

مراحل آماده سازی برش های بافتی

جهت تهیه مقاطع میکروسکوپی از نمونه ها، به روش معمول تهیه مقاطع بافتی عمل گردید. در این روش پس از ثبوت و شستشو با آب جاری، با استفاده از دستگاه هیستوکینت، مراحل مختلف پاساژ بافتی شامل مراحل آب گیری با غلظت های صعودی الکل اتانول، شفاف سازی توسط گزیلول و آغشتگی به پارافین انجام گرفت. سپس نمونه ها پس از خروج از دستگاه هیستوکینت قالب گیری شده و با میکروتوم دستی دوار، برش هایی به ضخامت ۵-۶ میکرومتر تهیه گردید.

رنگ آمیزی تری کروم ماسون (Masson's Trichrome)

- طریقه ساخت محلول آلوم آهن

سولفات آمونیوم آهن ۴ گرم

آب مقطر ۱۰۰ میلی لیتر

- طریقه ساخت محلول A

اسید فوشین ۱۰ میلی لیتر

پونسه آ ۹۰ میلی لیتر

گلاسیال استیک اسید ۱ میلی لیتر

- طریقه ساخت محلول B

فسفومولیدیک ۰/۵ گرم

فسفوتنگستیک ۰/۵ گرم

آب مقطر ۱۰۰ میلی لیتر

– طریقه ساخت محلول C

فست گرین ۲/۵ گرم

آب دیونیزه ۱۰۰ میلی لیتر

گلاسیال استیک اسید ۲/۵ میلی لیتر

– طریقه ساخت هماتوکسیلین الکلی

هماتوکسیلین ۱ گرم

اتانول ۹۵٪ ۱۰ میلی لیتر

– طریقه ساخت محلول گلاسیال استیک اسید ۱٪

گلاسیال استیک اسید ۱ میلی لیتر

آب مقطر ۱۰۰ میلی لیتر

مراحل رنگ آمیزی:

۱. مراحل پارافین زدایی با استفاده از دو ظرف گزیلول هر کدام به مدت ۵ دقیقه و آب دهی به نمونه با استفاده از درصد های نزولی الکل (۷۰، ۸۰، ۹۵، ۱۰۰) هر کدام به مدت ۲ دقیقه و سپس قرار دادن در آب مقطر به مدت ۱ دقیقه انجام شدند.

۲. برش های بافتی به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق در مجاورت با آلوم آهن قرار گرفتند.

۳. در آب جاری به مدت ۵ دقیقه شستشو داده شدند.

۴. در هماتوکسیلین به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق مورد رنگ آمیزی قرار گرفتند.

۵. در آب جاری به مدت ۵ دقیقه شستشو داده شدند.

۷. در آب جاری به مدت ۲۰-۱۰ دقیقه شستشو داده شدند.

۸. در محلول A به مدت ۵ دقیقه مورد رنگ آمیزی قرار گرفتند.

۹. در آب مقطر به مدت ۵ دقیقه شستشو داده شدند.

۱۰. لامها در مجاورت با محلول B به مدت ۱۰ دقیقه قرار گرفتند.

۱۱. در محلول C به مدت ۵-۲ دقیقه مورد رنگ آمیزی قرار گرفتند.

۱۲. در اسید استیک شستشو داده شدند.

۱۳. آبگیری از نمونه‌ها در الکل‌های ۷۰٪، ۹۰٪ و دو ظرف الکل مطلق انجام شد.

۱۴. شفاف‌سازی توسط گزیلول صورت گرفت.

۱۵. لام‌های رنگ آمیزی شده با قرار دادن یک قطره چسب انتلان و سپس گذاشتن لامل با زاویه ۴۵ درجه بر روی آنها و

خارج کردن هوا از زیر لامل با فشار پنس مانت شدند. لام‌ها پس از خشک شدن، آماده مطالعه بودند.

نتایج: هسته به رنگ آبی یا آبی تیره، کلاژن و موکوس به رنگ آبی یا سبز، عناصر سیتوپلاسمی، کراتین و عضله به رنگ

قرمز دیده می شوند.