

Principi imunohistohemijskih i histoloških ispitivanja. Procesovanje tkiva za histološka ispitivanja

doc. dr Vladimir Kukolj

Izrada histoloških preparata

- Uzorkovanje tkiva
 - Fiksiranje
 - Procesovanje
 - Dehidracija
 - Prosvetljavanje i impregnacija
 - Kalupljenje
 - Sečenje
 - Bojenje
 - Montiranje
-

Uzorkovanje tkiva

- svež materijal
 - mesto sa kojeg se uzima uzorak
 - veličina uzorka
-

Fiksiranje tkiva

- **Fizičke metode**

- zagrevanje
- smrzavanje i sušenje itd.

- **Hemijske metode**

- koagulacija proteina (alkohol, jake kiseline)
 - unakrsno povezivanje proteina (aldehidi)
 - kombinacija
-

Fiksiranje tkiva

- izbor fiksativa
 - dužina fiksacije
 - adekvatna bočica za fiksiranje
 - odnos tkivo:fiksativ
 - bistar rastvor fiksativa
-

Procesovanje tkiva

Dehidracija:

1.40% alkohol

2.70% alkohol

3.96% alkohol

4.100% alkohol

Prosvetljavanje:

ksilol

Impregnacija:

parafin

Bojenje tkiva

- različite vrste bojenja zavisno od toga šta dokazujemo u tkivu
 - rutinski: hematoksilin i eozin
-

Imunohistohemija

Faze u imunohistohemiji

- Deparafinizacija i hidriranje tkiva
 - Demaskiranje antigena
 - Blokiranje endogene peroksidaze
 - Inkubacija sa kozjim/svinjskim serumom
 - Inkubacija sa primarnim antitelom
 - Inkubacija sa sekundarnim (i tercijskim) antitelom
 - Vizuelizacija pomoću hromogena
-