

بررسی فراوانی انواع آرتیفکتهای موجود در اسلایدهای هیستوپاتولوژیک فک و دهان

دکتر صفورا سیفی^۱ محمد مهدی زاده^۲ علی بیژنی^۳ عادل علی پور^۴ شیما نفرزاده^۱

۱- استادیار گروه آموزشی آسیب شناسی دهان، فک و صورت، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بابل

۲- استادیار گروه آموزشی جراحی دهان، فک و صورت، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بابل

۳- پزشک عمومی

۴- دندانپزشک

خلاصه:

سابقه و هدف: آرتیفکت‌ها ساختارهای مصنوعی در اسلایدهای میکروسکوپی بوده و ممکن است منجر به تشخیص ناصحیح ضایعه پاتولوژیک و درمان اشتباه گردد. لذا هدف مطالعه حاضر بررسی فراوانی انواع آرتیفکت‌ها در اسلایدهای هیستوپاتولوژی می باشد. **مواد و روش‌ها:** در این مطالعه توصیفی ۱۵۴ اسلاید از آرشیو بخش پاتولوژی دهان دانشکده دندانپزشکی بابل طی سال‌های ۹۱-۱۳۸۸ بطور تصادفی خارج شده و اطلاعات پالینی آن‌ها از پرونده‌ها استخراج گردید. اسلایدها از نظر وجود یا عدم وجود آرتیفکت توسط پاتولوژیست دهان بررسی شدند. آرتیفکت‌ها با استفاده از کتب مرجع به انواع ناشی از عملکرد جراح، تکنیسین و نحوه انتقال نمونه به آزمایشگاه تقسیم شدند. فراوانی میزان آرتیفکت و اشکال آن به صورت درصد ذکر شد و جهت بررسی عوامل مرتبط از آزمون کای دو استفاده شد.

یافته‌ها: از ۱۵۴ اسلاید مورد بررسی یک مورد (۰/۶٪) فاقد آرتیفکت بود. به ترتیب ۹۱/۶ و ۹۹/۴، ۰/۰۶ درصد اسلایدها، آرتیفکت ناشی از عملکرد جراح، تکنیسین و نحوه انتقال نمونه داشتند. بیشترین و کمترین آرتیفکت مربوط به عملکرد تکنیسین، رسوب فرمالین و آلودگی بود. بیشترین و کمترین آرتیفکت به ترتیب ناشی از عملکرد جراح، شکاف و حرارت بود. **نتیجه گیری:** با توجه به میزان فراوانی آرتیفکت در اسلایدهای میکروسکوپی، جهت کاهش آن و تشخیص صحیح پاتولوژی، عملکرد مناسب و همکاری جراح، پاتولوژیست و تکنیسین آزمایشگاه ضروری به نظر می‌رسد.

کلید واژه‌ها: بیوپسی، حفره دهان، آرتیفکت

وصول مقاله: ۹۲/۲/۲۰ اصلاح نهایی: ۹۲/۷/۱۳ پذیرش مقاله: ۹۲/۷/۱۵

مقدمه:

بیوپسی عبارت است از خارج کردن قسمتی از بافت موجود زنده که به منظور بررسی میکروسکوپی و تشخیصی انجام می‌شود. این روش کمترین تردید را داشته و بهترین روش تشخیصی است.^(۱) روش‌های برداشتن بیوپسی در ضایعات دهانی شامل بیوپسی اکسیژنال، اینسیژنال، اسپیراسیون، سیتولوژی و بیوپسی پانچ بوده که استفاده از هر کدام بستگی به اندازه، نوع و محل ضایعه دارد.^(۲) به نظر می‌رسد به دلیل کوچک بودن اکثر ضایعات دهانی و از دست دادن سریع آب بافت‌ها، احتمال ایجاد تغییرات مصنوعی در این نمونه‌ها بیشتر بوده و پاتولوژیست‌های دهان با چالش بیشتری جهت تشخیص مواجه شوند.^(۳) Seoane و همکاران در مطالعه‌ای مقایسه‌ای

آرتیفکت عبارت است از ساختارهای مصنوعی و یا جایگزین بافت در اسلایدهای میکروسکوپی که در اثر عوامل خارجی ناشی از عملکرد جراح یا تکنیسین و یا حتی روش آماده سازی و رنگ آمیزی بافت و یا در حین انتقال نمونه به آزمایشگاه ایجاد شود و هنگام بررسی هیستولوژیکی مقاطع بافتی دیده شود که در زمان حیات بافت و قبل از انجام بیوپسی وجود نداشته است. آرتیفکت‌ها باعث جایگزینی مورفولوژی طبیعی و تغییر ویژگی‌های سیتولوژی بافت شده و حتی ممکن است منتهی به عدم کاربرد تشخیصی و یا تشخیص ناصحیح بافت توسط پاتولوژیست گردند.^(۱)

نویسنده مسئول مکاتبات: دکتر صفورا سیفی، استادیار گروه آموزشی آسیب شناسی دهان، فک و صورت، مازندران، بابل، گروه آسیب شناسی دهان و فک و صورت، تلفن: ۰۱۱۱-۲۲۹۱۴۰۸ فاکس: ۰۱۱۱-۲۲۹۱۰۹۳ پست الکترونیک: sf_seify@yahoo.com

آرتیفکت های ناشی از عملکرد تکنیسین شامل رسوب فرمالین، پیچ خوردگی (Cruling)، چین خوردگی (Folding)، حباب، عدم رنگ پذیری بافت، برش ضخیم، آلودگی، Crush و Starch بودند.^(۶)

آرتیفکت ناشی از نحوه انتقال نمونه به آزمایشگاه شامل لیز نمونه به دلیل عدم قرار گرفتن آن در فرمالین ۱۰ درصد بود.^(۳) لازم به ذکر است در صورت وجود آرتیفکت حباب در اسلایدهای پاتولوژی، جهت بررسی سایر آرتیفکت ها اسلایدها حباب گیری شدند و در صورت عدم کامل بودن پرونده ها نمونه ها از مطالعه حذف شدند.

فراوانی انواع آرتیفکت در اسلایدهای پاتولوژی به صورت درصد اعلام و ارتباط فراوانی و نوع آرتیفکت با عوامل مرتبط با استفاده از آزمون های کای دومحاسبه شد.

یافته ها:

در این مطالعه ۱۵۴ اسلاید هیستوپاتولوژی موجود در آرشیو بخش آسیب شناسی دهان، فک و صورت در طی سال های ۹۱-۱۳۸۸ بررسی شد. در بررسی آرتیفکت اسلایدهای پاتولوژی، از ۱۵۴ اسلاید، ۱۵۳ اسلاید دارای آرتیفکت بوده و در یک اسلاید (۰/۶٪) هیچ آرتیفکتی مشاهده نشد.

در ۹۱/۶ درصد اسلایدها (۱۴۱ اسلاید) آرتیفکت از نظر عملکرد جراح وجود داشته و در ۹۹/۴ درصد (۱۵۱ اسلاید) آرتیفکت از نظر عملکرد تکنیسین دیده شد اما اختلاف آماری معناداری ناشی از عملکرد جراح و تکنیسین آزمایشگاه وجود نداشت ($P=0/84$). انواع آرتیفکت مربوط به عملکرد تکنیسین، آزمایشگاه، به ترتیب فراوانی رسوب فرمالین با (۵۹ درصد)، Crush با (۴۳/۳ درصد) و عدم رنگ پذیری با (۶/۴ درصد) و آلودگی با (۳/۸۹ درصد) بود. انواع آرتیفکت مربوط به عملکرد جراح به ترتیب فراوانی شکاف با (۶۲ درصد)، خونریزی با (۴۱/۳۴ درصد) و انکوسایتوئید با (۱/۹ درصد) و حرارت با (۱/۳ درصد) بود. (شکل ۱ و ۲)

آرتیفکت ناشی از عملکرد جراح دهان و فک و صورت را با دندانپزشک عمومی بررسی کردند. ایشان گزارش نمودند که آرتیفکت Crush و خونریزی در نمونه های بیوپسی شده توسط دندانپزشکان عمومی بالاتر است.^(۴) در مطالعه دیگری بیان شد که روش تهیه بیوپسی بر فراوانی و نوع آرتیفکت ایجاد شده در نمونه مؤثر است.^(۵) از آن جایی که تا به امروز مطالعاتی به طور جامع و کامل آرتیفکت های ایجاد شده در بیوپسی های دهان را مورد بررسی قرار نداده و با وجود اهمیت این مسئله متأسفانه کمتر مورد توجه قرار گرفته و شناخت هیستوپاتولوژی این آرتیفکت ها جهت شناسایی آن ها و کاهش خطاهای تشخیصی ضروری به نظر می رسد و جهت بسیاری از دستیاران آسیب شناسی دهان و فک و صورت جنبه آموزشی دارد لذا هدف از مطالعه حاضر بررسی آرتیفکت های موجود در اسلایدهای هیستوپاتولوژی موجود در آرشیو آسیب شناسی دانشکده دندانپزشکی بابل مربوط به سال های ۹۱-۱۳۸۸ می باشد.

مواد و روش ها:

مطالعه به صورت توصیفی انجام شد و نمونه های مورد بررسی اسلایدهای هیستوپاتولوژی بودند که به صورت تصادفی از آرشیو سالهای ۱۳۸۸ تا ۹۱ خارج شدند. سپس پرونده بیماران مربوط از آرشیو خارج شده و اسلایدهای پاتولوژی توسط پاتولوژیست دهان، فک و صورت از نظر وجود و یا عدم وجود آرتیفکت و نوع آن بررسی شدند. آرتیفکت های موجود در اسلایدها به انواع ناشی از عملکرد جراح (ناشی از روش کار جراح، از تزریق بیوپسی تا نمونه برداری)، عملکرد تکنیسین (روش آماده سازی یا رنگ آمیزی بافت)، نحوه انتقال نمونه به آزمایشگاه (محلولی که نمونه درون آن قرار می گیرد) تقسیم شدند.^(۱۶)

آرتیفکت های ناشی از عملکرد جراح شامل: خونریزی، نمونه برداری با عمق ناکافی، پارگی، ساکشن، شکاف، انکوسایتوئید و حرارت بود.^(۳)

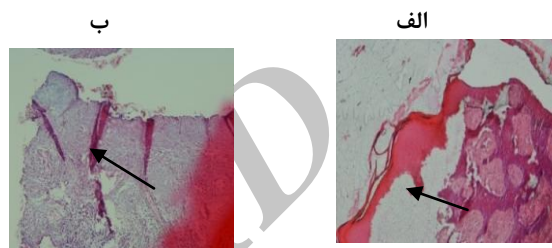
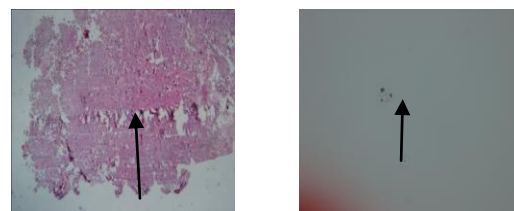
جدول ۱- فراوانی و تنوع آرتیفکت های یافت شده در اسلایدهای پاتولوژی

طبقه بندی آرتیفکت	آرتیفکت	دارد (تعداد/درصد)
ناشی از عملکرد جراح	شکاف	۹۶ (۶۲/۷٪)
	خونریزی	۵۳ (۳۴/۶٪)
	پارگی	۳۵ (۲۲/۸٪)
	ساکشن	۲۲ (۱۴/۳٪)
	عمق ناکافی نمونه برداری	۱۳ (۸٪)
	انکوسایتوئید	۳ (۱/۹٪)
	حرارت	۲ (۱/۳٪)
	رسوب فرمالین	۹۱ (۵۹/۴٪)
	Crush	۸۶ (۵۶/۲٪)
	Folding	۷۷ (۵۰/۳٪)
ناشی از عملکرد تکنیسین	حباب	۶۳ (۴۱/۱٪)
	Starch	۵۷ (۳۷/۲٪)
	برش ضخیم	۲۹ (۱۸/۹٪)
	Cruling	۱۹ (۱۲/۴٪)
	عدم رنگ پذیری	۱۰ (۶٪)
	آلودگی	۶ (۳٪)
نحوه انتقال نمونه به آزمایشگاه	اتولیز	۱ (۰/۰۶٪)

بحث:

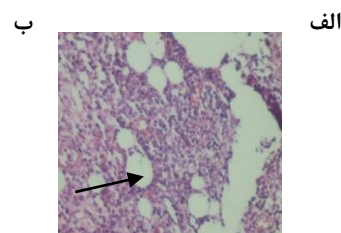
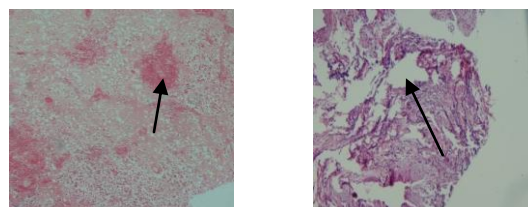
از نتایج مطالعه حاضر در بررسی ۱۵۴ اسلاید پاتولوژی تنها یک اسلاید یا ۰/۰۶ درصد فاقد آرتیفکت بوده است که بیانگر درصد بالای آرتیفکت در اسلایدهای پاتولوژی مورد بررسی است. اکثر مطالعات انجام شده بر روی بیوپسی های دهان و فک و صورت کوچک بودن نمونه را از عوامل اصلی در ایجاد انواع آرتیفکت می دانند.^(۷-۸) بنابراین بررسی فراوانی و شناسایی انواع آرتیفکت در ضایعات دهانی منجر به کاهش خطاهای تشخیصی در تفسیر هیستولوژیک ضایعه و نهایتاً تشخیص صحیح می گردد. این گونه به نظر می رسد که عوامل متعددی شامل عملکرد جراح، تکنیسین آزمایشگاه و نحوه انتقال نمونه به آزمایشگاه می تواند در ایجاد و نوع آرتیفکت مؤثر باشد. قرار دادن نمونه بیوپسی شده بلافاصله در محلول فرمالین ۱۰ درصد به دلیل تثبیت پروتئین های بافتی موجود، از اتولیز نمونه جلوگیری می

در مجموع بیشترین نوع آرتیفکت صرف نظر از طبقه بندی انواع آرتیفکت در اسلاید های پاتولوژی، شکاف و کمترین آن اتولیز بود. (جدول ۱)



تصویر ۱- آرتیفکت ناشی از عملکرد تکنیسین -

- الف - پودر دستکش لاتکس (starch) رنگ آمیزی هماتوکسیلین -
 ائوزین (×۴۰) ب- تیغ کند میکروتوم رنگ آمیزی هماتوکسیلین -
 ائوزین (×۴۰) ج- حباب رنگ آمیزی هماتوکسیلین - ائوزین (×۴۰)
 د- Folding رنگ آمیزی هماتوکسیلین - ائوزین (×۴۰)



ج

- شکل ۲- الف- آرتیفکت ناشی از عملکرد جراح - شکاف و پاره شدن - رنگ آمیزی هماتوکسیلین - ائوزین (×۴۰) ب- خونریزی رنگ آمیزی هماتوکسیلین - ائوزین (×۴۰) ج- ساکشن رنگ آمیزی هماتوکسیلین - ائوزین (×۴۰)

گردد. آثار ناشی از فشار و کشش مکانیکی در بافت های بیوپسی شده معمولاً هم در اپی تلیوم و مخاط نسج همبندی و ناحیه اتصال اپی تلیوم - همبندی ایجاد می شود. (۸) آرتیفکت ناشی از فشار مکانیکی منجر به تغییر جهت قرار گرفتن سلول ها و رشته های همبندی و هم جهت قرار گرفتن آن ها در راستای عمودی فشار می گردد. همچنین فشار ناشی از هموستات منجر به کشیده و دوکی شکل شدن سلول های اپی تلیالی، کاهش ضخامت اپی تلیوم و آتروفیک شدن آن و ایجاد نمای هیالینیزه در رشته های همبندی شده که با بافت اسکار قابل اشتباه است. (۹)

دومین آرتیفکت شایع بدلیل عملکرد جراح، خونریزی بود که ناشی از تزریق محلول بی حسی درون نمونه بوده و ساختار میکروسکوپی بافت را با مشکل مواجه می سازد. تزریق درون بافت پر عروق، احتمال خونریزی را افزایش داده همچنین اثر داروی بی حسی موضعی درون بافت به صورت شکاف ها یا واکوئول هایی در نسج همبندی دیده می شود. در بررسی *Seoane* نیز بیشترین آرتیفکت مربوط به خونریزی بود (۵) که مشابه مطالعه ما می باشد.

بر طبق نتایج مطابق مطالعه حاضر کمترین آرتیفکت ناشی از عملکرد جراح حرارت و انکوسایتوئید بود.

کاربرد الکتروسرجری و استفاده از الکتروم به دلیل حرارت تولید شده به ویژه در ناحیه مارژین جراحی منجر به ایجاد هیالینیزاسیون در نسج همبندی، تخریب واکوئلی و طولیل شدن هسته می گردد. اگرچه، درصد این نوع آرتیفکت در نمونه های بیوپسی مورد مطالعه ما پایین بود که نشانه عدم کاربرد این روش در نمونه گیری و یا بیانگر مهارت بالای جراح در نمونه گیری با این روش است.

در این مطالعه از ناشایع ترین آرتیفکت های ناشی از عملکرد جراح علاوه بر حرارت و انکوسایتوئید، عمق ناکافی بود *Poh* و همکاران مطرح کردند که عمق بیوپسی مخاط دهان حداقل باید ۲ میلی متر باشد و در ضایعات سرطانی و پیش سرطانی افزایش عمق بیوپسی در حد ۴-۵ میلی متر توصیه می گردد. (۱۴) در مطالعه مذکور نیز تنها ۱۳ اسلاید

کند در صورتیکه نمونه در محلول هایی غیر از فرمالین ۱۰ درصد مانند آب، سرم، نرمال سالین قرار گیرد لیز ساختارهای مذکور رخ داده و دارای اثر سوء در ساختمان هیستومورفولوژی بافت شده و تشخیص قطعی را با مشکل مواجه می کند. (۹-۱۲)

خوشبختانه در مطالعه مذکور درصد پایین این نوع آرتیفکت بیانگر آگاهی نمونه گیرنده به این مورد می باشد البته علاوه بر لیز اپی تلیوم ممکن است کاهش محتوی سلولی در نسج همبندی رخ داده که به دلیل لیز سلول های نسج همبندی است. (۱۲)

برخی از مطالعات معتقدند که قرار گرفتن نمونه در محلول غیرفرمالین باعث جدا شدن سلول های اپی تلیالی در نواحی فوقانی لایه بازال و ایجاد شکاف در اپی تلیوم و نمایی مشابه با آکانتولیز پمفیگوس و لگاریس می گردد. در صورتی که شکاف در حد فاصل اپی تلیوم و همبندی باشد نمایی مشابه با پمفیگوئید ایجاد می شود. (۳،۷،۱۲)

در این مطالعه اگرچه فراوانی آرتیفکت ناشی از عملکرد تکنیسین بیشتر از عملکرد جراح بود اما اختلاف آماری معنی داری مشاهده نشد. ($P=0/8$)

در مطالعه ما بیشترین آرتیفکت ناشی از عملکرد جراح، شکاف (*split*) و خونریزی و کمترین آن حرارت و انکوسایتوئید بود. در بررسی بیوپسی های دهانی *Seoane* و همکاران که روی ۳۵۴ نمونه انجام شد، بیشترین آرتیفکت ناشی از بیوپسی توسط دندانپزشک عمومی *Crush* و کمترین آن (*Fragmentation*) قطعه قطعه شدن بود اما در بررسی بیوپسی های انجام شده توسط جراح فک و دهان و صورت بیشترین آرتیفکت مربوط به خونریزی و کمترین آن مربوط به شکاف (*split*) بود. (۵)

شاید از دلایل تفاوت نتایج مطالعه ما با این مطالعات تفاوت در حجم نمونه مورد بررسی، نوع ضایعات و حتی روش نمونه برداری باشد.

از آن جا که جراح در حین تهیه بیوپسی از هموستات استفاده می کند در نتیجه گرفتن نمونه با هموستات منجر به ایجاد فشار و به طبع آن کشش مکانیکی در مجاورت منطقه فشار می

به نظر می رسد که در عدم رنگ پذیری برش های اسلایدهای میکروسکوپی دلایل زیر مطرح شوند. ممکن است قبل از رنگ آمیزی پارافین به طور کامل از برش پاک نشده باشد یا برش ها ضخیم و غیر یکنواخت بوده و یا اینکه بافت مدت زیادی در محلول پایدار کننده مانده باشد و یا اینکه پایدار کننده به طور کامل از برش پاک نشده باشد. لذا تعویض زود به زود ظرفهای محتوی گزین، تجدید برش و دقت در موقع تهیه آن و استفاده از شست و شوهای طولانی مدت و موادی که پایدار کننده را می زداید، توصیه می شود.^(۱۳)

برخی از مطالعات نوع ضایعات دهانی را بر روی ایجاد انواع آرتیفکت مؤثر دانستند.^(۱۳،۱) به عقیده *Kontogianni* و همکاران آرتیفکت ناشی از *Crush* در نمونه های کارسینوم (بدخیمی) و التهابی نسبت به ضایعات دیگر بیشتر است، به طوری که آنها جهت تشخیص *Small cell carcinoma* ریه از آنتی بادی *TTF1-GD56* استفاده کردند.^(۱۶)

با توجه به فراوانی بالای آرتیفکت در اسلایدهای پاتولوژی لذا جهت کاستن از میزان تغییرات تصنعی در اسلایدهای میکروسکوپی تهیه شده از نمونه های بیوپسی بایستی موارد زیر را تا حد ممکن مورد توجه قرار گیرد.

کاستن از میزان دستکاری مکانیکی بافت در حین جراحی و تهیه بیوپسی و عدم استفاده از کوتری در تهیه بیوپسی، در صورت ناگزیر بودن به این کار بایستی حاشیه های برش به حد کافی از منطقه اصلی ضایعه فاصله داشته باشد تا نسج ضایعه تحت تأثیر حرارت ناشی از کاربرد کوتری قرار نگیرد و ساکشن جراحی با نسج مورد بیوپسی تماس نیابد.^(۵) استفاده از بی حسی تنه عصبی به جای تزریق داروی بی حس کننده موضعی در داخل یا مجاور ضایعه جهت کاهش آرتیفکت ناشی از عملکرد جراح توصیه می شود.^(۱) جهت کاهش آرتیفکت های ناشی از عملکرد تکنسین موارد زیر مورد تاکید قرار می گیرد.

کاهش میزان تماس بافت با اسید و عدم انتقال بافت های نرم همراه با نسوج کلسیفیه به داخل اسید و اطمینان از تیز بودن چاقوی میکروتوم در هنگام برش بلوک های پارافینی و برش بلوک های پارافینی با ضخامت معمول ۵ میکرون و زاویه برش

میکروسکوپی عمق ناکافی داشتند و درصد این نوع آرتیفکت پایین بود. این گونه به نظر می رسد که نمونه ای باریک و عمیق بهتر از کم عمق و پهن بوده که به ویژه در ارتباط با ضایعات تومورال و سرطانی که بررسی نسج همبندی لازم است، مصداق دارد.^(۲،۱۳)

در این مطالعه بیشترین آرتیفکت ناشی از عملکرد تکنیسین به ترتیب رسوب فرمالین و *Crush* بودند.

Abreu Velez و همکاران استفاده از فرمالین بافر خنثی را جهت جلوگیری از رسوب فرمالین به ویژه در فیکس کردن طولانی مدت و با درجه حرارت بالا توصیه کردند.^(۱۴) که در مطالعه حاضر این نوع آرتیفکت در عملکرد تکنیسین آزمایشگاه بالاست لذا جهت کاهش آن، زمان فیکساسیون مناسب جهت نمونه بیوپسی شده توصیه می گردد.

برخی از مطالعات استفاده از فورسپس های تیز جراحی در مقابل فورسپس هایی با نوک غیر برنده را در روی هم افتادن سلول های همبندی مؤثر می دانند.^(۳) مطالعات دیگر بخیه زدن بعد از استفاده از تیغ جراحی را در ایجاد آرتیفکت *Crush* مؤثر مطرح می کنند.^(۵)

برخی مطالعات معتقدند که ایجاد آرتیفکت *Crush* با روش پانچ بیوپسی کمتر از تیغ جراحی است، *Bernstein* و همکاران معتقداند که آرتیفکت *Crush* نوعی تحریف در شکل ظاهری بافت است که می تواند بر اثر کوچک ترین فشردگی در بافت ایجاد شود به طوری که فشار مکانیکی منجر به خروج کروماتین از هسته سلول می شود و سلول های آماسی و تومورال حساس ترین نوع سلول ها در این فرضیه اند.^(۱۵)

در این مطالعه کمترین نوع آرتیفکت ناشی از عملکرد تکنیسین آزمایشگاه آلودگی و عدم رنگ پذیری نمونه بافتی بود. آلوده شدن بافت با ذرات پنبه منجر به ایجاد ماده ای ائوزینوفیلیک مشابه آمیلوئید می گردد. بلوک های پارافینی در صورتی که مدت طولانی در محیط مرطوب قرار گیرند آلودگی قارچی در آن ها ایجاد می شود. همچنین استفاده از محلول *Hanse* به عنوان فیکساتور جهت هموستاز ممکن است منجر به ایجاد نمای *tattoo* گردد.^(۱۳)

عمودی با بافت مورد نظر جهت پیشگیری از بروز انواع آرتیفکت با توجه به فراوانی بالای آرتیفکت در اسلایدهای میکروسکوپی، توصیه می‌گردد. جهت کاهش آن و تشخیص صحیح پاتولوژی، عملکرد مناسب و همکاری جراح، پاتولوژیست و تکنیسین آزمایشگاه ضروری به نتیجه گیری: نظر می‌رسد.

References:

- 1- Matsumoto K, Suzuki H, Usami Y, Hattori M, Komoro T. Histological evaluation of artifacts in tongue tissue produced by the CO2 laser and the electrotome. *Photomed Laser Surg.* 2008Dec;26(6):573-7
- 2- Diamanti N, Duxbury AJ, Ariyaratnam S, Macfarlane TV. attitudes to biopsy procedures in general dental practice. *Br Dent J* 2002May;192(10):588-92.
- 3- Peterson E, Happy T. *Oral and maxillofacial surgery.* 4th ed, Philadelphia, Mosby Co 2008
- 4- Seoane J, Romero MA, Varela-Centelles P, Diz-Dios P, Garcia-Pola MJ. Oral lichen planus: a clinical and morphometric study of oral lesions in relation to clinical presentation. *Braz Dent J.* 2004Aug;15(1):9-12.
- 5- Seoane J, Varela-Centelles P, Ramirez JR, Romero MA, De La Cruz A. Artefacts produced by suture traction during incisional biopsy of oral lesions. *Clin Otolaryngol Applied Sci.* 2002Dec;27(6):549-53.
- 6- Kumar K, Shetty DC, Bua M. Biopsy and tissue processing artifacts in oral mucosal tissues. *International Journal of Head and Neck Surgery.* 2012 Oct;3(2):92-8.
- 7- Kumaraswamy KL, Vidhya M, Rao PK, Mukunda A. Oral biopsy: oral pathologist's perspective. *J Cancer Res Ther.* 2012;8(2):192-8.
- 8- Pippi R. Technical notes about soft tissues biopsies of the oral cavity. *Minerva Stomatol.* 2006 Oct;55(10):551-66
- 9- Bermejo-Fenoll A, López-Jornet MP, Jiménez-Torres MJ, Camacho-Alonso F, Orduña-Domingo A. Biopsy of the buccal mucosa in oral lichen planus: the traditional method versus the use of a new pressure forceps. *J Am Dent Assoc.* 2007Jul; 138(7):957-62.
- 10- Camacho Alonso F, López Jornet P, Jiménez Torres MJ, Orduña Domingo A. Analysis of the histopathological artifacts in punch biopsies of the normal oral mucosa. *Med Oral Pathol Cir Buccal* 2008 Oct;13(10):E636--9.
- 11- Moule I, Parsons PA, Irvine GH. Avoiding artifacts in oral biopsies: the punch biopsy versus the incisional biopsy. *Br J Oral Maxillofac Surg.* 1995 AUG;33(4):244-7.
- 12- Lolli R, Venezia A, Bellardini M, De Nisi S, Demuro G. Technical artifacts in biopsy of the oral cavity. I. Clinical and histopathologic aspects. *Minerva Stomatol.* 1989 Jan;38(1):37-45.
- 13- Poh CF, Ng S, Berean KW, Williams PM, Rosin MP, Zhang L. Biopsy and Histopathologic Diagnosis of Oral Premalignant and Malignant Lesions. *J Can Dent Assoc.* 2008 Apr;74(3):283-8.
- 14- Abreu Velez AM, Howard MS, Restrepo-Isaza M, Smoller B. Formalin deposition as artifact in biopsies from patients affected by a new variant of endemic pemphigus foliaceus in El Bagre, Colombia, South America. *J Cutan Pathol.* 2010 AUG;37(8):835-42.
- 15- Bernstein ML. Biopsy technique: the pathological considerations. *J Am Dent Assoc.* 1978 Mar;96(3):438-43.
- 16- Kontogianni K, Nicholson AG, Butcher D, Sheppard MN. CD56: a useful tool for the diagnosis of small cell lung carcinomas on biopsies with extensive crush artefact. *J Clin Pathol.* 2005 Sep;58(9):978-80.