

---

## **2. HISZTOTECHNIKA /Szövetteni technika/**

I. A vizsgálati anyag előkészítése

II. Fixálás (rögzítés)

III. Kimosás, víztelenítés

IV. Beágyazás (paraffin beágyazás)

V. Blokkok felragasztása (blokkolás)

VI. Metszés

VII. Metszetek tárgylemezre húzása

VIII. A metszetek deparaffinálása

IX. Felragasztás

X. Festés

XI. A metszetek lefedése és címkézése

---

Szövetteni technika azokat az eljárásokat foglalja össze, melynek során az állati vagy az emberi szervezetből eltávolított szervrészleteket alkalmassá tesszük mikroszkópos vizsgálatra. A feldolgozás kapcsán a vizsgálati anyagokat fehérje alkotórészeik kicsapása után rögzítenünk (fixálnunk) kell. Egyébként szerkezetük enzimhatás, rothasztó baktériumok okozta bomlás után megváltozna. A metszéshez szükséges keménységet az anyag beágyazó szerrel való átitatásával vagy fagyasztásával érjük el. A metszeteket - az egyes sejt és szövetalkotórészek elkülönítése céljából - megfestjük, majd a megóvás érdekében átlátszó anyaggal lefedjük.

### **A hisztotechnikai eljárás főbb lépései:**

**I. A vizsgálati anyag előkészítése**

A vizsgálandó állati szervből általában 1-2 cm széles 2-3 cm hosszú szeletet készítünk éles késsel, szikével vagy zsilettpengével. Az anyagból - ha szükséges - több ilyen darabot vágunk ki. A kivágott blokkok mellé odahelyezünk egy lapot, melyre ráírjuk az anyag nevét (szerv, állat megjelöléssel). A kimetszett blokkokat gézbe kötjük a vizsgálati lappal együtt. Ha automata szövetbeágyazó készülékkel rendelkezünk, akkor a készülékhez tartozó fémkosarakba (külön - külön

rekeszekbe) rakjuk a szervdarabokat. Apró szövetszerkezeteket vagy kaparékot azonban előtte gézbe kell kötni. Az így elkészített anyagokat fixálószerbe tesszük.

## II. Fixálás (rögzítés)

A rögzítés célja kettős: elsődleges cél, hogy a sejtek, szövetek fehérjeit denaturáljuk, és így az enzimatis bomlási folyamatokat leállítsuk. A fehérjék denaturációja következtében az anyag megkeményedik, így további feldolgozásra, metszésre alkalmassá válik. Minden olyan anyag alkalmas fixálónak mely a fehérjéket kicsapja. Figyelembe kell azonban venni, hogy a fixáló a szöveti struktúrát ne károsítsa és a vizsgálati anyagot lényegesen ne zsugorítsa. Bármilyen fixálószerrel használunk azonban, bizonyos mértékű szövetkárosodás, zsugorodás mindig bekövetkezik. Nem minden fixálószer alkalmas az egyes szövettani festési eljárásokhoz, ezért a megfelelő fixáló kiválasztása sokszor döntően befolyásolhatja a további szövettani munkákat. Minden fixálószer esetében van egy optimális fixálási idő, melyet célszerű megtartani. Túlfixálás esetében az anyag túlkeményedik, és nehezen metszhetővé válik. A fixálási idő optimális anyagra is vonatkozik: ezalatt azt értjük, hogy lehetőleg a kimetszett szövetszerkezet darab ne legyen 1/2 cm-nél vastagabb. Ellenkező esetben a fixáló az anyag szélét megkeményíti, s a szövetszerkezet belseje, a fixálószer rossz penetrációja miatt nyers marad. Üreges szerkezeteket, vesét, belet, gyomrot, stb. feltárva kell fixálni, vagy az üregrendszerrel fixálószerrel fel kell tölteni. Ha a fixálószerbe több anyagot helyezünk egyszerre, vigyázzunk arra, hogy azok össze ne tapadjanak, ebben az esetben az összetapadt felületek fixálatlanok maradnak. A rögzítendő anyagunkat bőséges (20-30 - szoros) mennyiségű fixálószerbe helyezzük. Fémeket tartalmazó rögzítőkbe (osmium, higany, króm, stb.) ne nyúljunk fémcsipeszsel! Erre a célra paraffinozott végű csipeszt használjunk.

### Rögzítőszerkezetek, rögzítőkeverékek

1. **Formalin:** a formaldehid 40%-os vizes oldata, a leggyakrabban használt rögzítőszerünk. Általában 10%-os koncentrációjú formalint használunk (4-szeres hígítás), de használatos a 4%-os formalin is (10-szeres hígítás). Célszerű a formalint neutralizálni. A neutralizálásra nátriumkarbonátot vagy nátrium-hidrogénkarbonátot használunk. A formalin a fehérjék számos oldalláncával, funkcionális csoportjaival lép reakcióba. Hosszantartó formalin fixálás után az anyagban ún. formalin pigment (barnás - zöldes) keletkezik.
2. **Glutáraldehid:** a formalinnal szemben dialdehid. Sokkal erélyesebben fixál, mint a formalin, tehát a fixálási idő is lényegesen csökken.
3. **Paraformaldehid:** a formaldehid polimerje.

4. **Hidroxi - adipaldehid:** ugyancsak dialdehid általában 12,5%-os, pufferolt oldatát használják.
5. **Alkohol:** erélyes vízelvonószer, a fehérjéket kicsapja, denaturálja, de immunológiai vizsgálatok szerint számos fehérje megtartja immuntulajdonságait alkohol kezelés után is. Erélyes jó fixálószer, hátránya azonban, hogy a vízelvonás miatt zsugorítja az anyagot.
6. **Aceton:** az alkoholhoz hasonló vízelvonó és fehérje denaturáló szer.
7. **Ozmium-tetroxid:** elsősorban elektronmikroszkópos technikában használják fixálószerként.
8. **Króm - sók:** erős affinitásuk van a fehérjék -COOH és -OH csoportjához. Önmagában nem, más fixálókkal együtt szokták használni.
9. **Higany - sók:** a krómsókhoz hasonlóan a fehérjék -COOH és -OH csoportjaihoz kötődik, de ezen kívül rendkívüli affinitásuk van az -SH csoportokhoz. Önmagukban nem használják fixálásra.

Számos ún. fixálókeveréket is ismerünk: Zenker - fixáló, Carnoy - oldat, Cajal-fixáló, Susa -fixáló, Helly, Bouin, Orth. Ezek közül mindig azt kell kiválasztani, amely az alkalmazandó, további vizsgálati eljárást legkevésbé befolyásolja.

### Rögzítőkeverékek:

1. **Carnoy rögzítő:** 60 ml absz. alkohol + 30 ml kloroform + 10 ml jégecet. Rögzítés az anyag méretétől függően 10 perctől 2-3 óráig. Kimosás absz. alkoholban. A magot kitűnően rögzíti. A plazma és a kötőszövet kissé zsugorodik.
2. **Susa:** 4,5 g HgCl<sub>2</sub> és 0,5 g konyhasót 80 ml deszt. vízben feloldunk. Az oldathoz 2,0 g triklór-ecetsavat + 4,0 ml jégecetet + 20 ml formalint adunk. Általános rögzítőként és az izomszövet rögzítésére használható. Rögzítési idő 1-24 óra. Kimosás 80-90 %-os alkoholban.
3. **Bouin:** 15 ml cc. vizes pikrinsav oldat + 5,0 ml formalin + 1,0 ml jégecet. Kiváló általános rögzítő. Rögzítési idő 1-24 óra. Kimosás 80 %-os alkoholban.
4. **Zenker:** 2,0 g kálium-dikromát + 1,0 g nátriumsulfát + 100 ml deszt. víz (Müller -keverék). Oldódás után 5,0 g, HgCl<sub>2</sub> használat előtt pedig 5,0ml jégecetet adunk hozzá. Általános rögzítő! Rögzítési idő 12-24 óra. Kimosás 24 óráig áramló vízben.
5. **Champy:** 7 ml 1% -os krómsav + 7 ml 3%-os káliumbikromát + 4 ml 2%-os ozmiumsav. Finom citológiai célokra használatos. Rögzítési idő 24 óra. Utána 3%-os kálium-dikromátban 1 hétig

krómozás. Kimosás 24 óráig áramló vízben.

## **Az egyes szövetelemek, szervek vizsgálatához a következő rögzítők ajánlhatók:**

Általános rögzítéshez: formalin  
 Magszerkezet - vizsgálatra: Carnoy, Bouin  
 Vértképző szervekhez: Susa, Orth  
 Mirigyes szervekhez: Bouin, Susa, Orth  
 Tüdőhöz: formalin  
 Kötőszövethez: Zenker, Orth, Susa  
 Csont - porcszövet rögzítéséhez: formalin, Helly  
 Harántcsíkolt izomhoz: Susa  
 Idegsejt vizsgálatához: formalin, alkohol  
 Nyál fixálásához: formalin, Helly  
 Velőhüvelyhez: formalin, Bouin

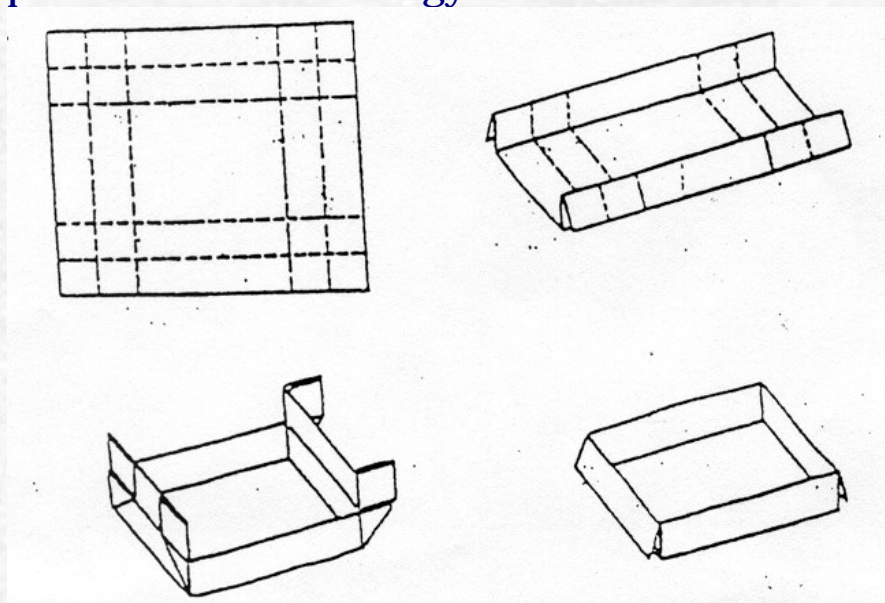
## **III. Kimosás, víztelenítés**

A fixálás után az anyagot alaposan kimossuk és ezután a szervdarabkákból fokozatosan kivonjuk a vizet. Ennek célja kettős: a fixálás során az anyagunk bizonyos mértékig már tömöttebb, keményebb lett de ezt még fokozni kell, másrészt mivel a metszetkészítés általában paraffinba ágyazott anyagból történik és a paraffin nem elegyedik a vízzel, tehát ha vizes marad az anyagunk nem tudjuk paraffinba ágyazni. A víztelenítés ún. felszálló alkoholsorban történik, tehát a hígabból egyre inkább a töményebb alkoholba helyezük az anyagunkat. A legutolsó alkohol a sorban: abszolút alkohol. Készítésénél a 96%-os alkoholba kiizzított réz-szulfátot teszünk (vízelvonás). Pontos időt nem lehet megadni, hogy az egyes alkoholokban mennyi ideig hagyjuk az anyagunkat. Ezt a gyakorlat határozza meg és természetesen az anyag nagysága is. Az alkoholos víztelenítés után, szintén víztelenítés céljából anyagunkat acetona helyezzük. Az aceton után olyan anyagot használunk, mely azzal elegyedik, s a paraffinnak pedig oldószere. Ilyen ún. közti (intermediér) anyag pl.: a xilol. Használatos még a toluol, a benzol és a kloroform is.

## **IV. Beágyazás (paraffin beágyazás)**

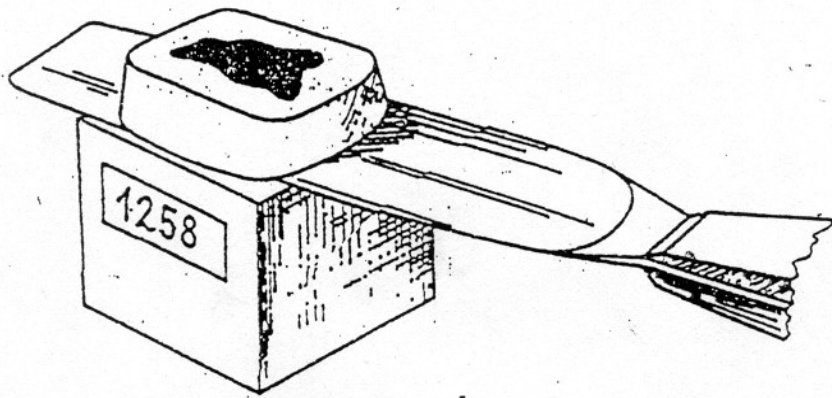
A víztelenített anyagból az intermediérral eltávolítottuk az alkoholt és az acetont. Az ilyen anyag üvegszerűvé válik, átderült. Az így előkészített anyagot 56C<sup>0</sup>-on olvadó folyékony paraffinba helyezzük. Az intermediérral jól átjárt anyagba a paraffin beoldódik. Miután a szövetdarab paraffinnal jól átjáródott, sor kerül az ún.

kiöntésre. Megfelelő keménységű papírból előre elkészítünk formákat („csónakokat”), és a kimetszett anyagot a vizsgálandó felszínnel lefelé nézve a „csónakba” helyezzük. Ezután előre megolvasztott paraffint öntünk a szövetdarabra. A formát hideg (10-18C<sup>0</sup>) vízre állítjuk és az 58-60C<sup>0</sup>-os kiöntő paraffinnal kb. 1/3-ad részig megtöltjük. Rövid várakozás után a kiöntőforma alján a paraffin néhány mm vastag rétegben megszilárdul. Ekkor meleg (58-60C<sup>0</sup>-os) csipesszel vagy spatulával a szövetdarabkát a paraffinba helyezzük úgy, hogy a metszendő felszín a forma fenekére kerüljön. A szövetdarabka elhelyezése után azonnal teljesen megtöltjük a formát paraffinnal és csaknem a felszínéig a hideg vízbe nyomjuk. A gyors lehűlés fontos, különben a paraffin ikrás szerkezettel szilárdul meg! Miután a paraffin megdermedt, az anyagunk blokkolásra és metszésre kész. Rutin laboratóriumi eljárásokra a paraffin beágyazás a legcélszerűbb, azonban ha speciális vizsgálatokat vagy különösen szép metszeteket akarunk készíteni akkor más módszereket is igénybe vehetünk. Ilyen pl.: a celloidin beágyazás, melynek előnye a struktúra különösen szép megtartottsága, hátránya viszont, hogy igen hosszadalmas. Átmenet a paraffin és a celloidin beágyazás között a kombinált paraffin - celloidin beágyazás.



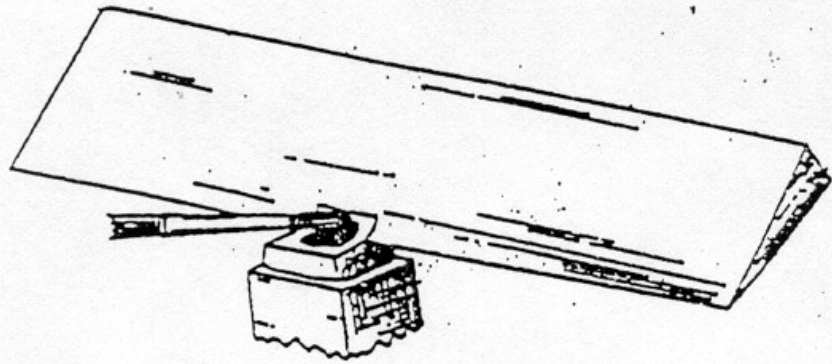
## V. Blokkok felragasztása (blokkolás)

A kiöntő formában vagy papírcsónakban lévő anyagot a metszés céljára elő kell készíteni. A papírformát éles szikével, vagy zsilettpengével levágjuk. Az anyagunkat ún. blokkfára ragasztjuk. A blokkfa kemény fából készült, téglalakú és olyan nagyságú, hogy a mikrotom megfelelő részébe jól behelyezhető legyen. A felragasztást felmelegített szikével, vagy erre a célra készített fém lapokkal végezzük. (Celloidin beágyazás után a blokk alját egy - két percre éteralkoholba mártjuk, és a blokkfára celloidint cseppentünk.)



## VI. Metszés

A metszet készítésére alkalmas műszer a mikrotom. Különböző típusú és gyártmányú mikrotomok ismeretesek, hazai viszonylatban leginkább használatos az ún. **szánka-mikrotom**. A blokkfára felragasztott anyag fixen áll, és a mikrotomkés egy sínen (szánkón) mozog. A metszet vastagságát a blokk pontos emelésével lehet szabályozni.



### A szánka-mikrotom használatának főbb lépései:

1. A felragasztott blokk metszendő felszínét szikével a szövetdarabkáig lefaragjuk a későbbi metszés síkjában. A blokkot a tárgytartóba fogjuk és a felületét vízszintesre állítjuk.
2. Kiválasztjuk a megfelelő kést. Paraffin és kettős beágyazás esetén a planokonkáv, celloidin blokk vagy kemény szövetdarabka metszésekor a biplan kést erősítjük a késtartóba.

A kés dőlésszögét általában 13-15 fokra állítjuk. Ilyen szög mellett a kés élfelülete majdnem párhuzamos a metszés síkjával.

A metszési szöveget annál kisebbre állítjuk, minél keményebb és minél nagyobb a metszendő anyag. Apró paraffinba ágyazott készítmények derékszögben is metszhetők.

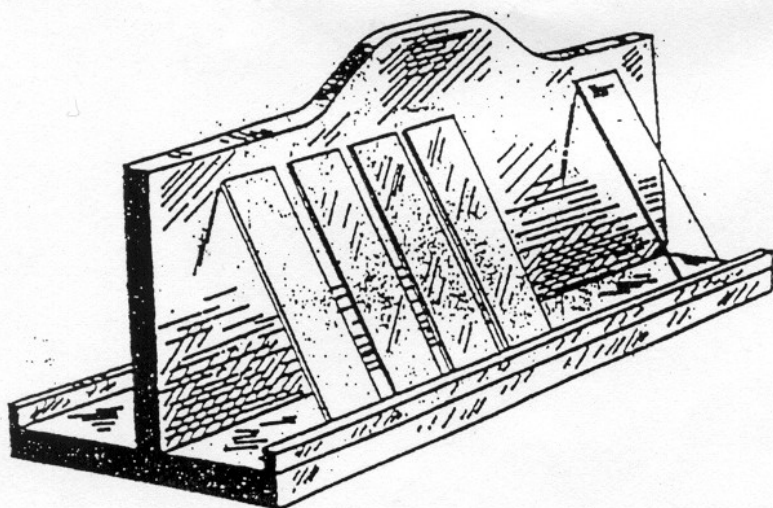
3. A blokkot a tárgytartó rögzítő csavarjának meglazításával pontosan a kés alá emeljük és rögzítjük.
4. A szánka pályájának végén elhelyezett karon beállítjuk a kívánt metszetvastagságot.
5. Általában a 6-12 mikron vastagságú metszetek megfelelőek. Finom citológiai vizsgálatokra kettős beágyazás után 1-3 mikronos metszeteket is készíthetünk.
6. Metszés: A szánkót ütközésig hátra, majd előre húzzuk. Fontos, hogy a szánka egyenletesen, könnyen csússzon és kezünkkel ne nehezedjünk rá!

Beágyazott anyag sorozatmetszésére alkalmas az ún. Minot rendszerű **kerek mikrotom**. Ha fixált anyagból a beágyazás megkerülésével akarunk metszeteket készíteni, akkor az ún. **fagyasztó-mikrotomot** használjuk. Ennek lényege, hogy a fixált (esetleg fixálatlan!) vizsgálati anyagunkat szénsavhóval megfagyasztjuk, ezáltal az anyag metszésre alkalmas, kemény állapotba kerül. Szénsavat a fagyasztómikrotom tárgyasztalába vezetik be, s azt a megfelelő szelep kinyitásával időszakosan engedjük az asztalra, s ezáltal a rajta levő szervdarabka hirtelen lehül, megkeményedik. A mikrotomkés az asztal felett félkörben mozgatható, minden húzás alkalmával a beállított mikron emelését is elvégzi. Könnyebben tudjuk a fagyasztott metszeteket elkészíteni, ha nemcsak az anyagot, hanem a mikrotomkést is lehűtjük, ezt úgy érjük el, hogy fagyasztáskor az anyag felett tartjuk a kést is. (Egyes fagyasztó-mikrotomokba a keshűtés is be van építve.) Fagyasztó-mikrotommal 5-10 mikronos metszetek készíthetők. A jó metszetkészítés alapja a jó mikrotomkés. A kések éleinek durva hibáit - csorbáit - csak ún. Mississippi-kövön (legfinomabb fenőkő) lehet kiköszörölni. Az élek finomítására fára erősített fenőszíjat használnak. A fenőfára négy szíj van ragasztva, általában számozva vannak.

## VII. Metszetek tárgylemezre húzása

A mikrotomkésről a metszeteket ecsettel vízre terítjük, úgy, hogy a metszetek „fényes fele” legyen a vízen. A metszetek egyenetlenségeit, ráncait is a vízen úszva igazíthatjuk ki. A tárgylemezeket előzően gondosan zsírtalanítani kell. A kereskedésben kapható tárgylemezeket először neutrális mosószerrel tisztára mossuk, majd 24 órára króm-kénsavba tesszük. A króm-kénsavból annyit veszünk ki, amennyire éppen szükség van és azt folyóvízben gondosan megmossuk, hogy maró

anyag ne maradjon a lemezeken. A tárgylemezeket a mosóvízből közvetlenül felhasználás előtt vesszük ki. Amennyiben a fent leírt zsirtalanítás nem elégséges, a krómkénssavas kezelés és mosás után a szárazra törölt tárgylemezeket láng felett néhányszor áthúzzuk. A zsirtalanított tárgylemezre húzott metszeteinket ezután forró vízbe (60-70C°) mártjuk, itt a metszetek kisimulnak, kiterülnek. Ezután a metszeteket függőlegesre állítva pár percig szárítjuk, majd 56C°-os termosztátba helyezük 15-30 percre. Festés előtt a metszeteket láng felett óvatosan áthúzzuk, s ezután kezdjük meg a deparaffinálást.



## VIII. A metszetek deparaffinálása

A lemetszett anyagunk gyakorlatilag víztelen és paraffinnal van átitatva. Célunk pedig az, hogy általában vizes festékoldatokkal fessük meg metszeteinket. Első feladatunk a paraffin eltávolítása. Általában xilolt szoktunk használni. A deparaffinálás igen lényeges, mivel ahol paraffin marad, ott a metszet festetlen lesz. Néha nem elégséges az egyszerű deparaffinálás, hanem a metszeteket 56 C°-ra melegített, többször váltott xilolban deparaffináljuk 12-24 órán keresztül. A deparaffinálás után ún. leszálló alkoholsorban nedvesítjük metszeteinket. Erre azért van szükség, mert az anyagunk teljesen vízmentes és ha hirtelen kerülne vízbe a gyors vízfelvétel a struktúra szétrobbanását eredményezné. Ezért fokozatosan vizezsebb és vizezsebb alkoholban nedvesítjük a metszeteket és végül a festés előtt desztillált vízbe helyezük. Ezután végezzük el a megfelelő festést.

## IX. Felragasztás

A metszetek további kezelését megkönnyíthetjük azáltal, hogy tárgylemezre ragasztjuk. A metszeteket legtöbbször **tojásfehérje-glicerinnel** ragasztjuk fel. A tojásfehérje-glicerint a következőképpen készítjük. Egy tojásfehérjét széles szájú üvegben habosra keverünk, majd megnedvesített szűrőpapíron átszűrjük. A szűrt



tojásfehérjébe egyenlő mennyiségű glicerint keverünk. A keveréket a romlástól megóvhatjuk, ha a tojásfehérjében néhány apró timol darabkát oldunk. A tojásfehérje-glicerinből egy kis cseppet a zsírtalan tárgylemez közepére helyezünk és éterrel vagy benzinnel zsírtalanított ujjhegyünkkel vékonyan, egyenletesen szétkenjük. A vékony fehérjés réteget gőzölésig melegítve megszikkasztjuk. A paraffinos metszeteket a langyos vízből spatulával húzhatjuk fel a bekent tárgylemezre, legtöbbször szépen kiteríthetők. A készítményeket azután 37 C°-os termosztátba tesszük 12-24 órára. A termosztátban a metszetek tökéletesen kisimulnak és letapadnak.

## X. Festés

A lemetszett anyagunkat natív (festetlen) állapotban közönséges mikroszkóppal alig lehet vizsgálni, mivel az egyes sejt-illetve szöveti komponenseknek az optikai törésmutatója között igen kicsi a különbség. A hisztotechnikában használatos festések legnagyobb része empirikus eredetű, és csak a keletkezésük alkalmazásuk után jó pár évvel (évtizeddel) tudtunk magyarázatot adni a festés mechanizmusáról. Legtöbb szövettani festésünknek egyszerű fizikai-kémiai alapja van. A festendő molekulák és a festék molekulák elektromos töltése (savas vagy bázikus jellege) határozza meg azt, hogy mit, mivel lehet megfesteni. Ezen elméleti megfontolások alapján általában azok a festékek jó magfestők, melyek bázisos karakterűek (pozitív töltéssel rendelkeznek), mert ezek kapcsolódnak a nukleinsavakhoz, de ezekkel a festékekkel festődik az ergasztoplazmatikus retikulum is. A savas jellegű (negatív töltésű) festékek főleg a citoplazma fehérjeihez kötődnek. Ezek alapján beszélünk a szövettani gyakorlatban mag és plazmafestő festékekről. A hisztológiában kétféle festéket szoktunk felhasználni. Az első csoportba az ún. **természetes festékek** tartoznak, ilyen pl. a hematoxin, mely egy fa kivonatából készül, vagy pl. a kármin melyet egy csigából vonnak ki. A második csoportba az ún. **szintetikus festékek** tartoznak. Mivel az első szintetikus festékeket az anilinból állították elő, ezért ezeket anilin festékeknek is szokás nevezni. Minden festék aromás alapvegyületből származik. Tehát minden festék a benzolra, vagy annak származékára vezethető vissza. Az aromás gyűrű szerkezeti változásai játsszák a fő szerepet a festékhatás kialakulásában. A benzol maga nem színes, azonban, ha bizonyos gyökök, illetve atomcsoportok kapcsolódnak a gyűrűhöz, akkor színes vegyületeket, illetve festékeket nyerhetünk. Bizonyos atomcsoportok a színek kialakulásában jelentős szerepet játszanak, ezek a benzolgyűrűhöz kapcsolódva ún. konjugált kettőskötéseket hoznak létre. Ilyenek: CO, CS, CN, NN, NO, NO<sub>2</sub>. Minél több ilyen csoport található a molekulákban, annál intenzívebb színt kapunk. Ezeket az atomcsoportokat kromoforáknak nevezzük. A benzolból levezethető kinon és származékai is színesek, hiszen telítetlen kettős kötések tartalmazzák, de ezek még nem festékek, mivel nincsen affinitásuk a szövetekhez. Az ilyen színes, de nem festő vegyületeket kromogéneknek nevezzük. Ahhoz, hogy a színes vegyületek

affinitással rendelkezzenek a szövetekhez, bizonyos gyökök szükségesek, ezeket auxokróm csoportoknak nevezzük. Nem ezek adják a vegyületek színét, de ezek szükségesek ahhoz, hogy a vegyületek a szövetek bizonyos komponenseihez kötődjenek. Ezek az atomcsoportok adják a festékek töltését, tehát sóképző funkciót töltenek be. Ilyenek:  $-OH$ ,  $-NH_2$ ,  $-N(CH_3)_2$ ,  $-COOH$ ,  $-SOH_3$ . A festék savas vagy bázikus jellegét a disszociálni képes anionikus, vagy kation jellegű csoportok határozzák meg. A bázisos, illetve savanyú csoportok általában só formájában fordulnak elő. Például a savanyú festékek színes sav sói, rendszerint Na-só, de lehetnek K-, Ca- illetve alumínium sók is. A bázisos festékek színes bázis sói, és rendszerint klorid, szulfát, vagy acetát sók. Vannak olyan festékek, melyeknek nincsen töltésük. Ezek vízben nem, csak szerves oldószerekben oldódnak. Közöttük találjuk a zsírfestékeket. A festékeket nem színük, hanem kémiai szerkezetük alapján rendszerezük. Nemzetközi jelzésük az ún. „color index” (CI) szám, mely a különböző gyártmányok azonosítására szolgál.

***A szövettani technikában használatos festékeket a következő csoportokba sorolhatjuk:***

1. Nitro - származékok
2. Azo - vegyületek
3. Trifenilmetán - származékok
4. Xantén - származékok
5. Akridin - származékok
6. Antrakinon - származékok
7. Azin - származékok
8. Oxazin - származékok
9. Tiazin - származékok
10. Tiazol - származékok
11. Ftalocianin - származékok
12. Természetes festékek rendszerint növényi eredetűek, általános szerkezeti képletük nincsen.

A festékek mellett néha betű és számjelzéseket találunk.

***A leggyakrabban előfordulókat az alábbiakban ismertetjük:***

- A. = acetát, műszál festésére alkalmas
- B. = kékes árnyalatú
- C. = klórral nem reagál
- D. = nyomásra (textil) alkalmas
- E. = világos, élénk színű
- F. = zöldes árnyalatú

- G. = hőálló
- H. = fényálló
- I. = keverék
- J. = új
- K. = vörös
- L. = jól oldható
- M. = mélyszín
- N. = vízdékony
- O. = sárga

Festékeink bázisos, illetve savas karaktere határozza meg, hogy milyen struktúrát fog megfesteni.

## Magfestő szerek

1. **Hematoxin**: az ún. természetes festékek közé tartozik, a leggyakrabban használatos magfestő szer. Maga a hematoxin színtelen, nem fest. Ahhoz, hogy festőképesse tegyük oxidálni kell. Ezt hívjuk a szövettani technikában a hematoxin érésének. Az érés alatt haematoxinból hematein keletkezik: Hemalaum: a hematoxin kálium-aluminiumsulfátot tartalmazó oldata pH 3-nál vöröses ibolya színű.
2. **Kármin**: a természetes festékek közé tartozik, alumíniummal együtt használják magfestésre. Magfestésre savanyú oldatát használják.
3. **Fuxin**: a trifenilmetán származékok közé tartozik. **Savanyú fuxin**: (fuxin S, rubin S) kifejezetten savanyú festék, a fuxsin szulfátált formája. A mag bázikus fehérjeihez (hiszton) erősen kötődik. Magfestésre még számos festék használható, így neutrálvörös, safranin, kernechtrot, bismarck barna, gentiana ibolya, kresyl ibolya stb.

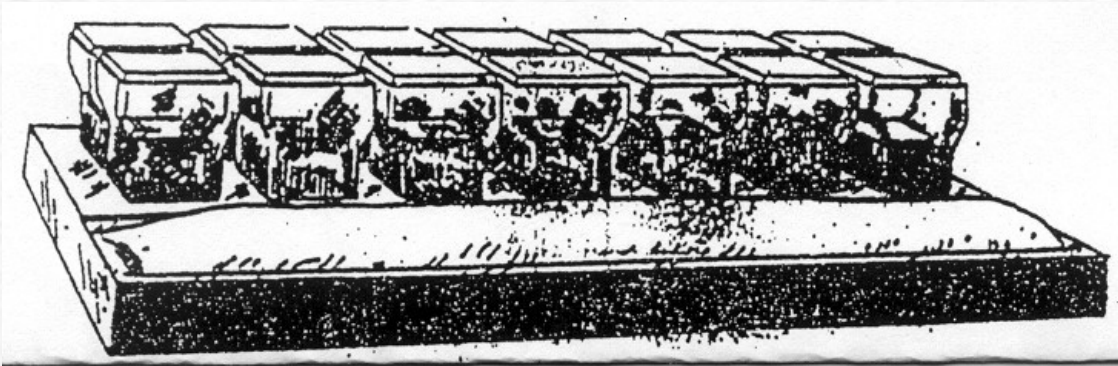
## Plazmafestő szerek

1. **Eozin Y**: leggyakrabban használt plazmafestő szer, a xantén származékok közé tartozik, ultraibolya fényben zöldesen fluoreszkál. Leggyakrabban a haematoxylin-eosin festésben használják.
2. **Orange G**: az azo-festékek csoportjába tartozó, erősen savanyú festék. Vízben jól oldódik, számos kombinált festés plazmafestője.
3. **Chromotrop 2R**: vizes, illetve alkohol oldatban plazma festésre használható. Szintén az azo festékekhez tartozik, savanyú festék. Plazmafestésre még számos festék alkalmazható: azoploxin, anilinkék, stb.

A plazma és a magfestőszeres együttes alkalmazásával végezzük az ún. kombinált festési eljárásokat, mikor is a mag és a plazma egymástól eltérő színben tüntethető fel. Számos esetben nemcsak két, hanem három, sőt több festéket használunk, s így a plazma és a mag feltüntetésén kívül más struktúrák (kötőszövet, idegrostok, stb.) is kimutathatók. A trikróm festések alapja, hogy a magfestők alkalmazása után két, egymástól eltérő diszperzitású festéket alkalmazunk.

## A metszetek kezelése festések előtt és után

A festéshez célszerű küvetta sorozatot készíteni.



A tárgylemezeket lapos végű csipesszel megfogva helyezzük el a küvettába. Az egyik küvettából a másikba való átvitelkor a lemezek alján összegyűlt folyadékot papírvattához érintve itassuk fel.

Leggyakrabban használt kettős festési eljárás a **hematoxin** - **eozin** festés:

### *I. Festékoldatok elkészítése*

#### *1. Azonnal használható hematoxin oldat*

10 ml 96 %-os alkoholban 1 g hematoxilint, 200 ml meleg desztillált vízben pedig 20 g timsót oldunk. A két oldatot az összeöntés után felforraljuk, 1/2 g hydrarg. oxid. flavumot adunk hozzá, mire az oldat megkékül. Az egyébként hosszadalmas érlelést ezzel mellőzhetjük. Gyors hűtés után az oldatot szűrjük.

#### *2. Eozin oldat*

A vízben oldódó eozinból 1%-os törzsoldatot készítünk. A törzsoldatot használat előtt tovább hígíthatjuk egészen 0,1%-osig.

#### *3. Sósavas alkohol differenciáláshoz*

100 ml 70%-os alkohol + 1 ml cc. sósav.

## II. A festés menete

Először a szükséges anyagokat a festőküvetába töltjük. A küvetákat jelzéssel látjuk el és sorba

állítjuk a használat sorrendjében.

1	Xilol	4-5 perc	Deparaffinálás
2	Absz. alkohol	2-3 perc	Xilol kimosása
3	96%-os alkohol	2-3 perc	Alkohol eltávolítása
4	70%-os alkohol	2-3 perc	Alkohol eltávolítása
5	Deszt. víz	2-3 perc	Alkohol eltávolítása
6	Hematoxin oldat	5-10 perc	Magfestés
7	Deszt. vizes öblítés	1-2 perc	A festék lemosása
8	Kútvíz.	5-30 perc	Magfestés fokozása (oxidálás)
9	Esetleg differenciálás sósavas alkohollal	1-2 perc	Utána mosás többször váltott másodpercig kútvízben 10 percig.
10	Deszt. vizes öblítés	1-2 perc	Kútvíz leöblítése
11	Eozin oldat	1-2 perc	Plazmafestés
12	Deszt. víz	1-2 perc	Plazmafestés differenciálása
13	70%-os alkohol	1-2 perc	Víztelenítés
14	96%-os absz. alkohol	1-2 perc	Víztelenítés
15	Absz. alkohol	3-4 perc	Víztelenítés
16	Xilol (esetleg két fokozatban)	3-4 perc	Felderítés

## XI. A metszetek lefedése és címkézése

Derítés után, festés végén a xiloból kivett tárgylemezt kendővel letöröljük és a metszetet egyik széléhez vékony üvegbottal leggyakrabban kanadabalzsamot cseppentünk. A csepp szabad oldalához megfelelő nagyságú, ferdén tartott fedőlemezt húzunk (míg annak mentén a balzsam szétfut). Ezután a lemez felső szélét bonctűvel megtámasztjuk, majd tű segítségével lassan a metszetre bocsátjuk. A dumárlakk is használható lefedésre, mely gyorsabban szilárdul. Ismertek

szintetikus műgyanták is, ilyen pl.: a cedax. Glicerines felderítés után ajánlott a glicerin - zselatin keverék is (zselatin + glicerin + fenol + deszt. víz keveréke).

**A címkére kerüljön fel:**

A vizsgálandó szerv neve;

Az állat latin neve;

A festési eljárás;

A készítés időpontja;

Ajánlott még: a rögzítés módja, preparátor neve, konkrét speciális megjegyzés.

---