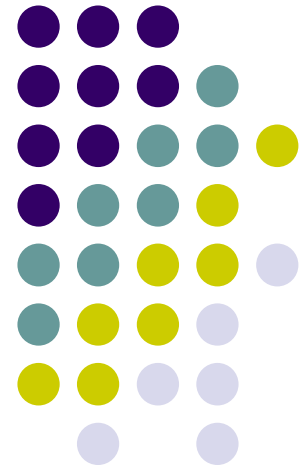


INCLUSÃO

Prof. Carina Ladeira

Dezembro de 2007



INCLUSÃO



- É a etapa que se segue ao processamento
- Consiste em incluir o fragmento impregnado num bloco
- O bloco é constituído por meio de inclusão
- O meio de inclusão deve ser o mesmo da impregnação

INCLUSÃO

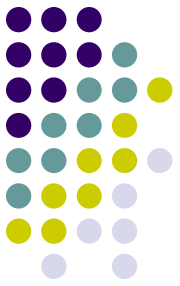


Finalidades de formar 1 bloco:

- Dá suporte externo ao fragmento
- Mais fácil de manipular
- Pode prender-se ao porta-blocos do micrótomo
- É possível inscrever o n.º de identificação
- Permite o arquivo

INCLUSÃO

Meios de inclusão

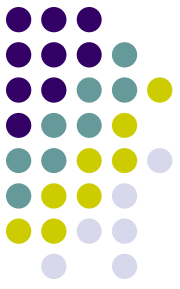


Os meios de inclusão podem ser divididos, na generalidade, em 2 grupos:

- Solúveis em solventes
- Fundidos

Meios de inclusão

Solúveis em solventes



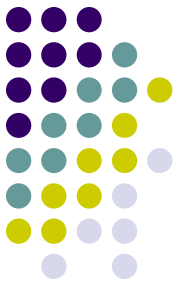
- Forma de inclusão que não exige calor
- Impregnação dos tecidos com soluções crescentes de meio de inclusão
- Quando a concentração máxima é atingida o tecido é colocado num molde e deixa-se endurecer o bloco
- O bloco endurece pela evaporação do solvente ou pela polimerização
- Exemplo: celoidina

Meios de inclusão Fundidos

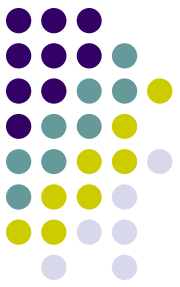


- Necessita de calor
- É o meio mais utilizado
- Principal meio de inclusão fundido utilizado é a parafina
- De forma a assegurar a qualidade da inclusão, a penetração do meio deve ser feita em meio líquido e de forma progressiva

MATERIAL E EQUIPAMENTOS UTILIZADOS NA INCLUSÃO



- Para a realização de uma boa inclusão é necessário que esteja disponível todo o material fundamental para a execução desta etapa, tal como:
 - Moldes de inclusão
 - Pinças



Material e Equipamentos Utilizados na Inclusão - Moldes

- **Objectivo:** dar forma e suporte ao meio de inclusão

Podem existir os seguintes moldes:

- Moldes de papel e de alumínio
- Unidades multibloco
- Placas de Leuckart
- Moldes de inóx

Material e Equipamentos Utilizados na Inclusão - Moldes



- **Moldes papel e de alumínio:** feitos manualmente dobrando folhas de papel ou de alumínio
- **Unidades multibloco:** permitem incluir vários fragmentos simultaneamente, placas interligadas formando vários compartimentos separados

Material E Equipamentos Utilizados na Inclusão - Moldes



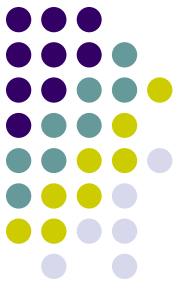
- **Placas de Leuckart:** constituídas por 2 peças em forma de L e uma base metálica. As placas são movidas de forma a oberem-se blocos de diversos tamanhos
- **Moldes de inóx:** são os mais utilizados, são reutilizáveis, funcionais e com grande versatilidade de tamanhos

Material e Equipamentos Utilizados na Inclusão - Pinças

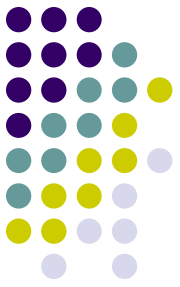


- **Objectivo:** para manusear e permitir a orientação do fragmento
- Devem ser passadas pelo calor, ou pela utilização da lamparina ou aquecendo no aparelho de inclusão, para retirar restos de parafina e de fragmentos
- Não devem ter dentes, para não macerar os fragmentos

Material e Equipamentos Utilizados na Inclusão – Aparelho de Inclusão



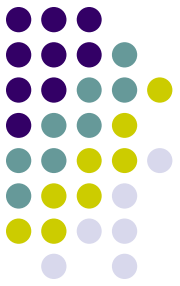
Material e Equipamentos Utilizados na Inclusão – Aparelho de Inclusão



O aparelho de inclusão é constituído por:

- Depósito de parafina
- Depósito de parafina para cassetes
- Depósito de moldes
- Placa quente
- Pequena superfície fria
- Placa fria
- Pontos de aquecimento para pinças

Material e Equipamentos Utilizados na Inclusão – Aparelho de Inclusão



Depósito de parafina

- Local onde se coloca a parafina que irá servir como suporte externo ao fragmento impregnado
- Deve estar quente o suficiente para estar líquida (60°C)

Material e Equipamentos Utilizados na Inclusão – Aparelho de Inclusão



Depósito de parafina para cassetes

- Pode estar com parafina de forma a amolecer os fragmentos
- Pode estar quente (60°C) de forma a parafina existente nos fragmentos não arrefeça e solidifique

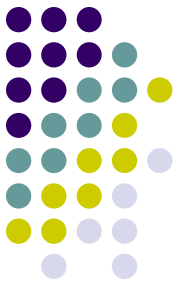
Material e Equipamentos Utilizados na Inclusão – Aparelho de Inclusão



Depósito de moldes

- A condição indispensável neste local é que a temperatura esteja a 60°C, de forma que não existam restos de parafina sólida nos moldes

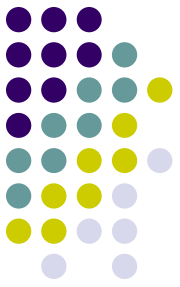
Material e Equipamentos Utilizados na Inclusão – Aparelho de Inclusão



Placa quente

- Mantém a temperatura da parafina e do molde
- Permite trabalhar com comodidade e orientar correctamente o fragmento

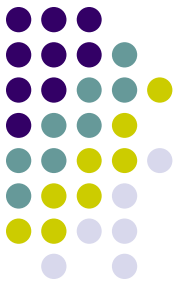
Material e Equipamentos Utilizados na Inclusão – Aparelho de Inclusão



Pequena superfície fria

- Depois da peça estar orientada, para ser fixada no molde, transporta-se o molde para a placa fria que vai arrefecer a parafina e permitir a fixação do fragmento ao molde

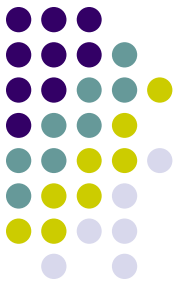
Material e Equipamentos Utilizados na Inclusão – Aparelho de Inclusão



Placa fria

- Temperatura de 0°C
- Solidifica a parafina para posteriormente ser retirado do molde

Material e Equipamentos Utilizados na Inclusão – Aparelho de Inclusão



Pontos de aquecimento para pinças

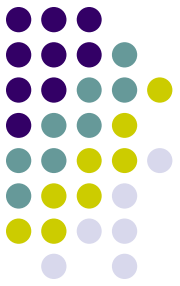
- Estes pontos existentes no aparelho de inclusão permitem manter as pinças quentes, logo, sem resíduos de parafina

TÉCNICA DE INCLUSÃO (1)



- Abrir a cassete e visualizar o seu conteúdo
- Seleccionar o molde de acordo com o tamanho do fragmento
- Encher o molde até ao topo
- Colocar o fragmento dentro do molde de acordo com as suas características e com a estrutura tecidual a observar (orientação do fragmento)

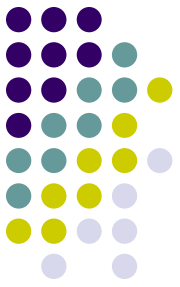
TÉCNICA DE INCLUSÃO (2)



- A parafina não deve apresentar indícios de agente clarificador
- A inclusão deve ser efectuada no tempo menor possível de forma a não existirem diferentes tempos de solidificação
- Centrar o mais possível o fragmento

TÉCNICA DE INCLUSÃO

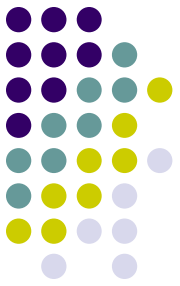
Orientação do fragmento (1)



- Os fragmentos devem ser incluídos horizontalmente de forma a ser possível a obtenção de um corte completo do fragmento
- O tecido deve ser orientado de forma a que ofereça uma resistência crescente ao longo do corte, assim previne-se a compressão de zonas mais moles por zonas mais duras

TÉCNICA DE INCLUSÃO

Orientação do fragmento (2)



Estruturas tubulares

- Veia, artéria, trompa, apêndice têm de ser incluídos de modo a que a faca faça um corte transversal ao seu lúmen

TÉCNICA DE INCLUSÃO

Orientação do fragmento (3)



Estruturas epiteliais

- Todos os fragmentos com superfície epitelial (pele, vesícula, intestino, etc.) têm que ser incluídos de forma que a faca faça um corte transversal a todas as suas camadas
- Quando incluídos vários fragmentos no mesmo bloco, todos devem ter a superfície epitelial voltada para o mesmo lado

TÉCNICA DE INCLUSÃO

Orientação do fragmento (4)



Fragmentos grandes e densos

- Fragmentos resistentes à faca, quer pela sua dureza quer pelas suas dimensões, devem ser incluídos com um ligeiro ângulo em relação à faca
- Assim diminui-se a vibração da faca e do bloco

TÉCNICA DE INCLUSÃO

Orientação do fragmento (5)



Vários fragmentos no mesmo bloco

- Devem ser colocados lado a lado com espaço entre eles
- Se forem colocados uns por cima dos outros podem comprometer a sua visualização ao M.O.C.

TÉCNICA DE INCLUSÃO



Tipos de inclusão

- Chapa
- Parede
- Topo

INCIDENTES E CONTRATEMPOS DA INCLUSÃO



Defeitos	Causas prováveis	Soluções
Fragmento tende a desincluir	O fragmento foi mal desidratado	Voltar à desidratação e diafanização
Blocos friáveis, granulados e com pequenas manchas brancas	A parafina é de má qualidade Parafina usada Mistura não homogênea de várias parafinas	Voltar a incluir em outra parafina
Blocos encurvam-se e fragmentos mirram passadas semanas	Má fixação Agentes desidratantes e diafanizantes contaminados	Fragmento perdido, voltar à amostra primitiva se possível Voltar atrás com o processamento

ERROS DA INCLUSÃO (1)



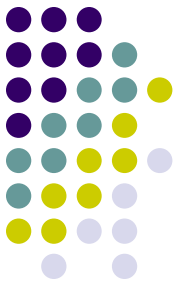
Erro	Solução
Má orientação dos fragmentos (não permite visualizar ao MOC todas as suas camadas)	Fundir o bloco e re-incluir o(s) fragmento(s)
Colocar o fragmento no molde antes deste conter a parafina (a adesão do fragmento ao fundo do molde pode fazer o tecido separa-se da parafina)	Avaliar no momento do corte, fazendo um maior desbaste Re-inclusão do(s) fragmento(s)
Ao MOC o tecido apresenta focos de destruição causados pelo calor	Não utilizar pinças muito quentes
Arrefecimento lento (cristalização irregular – mau corte)	Re-inclusão

ERROS DA INCLUSÃO (2)



Erro	Solução
<p>Arrefecimento rápido (a parafina entre o fragmento e o molde retrai e o bloco fica com superfície côncava)</p>	<p>Solucionar se possível um maior desbaste Re-incluir novamente</p>
<p>Espera longa entre a colocação da parafina e do fragmento (formação de uma camada de parafina dura que vai dificultar a orientação do fragmento e o corte)</p>	<p>Diminuir ao máximo o compasso de espera Orientar o bloco para obter um bom corte Re-incluir</p>
<p>Inclusão defeituosa ou incompleta (cortes dilacerados ou seccionados)</p>	<p>Pressionar os fragmentos de forma firme e suave de modo a que estes fiquem completos no corte Orientar o bloco Re-incluir</p>

RESUMO DA INCLUSÃO



- Inclusão: conceito geral
- Meios de inclusão
- Material e Equipamento
- Técnica de inclusão
- Inconvenientes e contratempos da inclusão
- Erros da inclusão