

- Histoteknoloji -

Bütün malzemeler (dokular) ilk makroskopiye gelir. Gözlem yapılır. Doku formaldehitte fikse (fiksasyon) olur. Fiksasyon formalinin 1/10'unda tamamlanıyor.

Dokular istem formuyla gelir. istem formundaki doku ve biyopsi numarası mutlaka aynı olmalıdır. Her aşamada kayıt önemlidir.

Küçültülen dokular doku takip kasetlerine konur. Dokuların

boyutuna göre kaset seçilmelidir. kasetlerin delikleri önemlidir.

Doku takip aşamasında çok küçük dokular büyük delikli kasetlerden düşebilir. Ona göre seçilmeli. Delikler uygun değilse

kese veya kurutma kağıtlarına konarak kasete yerleştirilmeli.

kasetlerin üzerine kurşun kalemle herkesin okuyabileceği şekilde sayısı yazılmalıdır.

Kaset delikleri standarttır. (5mm). Büyük kasetler hariç. (mega kasetler).

Mikrotom bıçağı veya bistüri kullanılır. Makroskopi yapılan dokular doku takip cihazına yerleştirilir. (Solüsyonun

içinde cihaz garkolama hareketi yapar.). ilk iki kop fiksatifdir. (fiksasyon tamamlanması için.) Parafin erime sayısı (56-58c)

doku takip cihazından çıkan dokular ~~bu aşamada~~ konur

Parafin tankında eriyen parafinler musluklar kısmından gelir.
Doku gömme kaplarına (basemod) yerleştirilir. Metal plaka
arkaya itilince parafin aktarılır. kapak kapatılır. Parafin soğu-
ması için soğutucu alana alınır. 10dk içinde donar. Daha
sonra ters çevrilip sert bir şekilde vurularak çıkartılır. Daha
da soğutmak için bir ^{buzdolabına} ~~sektörde~~ koyulur. Daha sonra kesiti
alınır. Kesit için mikrotom bıçağı gereklidir. Küçük kol
yakınlaştırır. Büyük kol aşağı - yukarı hareket ile kesit
almamızı sağlar. kollar ters yöne (antagonist) çevrilir.
Alınan dokular doku su banyosuna yerleştirilir. Dik bir
şekilde lam yerleştirilir. ve lamine üzerine alınır.
(suyun sıcaklığı parafinin erime sıcaklığından 10C da-
-ha düşüktür.)

-Lamlar-

Sarı - Beyaz etiket → yömâ kısmı tek taraflı

Buzlu cam olan → iki taraflı yazılır.

Kesit alınıp lama alınan dokular lam sepetine yerleştirilir.
(dik veya yan)

(+) işareti olan lamalar (pozitif sarılı lam) tutuculuğu diğer lamlara göre daha yüksek

Rutin uygulamalarda normal lamalar kullanılır.

Sepette koyulan lamalar etüve alınır fazla parafin eritilir. İlk hemotoksilen - eozin ile boyanır. Boyama bittikten sonra doku koruması için lamel ile kapama yapılır. Mikroskoptan bakarken büyütme kısmıyla lameller uyumlu olmalıdır.

Doku üstüne koyulan lamelere yapışması için kapama maddesi (pastör pipette alınır) bir damla alınır. Patoloğa lamalar mape'ye dizilip verilir. fibrözis artışı için özel boyamalar yapılır. Her bir boya için yeniden kesit alınır.

Spatül, penset, pipet → ürün almaya yarar
distile su → mezür ile ölçülür.

Karışmak için mavi kapaklı kaba alınır.

Sole → lamalar dizilir, cam yapıdadır.

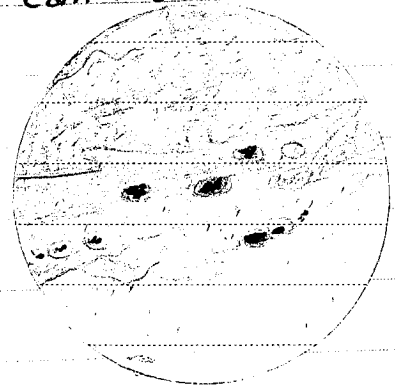
↳ Capraz sekilde dizilir lamalar.

3 yollu püskürtücü (cam pipet-üstüne takılır): A'ya
basılıp hava boşaltılır, S ile sıvı doldurulur, E
ile sıvı boşaltılır.

Hematoksilen & Eozin

Lam → 8A

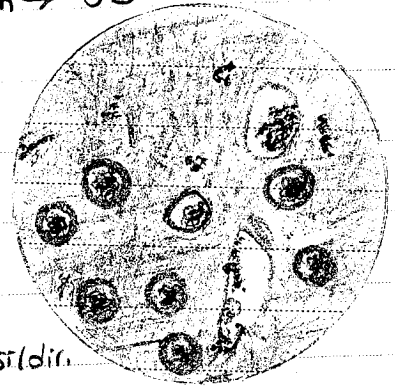
- Eritrositler arterler içinde ve kırmızı noktalar halinde
- Nükleuslar "mavi-mor" tonlarında boyanmışlar.
- Sitoplazma açık pembe tonundadır.



Trichrome

Lam → 8B

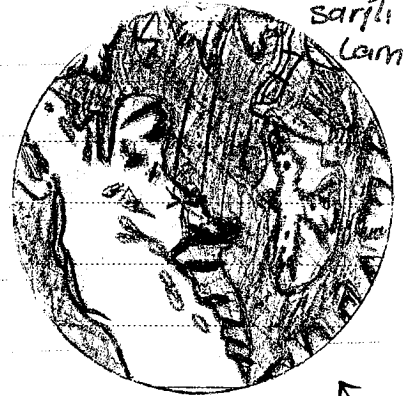
- Böbrek kesiti
- Glomerullar mavi-yeşil
- Arterlerde ve üzerinde görünen kırmıcıklar eritrositler
- Kollajenlerde bu boyada mavi-yeşildir.



EVG (Van Gieson Elastik lif boyası)

Lam → EGFR (+)

- Kesin atromaksi dermisi andırıyor.
- Kesitte nükleuslar siyah, Elastik lifler aynı şekilde siyah, kollajenler kırmızı, diğer elementler ise sarı renkle pöze giriyor.
- Kollajenleri fazla.



Elastik Van Gieson (EVG)

EVG Boyası (Aevirist) ?

1325
- 10 Nisan Lab -

fixative (fiksatif)

- ↳ Herhangi bir iyi sabitlenmiş doku kullanılabilir ancak Nötral tamponlu malin veya Zenker sol. kullanılır.

Ekipman (kullanılacak malzemeler)

- ↳ Manyetik karıştırıcı, Sale, erlenmeyer, dereceli silindir.

Teknik

- ↳ 4-5 mm boyutunda Parafin kesit alınır.

Kalite Kontrol

- ↳ Göğüs lab. kenara gömülü aort kullanılırken, koshi bir aortun kesitini tercih ederim.

Solüsyonlar:

- Lugol iyot -

iyot 10 gr

Potasyum iyodür 20 gr

Distile su 1000 ml

* iyot ve sodyum iyodürü 200ml

su içeren siseye koyun

iyot ölçülene kadar mekanik

karıştırıcı üzerinde karıştırın ve

ardından kalan suyu ekleyin.

- 1/10' luk Demir (III) klorür -

Demir (III) klorür (ferrik) 50 gr

Distile su 500ml

- 1/5'lik Alkollü Hematoxilen -

Hematoxilen 5 gr

1/95 Alkol 100ml

- 1/2'lik Demir (III) klorür -

Demir (III) klorür (ferrik) 10ml

Distile su 100ml

- Verhoeff (EvG) ÇALIŞMA SOLÜSYONU

1/5'lik Alkollü hematoxilen 30ml

1/10'luk Demir (III) klorür (ferrik) 12ml

Lugol iyot 12ml

ÇALIŞMADAN

ÖNCE HER

ZAMAN TAZE

HAZIRLAYIN

- Van Gieson Solüsyonu -

* Van Gieson için Pikrik asit - asit füksin altına bakın

- 1/5 Sodyum Tiyosülfat -

Sodyum Tiyosülfat 50gr

Distile su 1000ml

✓ ÇALIŞMA YÖNTERİ

~ Galişma Yöntemi ~

- Kesitler hidrate edilir.
- Verhoeff Galişma sol. 1 saat boyanır.
- İki değisim distile su ile yıkanır.
- Elastik lifler belirginleşene ve arka plan solup açık griye dşene kadar kesitler 1/2'lik ferrik kloride mikroskopik olarak ayırın kesitler çok fazla ayrıştırılırsa suda tekrar boyayın.
- Kesitleri distile suda yıkayın.
- Kesiti 1 dk boyunca sakum (pikodifrit) boyatın.
- 5 dk boyunca akan suda yıkayın.
- Kesitleri 1 dk boyunca Van Gieson boyasıyla boyayın (Zit boyama)
- 1/95 alkolde diferansiyel edilir.
- Dehidrate edilir, kesitler seffoflaştırılır ve kapotılır.

~ Boyama Sonuçları ~

Elastik lifler → mavi - Siyah ve siyah

Nükleus → mavi - Siyah ve siyah

Kollajen → kırmızı Diğer dokü e. → Sarı

Gomori: One Step

10 Nisan 2005

"AD"

Solusyon A: 1000 ml

100 ml

Hematokrit 10 gr

→ 1 gr

Alkohol 1.95 1000 ml → 100 ml

Solusyon B:

200

Distil su 475 ml → 95 ml

(konsentrat) Hidroklorik asid 5 ml → 1 ml

0.29 ferrik 20 ml → 4 ml

500

100

100

500 x = 100 x 100

500

500 x

500

100

100

500

T = x

500

Van Gieson: Pitrik Asit - Asit Füksin Boyası

Solüsyonlar

Weigert Hematoksilen

Stok A Solüsyonu

Hematoksilen 10g

% 95 Alkol 1000ml

Stok B Solüsyonu

(Ferrik)

% 29 Fe (III) Cl (sulu) 20ml

Distile su 675ml

Glasial asetik asit 5ml

- Çalışma Solüsyonu -

Stok A ve Stok B eşit miktarda karıştırılır.

1/1'lik Asit Füksin Solüsyonu

Asit Füksin 1g

Van Gieson Solüsyonu

Ast Füksin 1-1

Daymus solu pitiric ast 95 ml

- Gallsma Yöntemi -

1. Kesitler deparafinize, ardından hidrate edilir.

2. Weight hemotoksilen 10-20 dk boyatılır.

3. Ayan su altında 10 dk yıkayılır.

4. Van Gieson Solüsyonu 5 dk boyatılır.

5. 1-95'lik alkolde alar.

6. Kesitler dehidrate edilir, berraklaştırılır ve kapattılır.

Boyama Sonucu

Nükleus → Siyah

Kollajen → Kırmızı

Kas ve Sitoplazma → Sarı

Gomori One Step Titrom

Titrom Solution

Chromotrope 2R

0.6 gr

light Green, SW yellowish

0.3 gr

Phosphotungstic acid

0.8 gr

Del. Acetic Acid

1 ml

Distic su

100 ml

- Golisma Solution:

J-Lesther hydrate editr

2x10 ksien

2x5 dr absol alcohol

5 dr 7.80 alcohol

5 dr 7.70 alcohol

2-Bouin's Solisyonada 56°C 60 dr. vena

6- Trikom solüsyonunda 20-45 dok bekletiniz.

7- % 0,5 asetik asitle çok hızlı diferansiye edilir.

8- Akan su altında yıkanır.

9- Dehidrate edilir, kapatılır.

-Savug-

Kollajen - Yeşil

Kas, sinir, eritrosit - Kırmızı

Nükleus - Siyah