

الفصل السابع

تحضيرات القطاعات الميكروسكوبية (الشمعية والجيلاتينية والسيلولودية)

في الدراسات الروتينية يطمر الحيوان (إن كان صغير الحجم) أو جزء من جسمه في الشمع المنصهر بعد إجراء العمليات اللازمة من تثبيت ونزع ماء عن طريق الكحولات .

بما تفسر / عند إجراء الدراسات التي تهتم بوجه خاص بدهون الانسجة والخلايا فلا يمكن الاعتماد على هذه الطريقة .

لأن النسيج يتعرض أثناء إعداد الكحولات والزيلول وهي بطبع مواد مذيبة لدهون .

بما تفسر / القطاعات الشمعية لا تصلح اذا كانت الدراسات تهتم بإنزيمات الانسجة والخلايا . لأن الطمر في الشمع المنصهر يعرض النسيج لدرجات حرارة عالية نسبيا مما يعرض انزيمات النسيج للتكسر والتلف .

وعلى هذا الاساس فإنه عند دراسة الدهون والانزيمات في الانسجة يلجأ الباحثون الى عمل نوع اخر من القطاعات هي القطاعات الثلجية وعند اعداد هذه القطاعات تطمر العينة في الجيلاتين ثم توضع الكتلة الجيلاتينية على مايكروتوم ثلجي حيث تتجمد الكتلة الجيلاتينية والعينة التي بها بواسطة تيار من غاز ثاني اكسيد الكربون المضغوط ثم تقطع القطاعات .

معاملة العينات بعد التثبيت

بعد تثبيت العينة في المثبتات يجب ازالة الزائد من بعض مكونات المثبت داخل العينة وإلا حصلنا على صباغة غير جيدة للقطاعات او نشاهد رواسب بلورية في النسيج .

يتبع لإزالة المثبت الزائد عدة طرق تبعا للمادة المراد التخلص من الزائد منها . وهيا :

١- ازالة الزائد من الفورمالين، حمض الكروميك ، بيكرومات البوتاسيوم وحمض الاوزوميك

تزال الزيادة من الفورمالين عادة بغسل العينة في الماء الجاري لمدة ١٢ ساعة .اما الزيادة من حمض الكوروميك وبيكرومات البوتاسيوم وحمض الاوزوميك وهي تزال بغسل العينة لمدة ١٢ ساعة في الماء

٢- ازالة الزائد من كلوريد الزئبقيك

يتكون الزيادة من كلوريد الزئبقيك في النسيج بلورات يتسبب وجودها إخفاء التفاصيل التركيبية للنسيج فضلا عن إتلاف هذه البلورات لنصل سكين الميكروتوم أثناء عملية التقطيع ولذا فإنه من الواجب في هذه الحالة غسل العينة لمدة ٨-٥ ساعات في ٧٠٪ كحول مضافا الية كمية من محلول اليوم

٣- ازالة الزائد من حمض البكريك

يزال الزائد من حمض البكريك في العينة بعد تثبيت بوضعها في ٧٠٪ كحول مضافا اليه بضع قطرات من محلول مشبع من كربونات الليثيوم لفترة حتى يزول اللون الاصفر من القطاعات

❖ نزع الماء من العينة

تحتوي معظم المثبتات على الماء ، لذا يلزم نزع الماء من العينة قبل طمرها في الشمع . اما اذا كان المرغوب عمل قطاعات ثلجية ، فلا تجرى عملية نزع الماء وتجرى عملية نزع الماء من العينة بسلسلة متزايدة التركيز من الكحول الإيثيلي (٣٠٪ - ٥٠٪ - ٧٠٪ - ٨٠٪ - ٩٥٪ ، تغييرتان من الكحول المطلق) ويعتمد الوقت اللازم لكل خطوة على الحجم العينة ونوعها .

الترويق

عرف الترويق : خطوة وسيطة بين عملية نزع الماء بالكحول وعملية طمر في الشمع حيث ان الكحول لا يذوب في الشمع ، ولذا لابد من وضع العينة وقتا كافيا في سائل وسيط يذوب في كليهما .

ومن أشهر المواد المستعملة في الترويق الزيول والبنزين والتولوين و زيت الارز والترينيول والديوكسان .

وجميع هذه المواد تجعل العينة مهيأة لطمر في الشمع كما تجعلها شفافة الى حد ما . وتعتمد المدة التي توضع فيها العينة في إحدى هذه المواد على الطبيعة المادة المستخدمة في عملية الترويق ، وكذلك على حجم العينة ونوعها .

وعيب الزيول انه يسبب جفافا للعينات ، ولذا يجيب عدم إطالة وقت تعريض العينات له قدر الإمكان

ويتميز البنزين بأنه لا يسبب جفاف العينة وبأنه يروق العينة في مدة قصيرة فضلا عن كونه رخيص الثمن نسبيا ، **وعيبه** إنه سريع الاشتعال وأبخرته ضارة على المدى الطويل .

وإذا لاحظت اثناء عملية الترويق ان السائل المستخدم اصبح عكرا فهذا يعني وجود ماء في السائل .. وهذه يجيب تجنبه حيث ان المفروض ان العينة قد تم نزع الماء منها في الخطوة السابقة و لأعلاج هذه الحالة عليك ان تعيد خطوة نزع الماء من العينة بوضعها في عدة تغيرات من الكحول المطلق وقتا كافيا ثم إرجاعها مرة اخرى الى كمية جديدة من سائل الترويق .

❖ التشبيع والطمر في الشمع

أولا : التشبيع

بعد ترويق العينة تنقل الى الفرن عند درجة حرارة ٥٦-٦٤ درجة حيث توضع بالتتابع في اربع اوان زجاجية تحتوي الاولى منها على خليط من الشمع وسائل الترويق وتحتوي الاواني الثلاث الباقية على شمع منصهر

يتميز الشمع الى نوعين هما :

الشمع الطرى و الشمع الجامد ، ويعتمد اختيار نوع الشمع المستخدم على نوع العينة وعلى درجة حرارة الجو التي ستقطع فيها العينات بالميكروتوم وكذلك على سمك القطاعات المرغوب الحصول عليها ، **يستخدم الشمع الجامد للعينات الصلبة** اما **الشمع الطرى** يستخدم للأنسجة الرخوة ، اذا كانت العينات ستقطع بالميكروتوم في جو حار رطب يجيب ان تكون مطمورة في شمع جامد والعكس بما تفسر / يجيب ان يراعى الا تزيد درجة حرارة الفرن الموجودة بداخله العينات اكثر من درجتين عن درجة انصهار الشمع بالفرن. حتى لا تؤدي الحرارة العالية الى تلف العينات .

وهناك نوع من الشمع يسمى كاربواكس وهو عبارة عن بولي اثيلين جليكول يذوب في الماء وباستعمال هذا الشمع يمكن نقل العينة من المثبت او الماء الى الشمع مباشرة دون إمرار العينة في خطوات نزع الماء او الترويق .

ثانيا : الطمر

بعد تمام تشبييع العينة تجرى خطوة الطمر حيث يجهز حيز خاص خارج الفرن يصب فيه الشمع المنصهر ثم تنقل العينات بالملقط من وعاء الشمع الموجود بالفرن ، ثم يترك الشمع ليتجمد وبذلك تصبح العينة مطمورة داخل قالب شمعي .

ويراعى بعد صب الشمع ان يتم نقل العينة من الفرن الى القالب بسرعة وبملقط دافئ حتى لا يتجمد الشمع عند طرف الملقط كما يراعى عند وضع العينة في الحيز ان يتم توجيهها في الاتجاه المطلوب قبل تجمد الشمع داخل هذا الحيز .

ولتجميد الشمع في القالب فإنه ينفخ برفق على سطحه حتى تتجمد طبقة رقيقة على السطح ثم يطمر القالب في ماء بارد درجة حرارة ١٥ - ١٦ م ويراعى الا تقل درجة حرارة الماء عن ١٠م حتى لا يتسبب ذلك في انكماش الشمع بشدة مما يؤدي الى تشققات في القالب الشمعي

علل / يطرر القالب برفق في ماء درجة حرارة ١٥-١٦ ويراعى الا تقل درجة حرارة الماء عن ١٠ م . حتى لا يتسبب ذلك فى انكماش الشمع بشدة مما يؤدي الى تشققات فى القالب الشمعي .

ماهي العيوب المحتملة حدوثها اثناء عملية الطمر وكيفية تلافيها :

١- تكون مناطق بيضاء داخل القالب الشمعي (بلورات) (بما تفسر)

ان عملية تبرد الشمع كانت بطيئة او أن الشمع المستخدم لا يزال محتويا على المادة المستخدمة في عملية ترويق العينة

٢- حدوث تشققات في القالب الشمعي . (بما تفسر)

اذا كان سطح التشقق عموديا على سطحين السفلي والعلوي للقالب الشمعي فهذا يعني ان الشمع قد تم تبريده بسرعة .

اما اذا كان سطح التشقق موازيا لسطحين السفلي والعلوي فهذا يعني ان عملية صب الشمع في القالب لم تكون على دفعة واحدة بلا كانت على دفعتين .

٣- السطح العلوي للقالب الشمعي يكون بروزا شمعي (بما تفسر)

هذا العيب نتيجة وضع القالب الشمعي في الماء قبل تكوين طبقة رقيقه متجمدة على سطح الشمع عن طريق النفخ .

٤- حدوث انخفاض على السطح العلوي للقالب الشمعي عند مركزة يصل الى العينة داخل القالب :

يرجع ذلك الى ان الشمع المستخدم في عملية الطمر كان ساخنا جدا لدرجة اكثر من اللازم مما يؤدي الى تقلص الشمع عند تبريده

٥- وجود قطرات من الماء داخل القالب الشمعي

٦- وجود منطقة مملوءة بالهواء عند مركز القالب الشمعي (بما تفسر)

يحدث ذلك عندما يستخدم في تبريد القالب الشمعي ماء أكثر برودة من اللازم مما يتسبب في تجمد الطبقة الخارجية من الشمع .

وقد نلجأ في بعض الاحيان الى طمر العينات في مواد اخرى غير الشمع ومن امثلة ذلك ما يلي :

كيف يتم تقسية القالب الجيلاتين بوضعه في ١٠ ٪ فورمالين

١- التشبييع والطمر في الجيلاتين :

تستعمل هذه الطريقة عندما يراد تجنب تعريض العينات للمواد المذيبة التي تستعمل في عمليتي نزع الماء والترويق او تعريضها للحرارة العالية في الفرن عند التشبييع بالشمع مما يتلف الانزيمات في النسيج كما تستعمل هذه الطريقة مع الانسجة سهله التفتت مثل الخصية ولإعداد العينة فإنها تغسل بعد عملية التثبيت ثم توضع في أنية مناسبة بها محلول ١٠ ٪ جيلاتين ساخن في حالته السائلة لمدة ١٢ ساعة ، وذلك بغرض تشبييع العينة بالجيلاتين وبعد ذلك تنتقل الأنية الى مكان بارد لتجميد الجيلاتين يقطع قالب مناسب الحجم من الجيلاتين المتجمد يحوي العينة وذلك بواسطة موس او مشرط تجري بعد ذلك عملية تقسية لقالب الجيلاتين بوضعه في ١٠ ٪ فورمالين لبضع ساعات قبل عملية التقطيع ويراعى ان عملية التقطيع هنا تكون بالميكروتوم الثلجي حيث يسلط على قالب الجيلاتين تيار من غاز ثاني اكسيد الكربون المضغوط حتى يصبح القالب صلب ليسهل قطعه بسكين الميكروتوم الى قطاعات ذات سمك مناسب

٢- الطمر المزدوج في السيلودين والشمع

تتبع هذه الطريقة للطمر في حالة العينات الصلبة وسهله التفتت اذا ما طمرت في الشمع ، وفي هذه الحالة تغسل العينة بعد تثبيتها كالمعتاد ثم تجرى عملية نزع الماء بسلسلة صاعدة من الكحول تنتهي بوضعها في كحول مطلق لفترة ١٦-٢ ساعة ، ثم تنتقل العينة الى تغييرتين او ثلاثة في محلول السيلودين المذاب في الميثيل بنزويث ، وتترك فيه لمدة ٢٤ ساعة لكل تغييرة تنتقل العينة بعد ذلك الى ثلاث تغييرات من البنزين النقي ٤ ساعات ثم ٨ ساعات ثم ١٢ ساعة ، ثم تنتقل العينة بعد ذلك الى خليط من الشمع المنصهر والبنزين بالتساوي ١:١ لمدة ساعة في الفرن ثم تنتقل العينة الى تغييرتين من الشمع المنصهر كل تغيره ٦ ساعات ونص على حسب نوع وحجم العينة

٣- الطمر في نيترات السليولوز السيللودين ، نيتروسليلولوز منخفض اللزوجة والمعاملات اللاحقة :

نلجأ اليه لتلغب على بعض مشاكل الطمر في الشمع مع بعض العينات

✗ من مميزات الطمر في السيللودين أو النيتروسليلولوز :

- ١) عدم تعرض النسيج للحرارة اثناء الطمر مما يجنب النسيج عمليات الانكماش .
- ٢) يعطي نتيجة افضل عند التقطيع مع الانسجة الكثيفة مثل العظم .
- ٣) يعطي نتيجة أفضل مع القطاعات السمكية لبعض الاعضاء مثل المخ .
- ٤) يعطي نتيجة أحسن مع بعض الاعضاء التي تتكون من طبقات من انسجة ذات صلابة متباينة مثل العين .

✗ ماهي العيوب في طريقة الطمر بالسيللودين والنيتروسليلولوز :

- البطء الشديد الذي تتم به هذه الطريقة ، وهي تستغرق عدة اسابيع
- من الصعب الحصول بها على قطاعات سمكها اقل من ١٠ ميكرونات
- التقطيع لا يكون أشرطة من القطاعات وبذلك أنه من الصعب الحصول على سلسلة كاملة متتابعة من القطاعات .

❖ تشذيب القالب الشمعي وتثبيته على الميكروتوم

عرف التشذيب : ازالة الشمع الزائد عن المطلوب من حول العينة بحيث لا يزيد الشمع حولها عن ٢مم من جميع الجهات ما عدا الجهة التي سيثبت من عندها القالب في الميكروتوم .

تنظيف الشرائح ولصق القطاعات (ما بعد التقطيع)

أ- تنظيف الشرائح

ويجرى غسل الشرائح بالطرق الاتية :

١. توضع الشرائح في محلول من حمض الكروميك ١٠٪ لمدة يوم كامل
٢. تغسل الشرائح في ماء الصنبور الجاري لمدة ٢٤ ساعة على الاقل
٣. توضع الشرائح في محلول من مسحوق صابون لعدة ساعات
٤. تغسل الشرائح في ماء الصنبور مرة ثانية
٥. توضع في كحول محمض ١٪ حمض يد كل في ٧٠٪ كحول لعدة ساعات
٦. تغسل الشرائح في ماء جارى لعدة ساعات
٧. تجفف الشرائح بمنشفة نظيفة خالية من الوبر وتجمع في علب تحفظ بعيدا عن الاتربة

ب- لصق القطاعات

تلتصق القطاعات الشمعية على شرائح زجاجية نظيفة وذلك بنقل القطاع الشمعي من العلبة الكرتونية التي جمعت فيها القطاعات عند التقطيع الى سطح شريحة زجاجية ساخنة عليها قطرة من الماء المقطر وذلك يسمح ببسط القطاع الشمعي والعينة ولصقها على الشريحة بعد ذلك يجفف الماء الزائد وتحفظ الشرائح في فرن درجة حرارته ٣٧ م لمدة ٢٤ ساعة وبعدها يمكن حفظها لأي مدة من الزمن ، وحفظها من الحرارة والأتربة

قد تقتضي بعض الاحوال التي يتعين فيها تعريض القطاعات أثناء الصباغة الى درجات حراره عالية أو مواد كيميائية معينة كالأحماض والقلويات القوية الى استخدام مواد لاصقة للقطاعات بدلا من الماء والا انفصلت القطاعات عن الشرائح الزجاجية أثناء معالجتها بمثل هذه الكيماويات أو تعريضها الى الحرارة العالية ومن اكثر محاليل اللصق شيوعا محلول لصق هوبت ومحلول لصق ماير .

الصباغة

الصباغة بعد تحميل القطاعات الشمعية على الشرائح ، يجب ان تجفف في حضانة عند درجة ٣٧ مئوي لمدة ٢٤ ساعة على الاقل ، ويمكن تخزين القطاعات بعد ذلك لأية فترة دون ان تتلف بشرط حمايتها من الأتربة ودرجات الحرارة المرتفعة .

واذا ما اريد صباغة القطاعات ، يجب أولا ازالة الشمع المحيط والمتخلل للقطاعات وذلك باستخدام الزيلول عادة ، وبعد ذلك تمرر الشرائح في سلسلة هابطة من التركيز من الكحول ١٠٠ % / ٩٥ % / ٨٠ % / ٧٠ % / ٥٠ % ثم الماء المقطر وذلك اذا كان الصبغ ذائبا في الماء

يتم صباغة القطاعات بإحدى الطرق الآتية :

١. الصباغة بصبغ واحد مثل التولويدين بلو
٢. الصباغة بمحلول لصبغ واحد ذو عدة تكوينات صبغية كما في حالة صبغة جمسا
٣. الصباغة بمحلول واحد يحتوي على صبغين كما في صبغ ميثيل جرين بيرونيين
٤. الصباغة بصبغ يتلوه صبغ اخر كما في الهيماتوكسيلين والايوسين
٥. الصباغة بعدة محاليل كما في طريقة ماسون الثلاثية

٦. الصباغة بمحلول يسبقه مرسخ كما في طريقة هايدن هان هيماتوكسيلين لصباغة الحبيبات السبحية

❖ التميز

هو ازالة الصبغ الزائد من القطاع ويستعان في الحكم على درجة الصبغ باستخدام المجهر بعد وضع لوح زجاجي على منصته حماية له من المحاليل المستخدمة في الصباغة .

فمثلا يستخدم كحول محمض لتمييز الهيماتوكسيلين في حالة صباغة الهيماتوكسيلين والايوسين الروتينية ، ويستخدم شب الحديد في حالة صباغة الحبيبات السبحية بطريقة هايدن هان هيماتوكسيلين ، ويستخدم انيلين كحولي في طريقة هيدين هان ازان

نزع الماء – الترويق – التحميل وتغطية العينات

نزع الماء :

تتم عملية نزع الماء من القطاعات بتمرير الشرائح في سلسلة متزايدة التركيز من الكحول (٣٠٪ - ٥٠٪ - ٧٠٪ - ٩٥٪ وتغييرتين من كحول ١٠٠٪)

الترويق :

يتم بسائل قابل للذوبان في كل من الكحول المطلق وصمغ التحميل ، ومن اشهر سوائل الترويق (الزيلول)

❖ مواد تحميل العينات والقطاعات

☒ مواد التحميل الصمغية : ومن اشهرها

١. كندا بلسم

٢. ايوبارال

٣. زام

٤. D.P.X و B.P.S

☒ مواد التحميل المائية : ومن اشهرها

١. جلسرين جيلي (كازير)

٢. مادة تحميل أبائي

٣. جليسرين

٤. مادة تحميل فارانتس

القتل والتثبيت (خطوات القتل والتثبيت)

عملية قتل وتثبيت البروتوبلازم من اهم العمليات ، إن عملية إنها الحياة داخل الخلايا يجب ان تتم بأقل ممكن بالبناء الداخلي للخلايا ، وكذلك أقل تدميرا لنظام الخلايا داخل النسيج بالإضافة إلى قتل البروتوبلازم ، فإن تتابع خطوات عملية القتل يجب ان يعمل على تثبيت العينة والحفاظ على المادة النباتية او الحيوانية متماسكة بدرجة كافية تتحمل معها التداول .

تهدف هذه الخطوات الى : القتل المفاجئ للخلايا وتثبيت محتوياتها على حالة اقرب ما تكون من الحالة الطبيعية ولا يمكن اعتبارا النسيج مقتول ما دامت هناك خليه فيه لا زالت حية

❖ صفات المحاليل المستخدمة في القتل والتثبيت :

١. ان تكون سريعة الانتشار
٢. ان تعمل على تجلط محتويات البروتوبلازم في حالة دقيقه جدا حتى لا يتأثر مظهره بقدر الامكان
٣. ان تكسب البروتوبلازم صلابه مناسبة فيتحمل المعاملات المختلفه
٤. الا تسبب انكماش للبروتوبلازم او تتلف معالمة
٥. الا تؤثر في قابلية الانسجة للصبغات بل يجب ان تساعد عليها

❖ محاليل القتل والتثبيت (مهم)

A. حامض البكريك

- ١- له خاصية الانفجار لذا يجب حفظه في وسط رطب مبلل دائما .
- ٢- يحدث تجلط للسائل النووي .
- ٣- يحفظ الكروموسومات بصورة جيدة .
- ٤- يثبت السيتوبلازم بصورة متجانسة ، ويحدث انكماش سيئا ، ولكنه يترك السيتوبلازم نصف سائل (لين) أي انكماش غير ضار .

٥- متوافق بدرجة عالية مع المثبتات الأخرى .

B. كحول الأيثيل

١- يحدث تجلط في السيتوبلازم ويجعله كالشبكة الخشنة .

٢- يتلف الميتوكوندريا .

٣- يميل لمزج وإتلاف الحبيبات الدهنية في الخلية .

٤- يحدث انكماشاً للنوية .

٥- يجعل الكروموسومات غير محددة .

٦- يحدث انكماشاً واضحاً وتقلصاً كبيراً للخلايا.

٧- يتوافق مع استعمال حامض البكريك وكلوريد الزئبق والفورمالدهيد وحامض الخليك .

٨- يميل لأكسدة حامض الخليك ويجب تجنب خلطه مع ثلاثي أكسيد الكروميوم وثاني كرومات البوتاسيوم ورباعي أكسيد الأوزميوم .

C. كلوريد الزئبق

١- سام جداً وقاتل سريع

٢- يحفظ محتويات السيتوبلازم مثل الميتوكوندريا

٣- يجعل النوية واضحة جداً ويثبت الكروموسومات بصورة ضعيفة

٤- يثبت السيتوبلازم بصورة متجانسة ولكنه يحدث له انكماش سيئ

٥- يحدث تشوهات في الخلية بدرجة أقل مما تحدثه المثبتات الأخرى

٦- يحدث اسوداد للنسيج يجب إزالته بفعل اليود في المحلول الكحولي

٧- يجعل الأنسجة أكثر قابلية للصبغ عما تفعله المثبتات الأخرى .

❖ الميكروتومات

الميكروتوم	الوظيفة
الميكروتوم الدوار	• يستعمل للعينات المطمورة في شمع البارافين
بكروتوم المنزلق	• يستعمل للعينات الحية الصلبة المقتولة وغير المقتولة او المطمورة في شمع او السللويدن
بكروتوم الثلجي	• يستعمل في حالة العينات الحية المقتولة وغير المقتولة وخاصة الرهيف(خفيف) منها التي يصعب قطعها باليد او يخشى تلفها اذا تم تحضيرها بطريقة الشمع
كروتوم الكريوستات	• يستخدم لعمل قطاعات سريعة رقيقة مفككة لاستخدامها في دراسة كيمياء الانسجة ، حيث تقطع العينات بعد تجميدها دون تعريضها لدرجات حرارة عالية او مذيبات الدهون .
بكروتوم الفائق	• يستخدم لعمل قطاعات رقيقة جدا اقل من نصف ميكرون تناسب الفحص بالمجهر الالكتروني

أولا : الميكروتوم الدوار لقطاعات شمع البارافين

ويتم التحكم في السمك عادة مقدرا بالميكرون بداية من ١ ميكرون ، يجيب حفظ الميكروتوم نظيفا دائما ، ويراعى تزييته بانتظام ويتسبب أي تآكل في الاجزاء في خلل في حركته وينتج عنه قطاعات تالفة ، سكينه الميكروتوم ذات نصل حاد

ويصمم الميكروتوم الدوار بطريقة تسمح مع كل لفه ان يندفع القالب الشمعي تجاه حافة السكين ، بمسافة عدة ميكرونات حسب ما تحدده بواسطة ضابط الميكرونات (ضابط السمك) فإن السكين مع لف عجلة الميكروتوم تقطع قطاعات شمعية بالسمك المطلوب ، من الوجه الامامي للقالب الشمعي .

ثانيا : الميكروتوم المنزلق لقطاعات السللويدين

يستعمل في الطمر في السللويدين في حالة النماذج الكبيرة او شديدة الصلابة .
الميكروتوم المستخدم في قطاعات السللويدين عادة ما يكون كبير الحجم وله قاعدة ثقيلة
الميكروتوم المنزلق : هو الجهاز الذي يشيع استخدامه في إعداد قطاعات السللويدين
حيث يكون القالب ثابتا بينما يتحرك النصل الثقيل بزوايه خلال سطح القالب

ثالثا : ميكروتومات القطاعات المثلجة (المبردة)

أ- الميكروتوم الثلجي الاكلينيكي

مايكروتوم بسيط يمكن تثبته على مائدة مزوده بجهاز تبريد بغاز ثاني اكسيد الكربون
وهو اساسا ميكروتوم منزلق وفيه يتحرك النصل بشكل حلقة او قوس عبر النسيج
المبرد الموجود على مائدة التبريد الثابتة ، ويتم تشغيله اوتوماتيكيا او يدويا

ب- مايكروتوم الكريوستات

يستخدم لعمل قطاعات سريعة رقيقه ومفككة لاستخدامها في دراسات كيمياء الانسجة
ولفحص الانسجة المستأصلة أثناء العمليات الجراحية ، وهو اساسا ميكروتوم دوار
موضوع داخل حجرة مبردة ، حيث يمكن ضبط درجات الحرارة المثلى لعدد كبير من
الانسجة ، وتعتمد القطاعات الجيدة على مدى حدة السكينة وسرعة تجمد الانسجة على
درجة الحرارة المثلى .

رابعا : الميكروتوم الفائق لقطاعات المجهر الالكتروني