . . . .	3
<b>2.</b>	Processare correttamente il tessuto . . . . .	4
<b>3.</b>	Includere i campioni con cautela . . . . .	5
<b>4.</b>	Posizionare correttamente il microtomo . . . . .	6
<b>5.</b>	Utilizzare correttamente le funzioni di sicurezza . . . . .	7
<b>6.</b>	Impostare l'angolo di inclinazione della lama ottimale . . . . .	9
<b>7.</b>	Massimizzare la durata della lama . . . . .	10
<b>8.</b>	Orientare correttamente il campione . . . . .	11
<b>9.</b>	Conoscere le caratteristiche progettuali del microtomo e il loro impiego . . . . .	13
<b>10.</b>	Prestare attenzione durante le fasi di sgrossatura . . . . .	14
<b>11.</b>	Considerare i fattori che incidono sullo spessore della sezione . . . . .	16
<b>12.</b>	Verificare che i blocchetti siano freddi . . . . .	17
<b>13.</b>	Apprendere il metodo di taglio per ottenere sezioni uniformi, sottili e di qualità . . . . .	18
<b>14.</b>	Scegliere correttamente il vetrino e l'adesivo . . . . .	19
<b>15.</b>	Far galleggiare le sezioni con cautela . . . . .	20
<b>16.</b>	Far asciugare adeguatamente i vetrini . . . . .	22
<b>17.</b>	Pulizia e manutenzione appropriata del microtomo . . . . .	23
<b>18.</b>	Imparare a riconoscere e a correggere gli errori comuni . . . . .	24



# 1. Fissare correttamente i campioni

**La fissazione è la fase più importante della procedura di preparazione dei campioni istologici. Non importa quanto bene siano stati processati e sezionati i tessuti: i dettagli morfologici più importanti saranno visibili soltanto se il tessuto è stato fissato tempestivamente e correttamente.**

- I campioni fissati in modo non corretto sono sempre più difficili da sezionare rispetto a quelli ben fissati.
- Il tessuto fissato in modo non corretto evidenzia sempre una morfologia alterata anche se è stato sottoposto ad una processazione ottimale e ad un sezionamento accurato.

## 2. Processare correttamente il tessuto

**Se un campione ben fissato non viene processato correttamente con un protocollo adeguato, risulterà difficile sezionare il blocchetto**

- I campioni possono subire una processazione insufficiente (campione troppo grande, protocollo troppo breve) o una processazione eccessiva (protocollo troppo lungo per la grandezza e la natura del campione). In entrambi i casi possono essere difficili o impossibili da tagliare.
- Per sezionare i blocchetti difficili si possono utilizzare varie tecniche.
- Se il blocchetto è difficile da sezionare perché il tessuto è duro o friabile, la superficie esposta può essere immersa in un bagno di acqua fredda o di un agente emolliente, come una soluzione di detergente delicato, un ammorbidente o Mollifex™.
- Per i campioni a base di calcio, si possono ottenere varie sezioni applicando al tessuto esposto un agente decalcificante per una durata di 10 minuti o oltre. Prima di essere montati nel portacampioni e ritagliati, i blocchetti devono essere risciacquati, in quanto le tracce di decalcificante danneggiano la piastra a pressione del portalamina.
- Per il sezionamento di blocchetti difficili dove la fissazione, la processazione o l'infiltrazione possono essere problematiche o quando i normali metodi di sezionamento non producono risultati adeguati, si consiglia di utilizzare il Leica Paraffin Tape-Transfer System™.
- Laddove non sia possibile sezionare un blocchetto poiché in precedenza il campione ha subito una processazione insufficiente, può essere possibile riprocessarlo.



Il blocchetto di pancreas è stato fissato in modo insufficiente ed è stato processato con un protocollo decisamente troppo breve. Il risultato evidenzia gli effetti tipici di una processazione insufficiente, in questo caso una riduzione consistente del campione nella cera circostante. Il tessuto era molle e poltiglioso ed era impossibile da sezionare. È stato necessario riprocessarlo.

### 3. Includere i campioni con cautela

**L'inclusione è una fase importante da gestire con accuratezza. Infatti un'inclusione non accurata può rendere più complicata la microtomia.**

- Non riempire troppo poco la cassetta per evitare un bloccaggio instabile nel microtomo, il taglio di sezioni "spesse e poi sottili" ed altri problemi.
- Non sovraccaricare le cassette per non pregiudicare il corretto allineamento della parte anteriore del blocchetto da sezionare.
- Prima del bloccaggio, occorre rimuovere eventuali eccessi di paraffina all'esterno della cassetta per garantire che il blocchetto resti ben fissato durante il sezionamento.
- L'orientamento del campione è di estrema importanza (vedere il punto 8. a pagina 11).



Esempi di cassette riempite troppo poco (a sinistra), riempite troppo (a destra) e riempite correttamente (al centro). Le cassette riempite in modo insufficiente o eccessivo possono comportare problemi durante la microtomia

## 4. Posizionare correttamente il microtomo

**La posizione del microtomo nel laboratorio è un fattore essenziale.**

- Il microtomo deve essere posizionato su un banco di lavoro stabile, lontano da correnti d'aria, porte e persone. Qualsiasi movimento d'aria provocato da condizionatori o fonti simili può rendere estremamente difficile la manipolazione delle sezioni.
- Utilizzare preferibilmente un banco di lavoro regolabile in altezza e una sedia ergonomica.
- È fondamentale che il personale non venga distratto durante l'impiego del microtomo per evitare il rischio di lesioni dato dalla presenza di lame molto affilate. Nella fase di posizionamento dei microtomi nel laboratorio, considerare sempre la potenziale interazione con gli altri membri dello staff.
- È preferibile disporre di un pavimento non scivoloso nelle vicinanze dei microtomi in quanto, inevitabilmente, cadranno per terra dei frammenti di paraffina che possono rendere scivolosa la superficie del pavimento. Per rendere l'ambiente più sicuro, in molti laboratori si utilizza un tappeto antiscivolo.

## 5. Utilizzare correttamente le funzioni di sicurezza

**L'operatore deve aver familiarizzato con le funzioni di sicurezza del microtomo in uso e durante il taglio delle sezioni ed è tenuto ad osservare alcune regole fondamentali.**

- Le lame monouso e le lame del microtomo sono estremamente affilate: lavorare prestando la dovuta attenzione per evitare lesioni gravi. Un microtomista distratto e non completamente concentrato incorre nel rischio di incidenti.
- Usare delle pinze o un pennello e non le dita per raccogliere le sezioni o i frammenti di paraffina dalla lama o dalla parte anteriore del blocchetto.
- Per garantire un funzionamento sicuro, i microtomi rotativi Leica sono dotati di una protezione di sicurezza (proteggi-lama o proteggi-dita) e il volano è provvisto di un sistema di blocco e frenata.
- La protezione di sicurezza può essere posizionata per coprire l'intera lunghezza del tagliente.
- Il fermo del volano blocca la testa dell'oggetto in cima alla corsa di taglio e deve essere utilizzato durante il cambio dei blocchetti.
- La protezione deve essere inserita, con il fermo del volano inserito, ogni volta che un blocchetto viene inserito o rimosso dal fermo del cassetto o quando si manipola il blocchetto con la lama in posizione. La protezione dovrà essere utilizzata anche quando il microtomo resta senza inutilizzato.
- Il freno del volano blocca il microtomo con il volano posizionato in un punto qualsiasi e viene utilizzato per riallineare la parte anteriore del blocchetto o regolare l'avanzamento massimo.

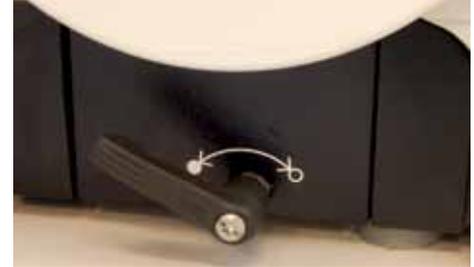


In questa figura la protezione di sicurezza rossa del microtomo Leica RM2235 è stata inserita in posizione e copre completamente il tagliente della lama.



Qui il blocco del volano viene rappresentato con il volano in posizione ore 12 e il blocco inserito. Il blocco si inserisce soltanto in questa posizione in cima alla corsa di taglio.

- Quando lo strumento non è sorvegliato da un operatore o al momento di pulire lo strumento, è necessario rimuovere il coltello o la lama. La procedura migliore da seguire a questo scopo è quella di sbloccare la lama e cominciare ad estrarla lateralmente dal fermo utilizzando l'espulsore lama, a sinistra della protezione. Per essere rimossa in sicurezza, la lama può essere afferrata con delle pinze (e non con le dita) o raccolta con il magnete all'estremità del pennellino Leica. Le lame usate vanno gettate in un contenitore speciale per oggetti appuntiti, oppure nella fessura "lame usate" alla base del distributore di lame.
- Non appoggiare mai un coltello o una lama sul piano di lavoro o in una scatola con il tagliente rivolto verso l'alto. Se casualmente dovesse sfuggire dalle mani una lama, lasciare che cada. Non tentare di afferrarla per nessun motivo (un riflesso naturale che occorre contrastare).

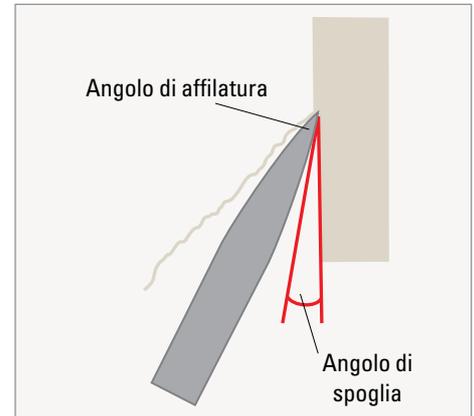


Qui il freno del volano del Leica RM2235 viene mostrato in posizione bloccata. Il freno può essere attivato con il volano in una posizione qualsiasi. Il microtomo viene immobilizzato sia con il fermo, sia con il freno del volano.

## 6. Impostare l'angolo di inclinazione della lama ottimale

**L'angolo di inclinazione della lama è regolabile e deve essere impostato per una prestazione ottimale.**

- L'angolo di inclinazione della lama evita il contatto tra la faccetta della lama e la parte anteriore del blocchetto.
- L'angolo di affilatura è l'angolo compreso tra le due facce che formano il tagliente. Per le procedure di routine si utilizzano lame e lame monouso aventi un angolo di affilatura di circa  $35^\circ$ , ma questo angolo può variare in base al tipo di lama e al costruttore.
- Per questo motivo l'angolo di inclinazione della lama deve essere impostato correttamente per ogni tipo di lama.
- Per raccomandazioni sull'angolo da impostare, fare riferimento alle istruzioni del costruttore del microtomo. Nel caso dei portalama Leica, si consiglia di impostare un angolo compreso tra  $1^\circ$  e  $5^\circ$ .



## 7. Massimizzare la durata della lama

**Per ottenere la massima durata da ogni lama si possono adottare una serie di semplici strategie.**

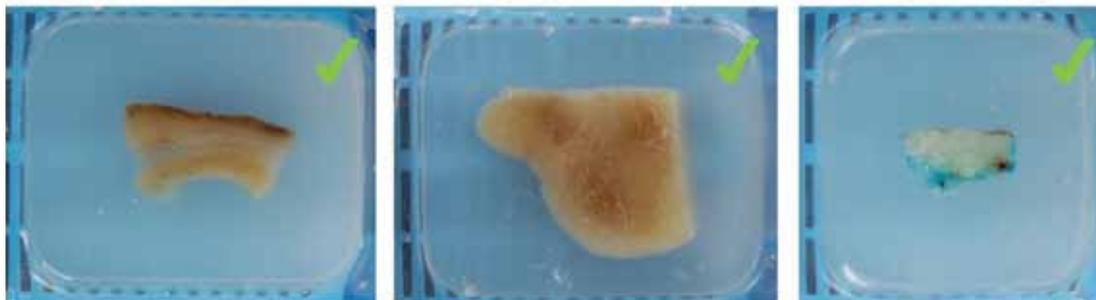
- Quando si pulisce la lama, evitare di trascinare residui lungo il tagliente. Anche le fibre di cellulosa possono danneggiare la lama.
- Evitare di toccare il tagliente con oggetti duri come le pinze o il pennello.
- Usare la lama in modo sistematico, lavorando da un'estremità all'altra. Così facendo si ottiene la massima durata di ogni parte della lama.
- Utilizzare una parte della lama per la sgrossatura e un'altra parte per il sezionamento finale; in alternativa, usare due lame distinte per le due procedure.
- Un microtomo con retrazione prolunga la durata della lama allontanando il campione dalla lama durante la corsa in salita ed evitando che si accumulino residui sul retro della lama.

## 8. Orientare correttamente il campione

**L'orientamento del campione rispetto alla lama durante la corsa di taglio può incidere sulla facilità con cui si può ottenere una seriata e influenzare direttamente la qualità della sezione.**

- Nella maggior parte dei laboratori tutte le cassette vengono collocate nel ferma-oggetti orientate allo stesso modo (ad es. con l'etichetta a sinistra per l'orientamento est-ovest, oppure in cima per l'orientamento nord-sud). Così facendo si agevola l'operazione di sgrossatura dei vari blocchetti che precede la preparazione di sezioni di qualità e che consente di eseguire tagli più profondi o tagli ripetuti evitando perdite di tessuto eccessive. Pertanto è necessario considerare l'orientamento del campione rispetto alla lama già nella **fase di inclusione, operazione che spesso si trascura di fare.**
- La figura riportata a pagina 12 mostra l'orientamento ideale di alcuni campioni tipici. Esistono opinioni diverse in merito all'orientamento ottimale per determinati tipi di campioni; l'orientamento è tuttavia un fattore importante e deve essere valutato.
- Esempio A. Intestino: la lama attraversa la mucosa alla fine
- Esempio B. Cervice: è meglio presentare un punto di tessuto denso alla lama anziché una linea diritta.
- Esempio C. Cute: la lama attraversa l'epidermide alla fine.
- Microtomi come il modello Leica RM2235 sono inoltre dotati di un sistema di orientamento di precisione con comandi calibrati che consentono di trovare facilmente una posizione zero o una variabile misurabile sull'asse x/y. Questa funzione è molto utile quando si ritagliano i blocchetti preparati in altri laboratori o su altri microtomi, dove è richiesto un allineamento preciso per evitare inutili

perdite di tessuto. Nella routine del taglio di più blocchetti, è importante che il portacampioni venga impostato in posizione zero su entrambi gli assi prima di iniziare il sezionamento. A questo scopo si utilizzano gli indicatori (rossi), le tacche (arrestati con clic) e le marcature.



A. Intestino

B. Cervice

C. Cute



↑ ↑ ↑ **Lama** ↑ ↑ ↑

## 9. Conoscere le caratteristiche progettuali del microtomo e il loro impiego

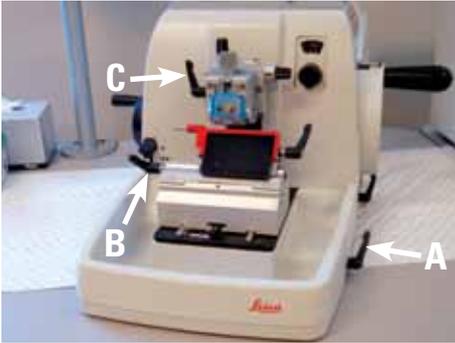
**I microscopi con retrazione sono progettati affinché il campione si retragga allontanandosi dalla lama durante la corsa di salita. È importante sapere se il proprio microtomo è dotato di questa funzione.**

- La retrazione è una caratteristica costruttiva che offre una serie di vantaggi nella fase di sezionamento, oltre ad allungare la durata della lama.
- Se si utilizza un microtomo che integra la possibilità di retrazione, la parte anteriore del blocchetto deve essere allineata al tagliente mentre il blocchetto è in corsa discendente (nella posizione in avanti, non retratto).
- Se un blocchetto viene allineato vicino al tagliente della lama mentre il braccio del campione è in retrazione, grazie alla completa rotazione successiva del volano il blocchetto avanzerà di tutto il valore della retrazione più lo spessore della sezione selezionata. Ciò si tradurrà nel taglio di una sezione spessa che potrebbe danneggiare sia il campione sia la lama.
- I microtomi possono essere manuali, semiautomatici o automatici.
- Gli strumenti automatici riducono i movimenti ripetitivi che possono comportare problemi muscolo-scheletrici.

## 10. Prestare attenzione durante le fasi di sgrossatura

**Questa fase della microtomia richiede la massima attenzione, in quanto è facile perdere tessuto rilevante ai fini diagnostici o danneggiare la superficie del blocchetto.**

- Prima di cominciare la sgrossatura, accertarsi sempre che tutti i meccanismi di blocco siano ben fissati.
- La sgrossatura di un blocchetto ha lo scopo di esporre il tessuto in modo tale da poter ottenere una sezione rappresentativa preservando le caratteristiche morfologiche.
- Gli spessori della sgrossatura sono generalmente compresi tra 10 e 30  $\mu\text{m}$ .
- La sgrossatura rapida di un tessuto fragile può danneggiare la superficie del campione<sup>2</sup>. Prestare particolare attenzione quando si utilizza il dispositivo di sgrossatura meccanica a 30  $\mu\text{m}$ .
- Come operazione finale, lucidare la parte anteriore del blocchetto tagliando delicatamente alcune sezioni sottili. Così facendo si evita il problema illustrato nella figura 18B a pagina 24.



Prima di sgrossare il blocchetto, è necessario che il morsetto della base portalama A, il morsetto di spostamento laterale B e il morsetto di orientamento x-y C siano saldamente bloccati. In caso contrario, si possono danneggiare sia il blocchetto che la lama.



Durante la sgrossatura, utilizzare con cautela il dispositivo di rifilatura meccanica, in particolare l'impostazione inferiore (..) che produce un avanzamento di 30  $\mu\text{m}$  (se attivata).

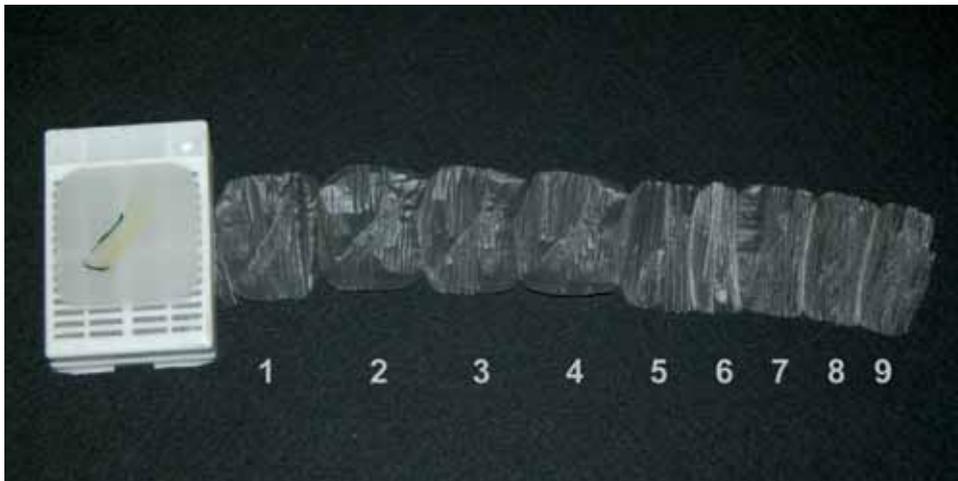


Durante la sgrossatura utilizzare con cautela il volano di avanzamento, così da evitare di tagliare accidentalmente sezioni spesse dalla superficie del campione e provocare danni.

# 11. Considerare i fattori che incidono sullo spessore della sezione

**Il microtomo può essere impostato liberamente, ma occorre tenere presente che esistono una serie di fattori che stabiliscono lo spessore effettivo della sezione.**

- Una sezione coesa di 4  $\mu\text{m}$  può fornire più informazioni di una sezione molto disgregata di 2  $\mu\text{m}$ .
- Lo spessore effettivo delle prime due sezioni di una seriata può essere maggiore rispetto a quanto indicato per effetto dell'espansione termica<sup>3,4</sup> generata dal taglio di un blocchetto freddo (come evidenziato nelle sezioni 1, 2 e 3 di seguito).
- Lo spessore effettivo ottenuto può essere condizionato da altri fattori, quali la velocità di rotazione, l'angolo di inclinazione della lama impostato e lo stato del tagliente.



## 12. Verificare che i blocchetti siano freddi

**In genere il sezionamento risulta migliore quando il campione e la paraffina sono bilanciati in termini di durezza. È per questo motivo che la maggior parte dei blocchetti di paraffina devono essere freddi quando si tagliano le sezioni. Il metodo utilizzato per raffreddare il blocchetto è importante.**

- La paraffina fredda supporta meglio gli elementi più duri di un campione, consentendo di ottenere sezioni più sottili.
- Lasciare i blocchetti su una piastra fredda o su una superficie **umida** e fredda per alcuni minuti (ad esempio la superficie del ghiaccio che si scioglie).
- In questo modo l'acqua penetra per un breve tratto nella parte anteriore del blocchetto, dilatando i tessuti e rendendoli più duttili per il taglio. Questa operazione è di estrema utilità soprattutto quando i tessuti sono eccessivamente disidratati, secchi o friabili.
- Mettendo i blocchetti in un freezer si può provocare una rottura superficiale, che ha l'effetto di separare il tessuto dalla paraffina circostante. Di conseguenza sarà più difficile ottenere sezioni coese.



Le sezioni a sinistra sono state tagliate da un blocchetto relativamente caldo, senza raffreddamento. Le sezioni a destra sono state tagliate dallo stesso blocchetto dopo averlo fatto raffreddare sul ghiaccio.

# 13. Apprendere il metodo di taglio per ottenere sezioni uniformi, sottili e di qualità

**L'esperienza è insostituibile, tuttavia ci sono alcune operazioni fondamentali che renderanno il compito più semplice.**

- Utilizzare una parte della lama diversa da quella usata per la sgrossatura.
- Se si utilizza la manopola di avanzamento, evitare di tagliare accidentalmente sezioni spesse poiché in questo modo si danneggia la lama e si rischia di danneggiare anche la parte anteriore del blocchetto.
- Se la parte anteriore del blocchetto diventa calda o se sono richiesti livelli più profondi, può essere necessario raffreddare ulteriormente il blocchetto.
- In genere i risultati migliori con una compressione minima si ottengono con un taglio lento e uniforme.
- Non interrompere e riavviare una corsa di taglio, perché si formeranno fasce di spessore diverso lungo la sezione.
- Prima del taglio di ciascuna sezione, in alcuni laboratori si è soliti soffiare leggermente sulla parte anteriore del blocchetto raffreddato. Grazie all'aria calda e umida le sezioni tendono a diventare più coese però inoltre si può anche favorire il fenomeno di espansione termica che rende la sezione più spessa<sup>3</sup>.
- I detriti che si incollano sul bordo superiore e su quello inferiore del blocchetto o sul retro della lama, possono compromettere la produzione di seriate coese e far distaccare la seriatata dalla lama durante la corsa in salita. Se sono presenti detriti rimuoverli, ripetere il raffreddamento del blocchetto e ricominciare.



Questo nastro è stato tagliato con una corsa lenta e stabile da un blocchetto adeguatamente processato e ben raffreddato. Le sezioni rivelano una compressione minima, anche prima del galleggiamento.

## 14. Scegliere correttamente il vetrino e l'adesivo

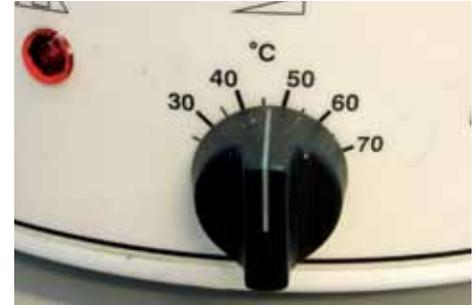
**La scelta del vetrino e dell'adesivo è legata ai metodi di colorazione che verranno applicati successivamente.**

- I vetrini devono essere sempre privi di grasso e di polvere, conservati e manipolati correttamente.
- Se la colorazione prevede anche la rivelazione dell'antigene (IHC), un pretrattamento enzimatico (ISH) o un'incubazione prolungata, è necessario utilizzare vetrini caricati positivamente o adesivi come aminoalkylsilane (AAS). Alcune colorazioni speciali, in particolare quelli che fanno uso di reagenti alcalini, possono provocare il sollevamento delle sezioni.
- I vetrini devono essere provvisti di un'etichettatura accurata e idonea in conformità alle normative locali vigenti.

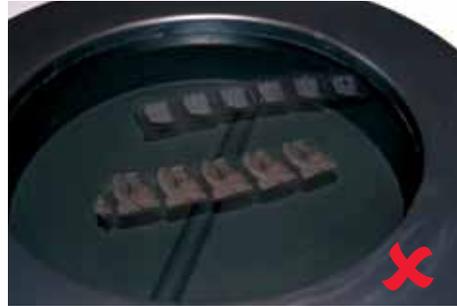
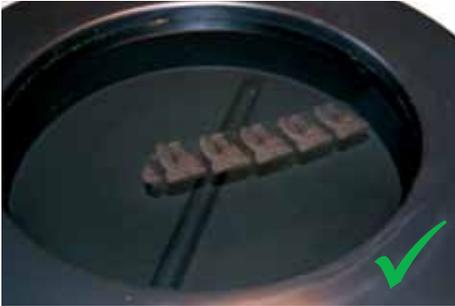
# 15. Far galleggiare le sezioni con cautela

**Il galleggiamento deve espandere la sezione fino alle dimensioni originali e renderle completamente piatte.**

- Monitorare attentamente la temperatura. La temperatura dovrà essere di 5 - 9 °C sotto il punto di fusione della paraffina.
- Accertarsi che l'acqua sia pulita e priva di bolle e scarti di sezione (per evitare una contaminazione incrociata).
- Adagiare le sezioni con il lato liscio (lucido) verso il basso.
- Adagiare le sezioni sulla superficie dell'acqua.
- Le sezioni si rovinano con estrema facilità quando si eliminano increspature o bolle con pinze o pennello.
- Analizzare tutte le sezioni quando galleggiano sull'acqua: le imperfezioni possono essere subito visibili.
- Lasciare la sezione sull'acqua per il tempo necessario affinché si appiattiscano. Un'espansione eccessiva può rovinare la morfologia nelle sezioni più delicate.
- Per effettuare un drenaggio efficace ed evitare che la sezione scivoli verso il basso del vetrino, togliere i vetrini dall'acqua in senso verticale.



- Prima di collocare i vetrini in un asciugatore o in un forno, farli scolare verticalmente per un breve lasso di tempo in modo da eliminare l'acqua in eccesso.
- Schiumare la superficie dell'acqua con un panno privo di filamenti, per evitare il rischio di una contaminazione incrociata.
- Per evitare possibili contaminazioni, far galleggiare le sezioni di un blocchetto per volta.



Non far galleggiare contemporaneamente le sezioni di due blocchetti diversi. Anche se i campioni possono essere di tipo diverso, esiste il rischio di una contaminazione incrociata e la confusione può portare ad un'identificazione errata. Evitare sempre questo rischio.

## 16. Far asciugare adeguatamente i vetrini

**Un'asciugatura adeguata fa sì che i vetrini siano completamente disidratati, non presentino danneggiamenti termici, siano piatti e non tendano a sollevarsi durante la colorazione.**

- Prima di asciugare la sezione, far scaricare l'acqua in eccesso. Questa operazione è fondamentale per i vetrini che verranno asciugati su una piastra calda, in posizione orizzontale<sup>5</sup>.
- I vetrini possono essere impilati in posizione verticale e poi asciugati in un forno.
- Di norma la temperatura di asciugatura non deve superare i 65 °C.
- La temperatura in eccesso può far sì che le gocce d'acqua sotto una sezione inizino a bollire: questo può danneggiare il campione.
- Far asciugare le sezioni per un periodo di tempo compreso tra 10 e 30 minuti.
- Con i campioni più delicati, si ottengono i risultati migliori asciugandoli a 37 °C per un tempo maggiore (da diverse ore a tutta la notte).

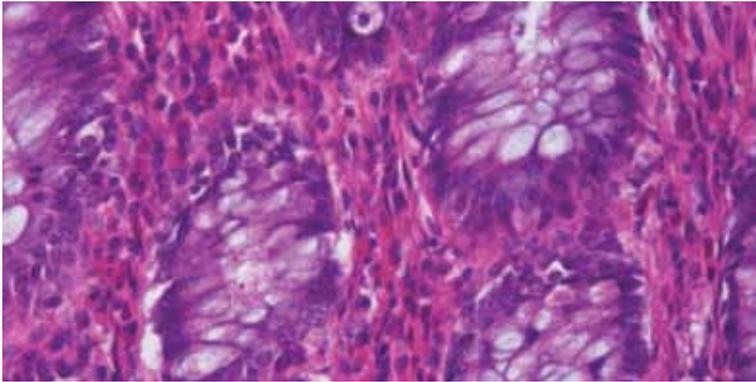
## 17. Pulizia e manutenzione appropriata del microtomo

**Dopo l'uso, è importante rimuovere i residui di tessuto e la paraffina che si sono accumulati. Effettuare regolarmente una manutenzione preventiva.**

- Pulire lo strumento quotidianamente.
- Prima delle operazioni di pulizia, rimuovere sempre la lama.
- La rimozione del porta-lama consente un accesso più agevole per la pulizia.
- Gli scarti delle sezioni vengono facilmente rimossi con un pennello asciutto.
- Non usare alcol o xilene per pulire le superfici esterne, in quanto le superfici non sono resistenti a questi solventi ed è consigliabile evitare l'esposizione allo xilene. Utilizzare un prodotto specifico per rimuovere la paraffina, detergenti domestici delicati o acqua e sapone.
- Durante la pulizia non devono penetrare liquidi all'interno dello strumento.
- Fare ispezionare lo strumento da un tecnico qualificato almeno una volta all'anno.
- Osservare le istruzioni di lubrificazione riportate nel manuale d'uso e utilizzare i lubrificanti raccomandati.

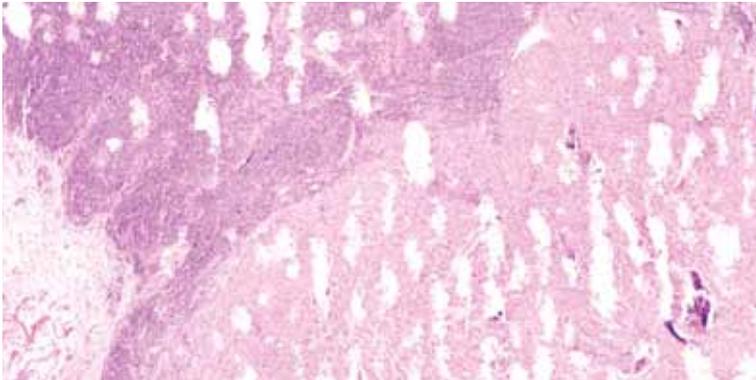
# 18. Imparare a riconoscere e a correggere gli errori comuni

Ecco alcuni degli errori più comuni riscontrati nelle sezioni in paraffina:



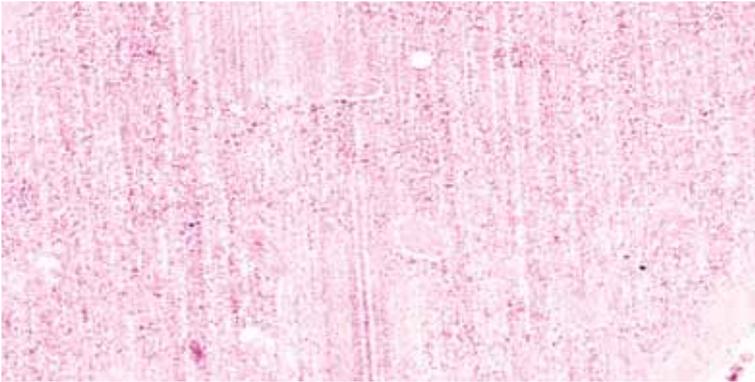
**A. Sezione troppo spessa**

- Impostazione del micrometro errata
- Aria calda sul blocchetto freddo per agevolare il sezionamento
- Prima sezione del nastro selezionata
- Sezionamento a velocità eccessiva
- Processazione non adeguata
- Il microtomo deve essere ricalibrato



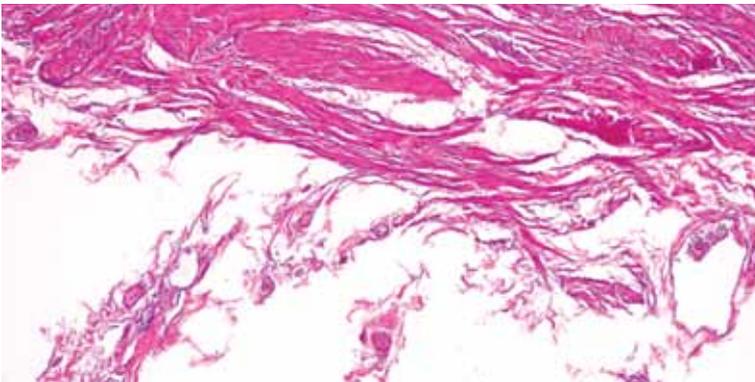
**B. Buchi da sgrossatura**

- Blocchetto sgrossato troppo velocemente
- Superficie del blocchetto non lucidata con il taglio di alcune sezioni sottili dopo la sgrossatura
- Spessore scorretto della sezione durante la sgrossatura
- Blocchetto fragile (processato eccessivamente?) o troppo freddo al momento della sgrossatura



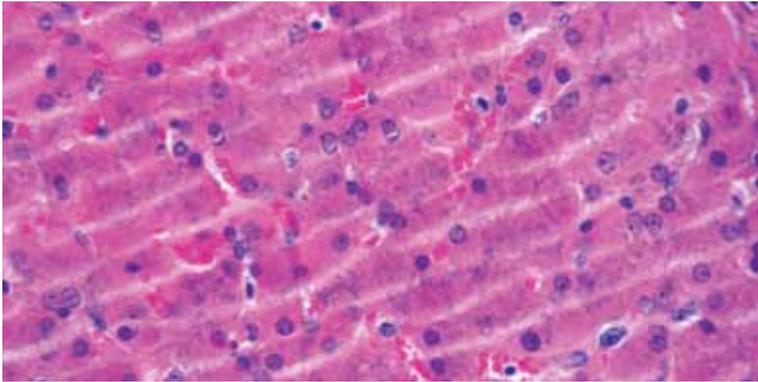
**C. Rigature della lama (striature verticali nella sezione)**

- Lama danneggiata o usata
- Processazione non adeguata
- Materiale duro, come ad es. calcio, nel blocchetto
- Detriti nella paraffina (non filtrata)
- Sali tampone precipitati nei campioni



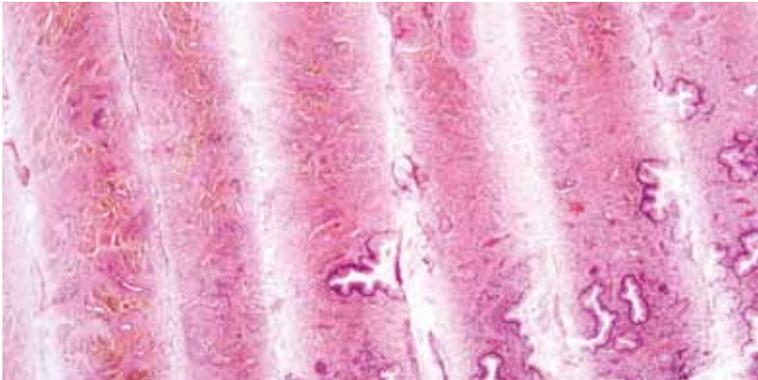
**D. Disgregazione**

- Manipolazione inadeguata del campione durante la sgrossatura
- Processazione insufficiente (disidratazione incompleta, sgombero o infiltrazione)
- Movimenti vigorosi per eliminare le increspature durante il galleggiamento
- Galleggiamento troppo prolungato o acqua troppo calda



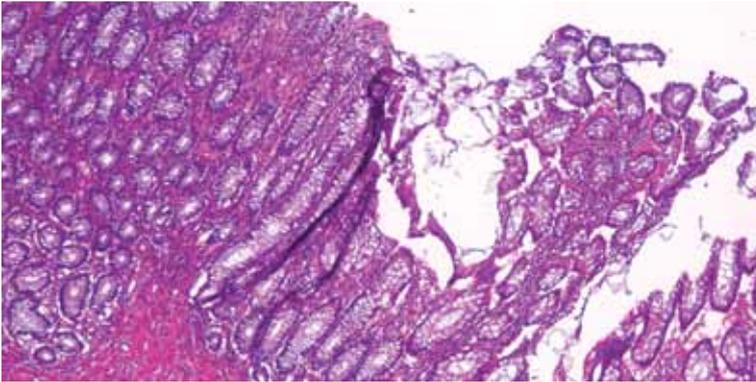
**E. Crepe sottili o microincriespatura**

- Tessuto processato eccessivamente
- Blocchetto troppo freddo
- Taglio troppo rapido
- Meccanismo di blocco non perfettamente fissato
- Angolo di inclinazione della lama da regolare

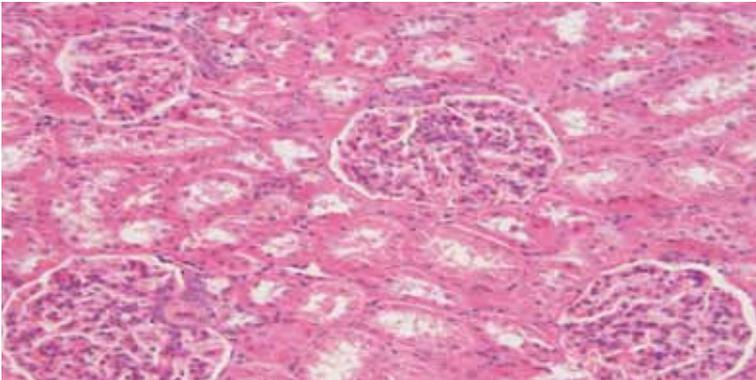


**F. Incriespatura marcata**

- Meccanismo di blocco non perfettamente fissato
- Campione molto duro o molto largo
- Processazione non adeguata
- Angolo di inclinazione della lama insufficiente
- Sezionamento troppo rapido
- Microtomo guasto

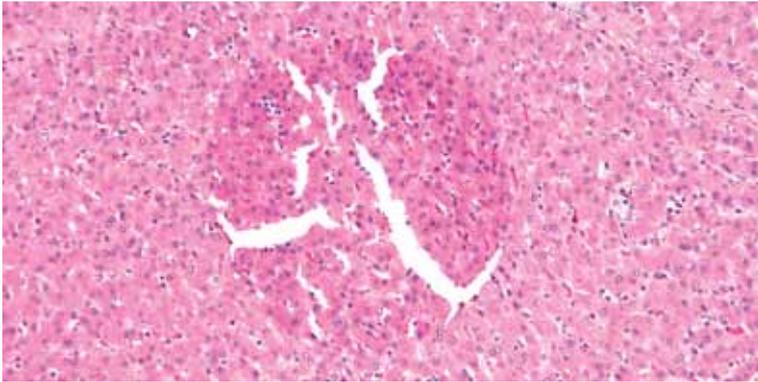


**G. Pieghe**



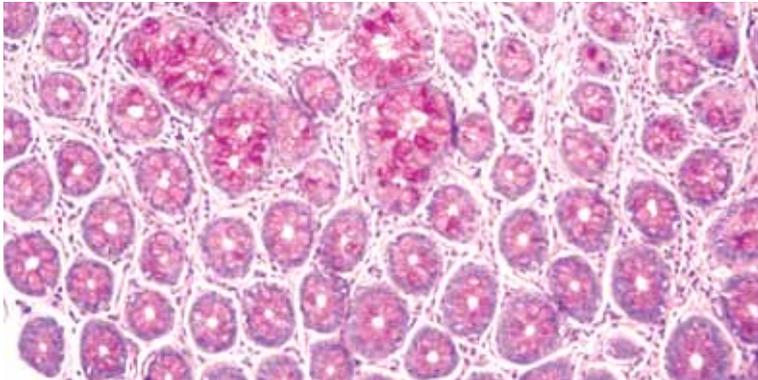
**H. Compressione eccessiva**

- Tecnica di galleggiamento inadeguata
- Fissazione e/o processazione inadeguata (supporto insufficiente)
- Blocchetto caldo
- Sezione troppo sottile
- Angolo di inclinazione della lama troppo ampio
- Bagno d'acqua troppo caldo
- Processazione inadeguata (supporto insufficiente)
- Blocchetto caldo
- Taglio troppo rapido
- Lama non affilata
- Angolo di inclinazione della lama troppo ampio
- Paraffina di qualità inadeguata



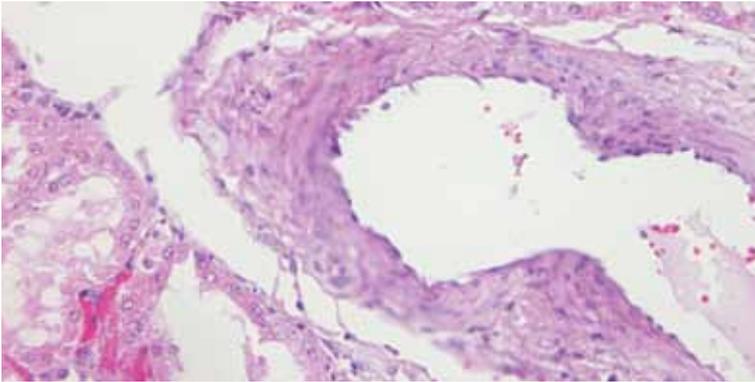
**I. Bolle sotto la sezione**

- Bolle incollate alla base e ai lati del bagno di galleggiamento
- Tecnica di galleggiamento non adeguata che crea bolle sotto la sezione

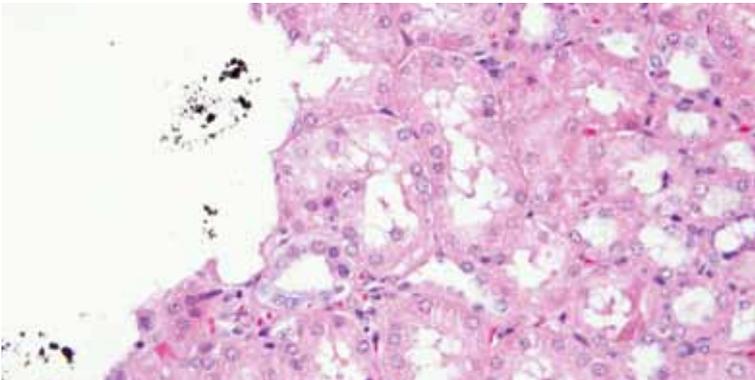


**J. Espansione eccessiva durante il galleggiamento**

- Temperatura del bagno troppo elevata
- Sezione lasciata nell'acqua troppo a lungo
- Fissazione e/o processazione inadeguata (solvente residuo)



**K. Sezione non piatta (scarsa aderenza)**



**L. Presenza di polvere**

- Sezione di qualità inadeguata (increspature, bolle)
- Bagno di galleggiamento troppo freddo
- Utilizzo di un vetrino non rivestito
- Sezione non drenata a sufficienza dopo il galleggiamento
- Tempo di asciugatura insufficiente
- Temperatura di asciugatura troppo bassa
- Vetrino sporco
- Bagno di galleggiamento non schiumato o contaminato
- Vetrini drenati, asciugati o conservati in un ambiente polveroso
- Frammenti di mina di matita da etichettatura

## Bibliografia

1. Leica Microsystems. Instruction Manual Leica RM2235 V1.3 Nussloch: Leica Microsystems, 2008.
2. Rolls GO, Farmer NJ, Hall JB. Artifacts in Histological and Cytological Preparations. Melbourne: Leica Microsystems, 2008;106.
3. Rolls G. 101 Steps to Better Histology. Melbourne: Leica Microsystems, 2008.
4. Culling CFA, Allison RT, Barr WT. Cellular Pathology Technique. 4th ed. London: Butterworths, 1985.
5. Santoianni RA, Hammami A. Nuclear Bubbling an Overlooked Artifact. The Journal of Histotechnology, 1990;13;135-136.



# "Con l'utente, per l'utente"

## Leica Microsystems

### Attivi in tutto il mondo

Australia:	North Ryde	Tel. +61 2 8870 3500	Fax +61 2 9878 1055
Austria:	Vienna	Tel. +43 1 486 80 50 0	Fax +43 1 486 80 50 30
Belgio:	Groot Bijgaarden	Tel. +32 2 790 98 50	Fax +32 2 790 98 68
Canada:	Richmond Hill/Ontario	Tel. +1 905 762 2000	Fax +1 905 762 8937
Danimarca:	Ballerup	Tel. +45 4454 0101	Fax +45 4454 0111
Francia:	Nanterre Cedex	Tel. +33 811 000 664	Fax +33 1 56 05 23 23
Germania:	Wetzlar	Tel. +49 64 41 29 40 00	Fax +49 64 41 29 41 55
Italia:	Milano	Tel. +39 02 574 861	Fax +39 02 574 03392
Giappone:	Tokyo	Tel. +81 3 5421 2800	Fax +81 3 5421 2896
Corea:	Seoul	Tel. +82 2 514 65 43	Fax +82 2 514 65 48
Olanda:	Rijswijk	Tel. +31 70 4132 100	Fax +31 70 4132 109
Repubblica popolare cinese:	Hong Kong	Tel. +852 2564 6699	Fax +852 2564 4163
Portogallo:	Lisbona	Tel. +351 21 388 9112	Fax +351 21 385 4668
Singapore		Tel. +65 6779 7823	Fax +65 6773 0628
Spagna:	Barcellona	Tel. +34 93 494 95 30	Fax +34 93 494 95 32
Svezia:	Kista	Tel. +46 8 625 45 45	Fax +46 8 625 45 10
Svizzera:	Heerbrugg	Tel. +41 71 726 34 34	Fax +41 71 726 34 44
Regno Unito:	Milton Keynes	Tel. +44 1908 246 246	Fax +44 1908 609 992
USA:	Bannockburn/Illinois	Tel. +1 847 405 0123	Fax +1 847 405 0164

e uffici di rappresentanza in oltre 100 paesi