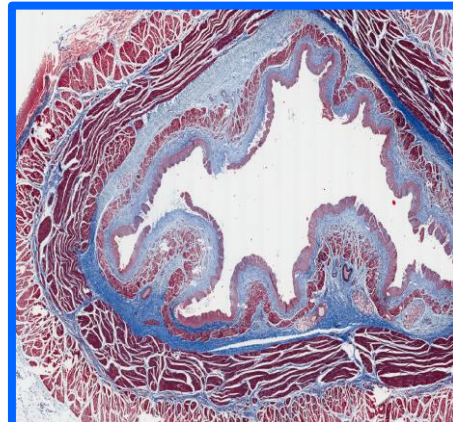
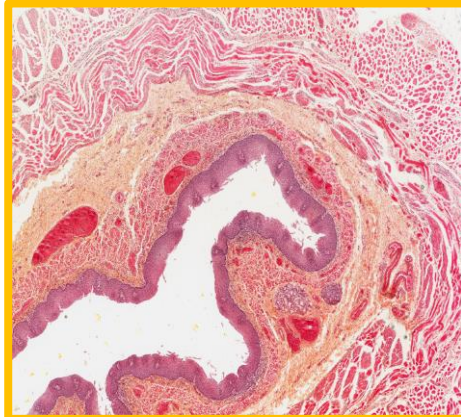


Základní barvicí metody v histologii

Práce se světelným mikroskopem



BARVENÍ

- zviditelnění struktur v řezu – buňka a její součásti vykazují afinitu k barvivům dvou skupin:
 - zásaditá /bazická/ barviva („jaderná“) – reagují s kyselými strukturami buněk a tkání (NK v jádře aj.)
 - ➡ **bazofilie** – bazofilní struktury
 - kyselá barviva („cytoplazmatická“) – reakce se zásaditými strukturami
 - ➡ **acidofilie** – acidofilní struktury v buňce
- chromofilní = chromatofilní/ x chromofobní
- polychromatofilní – afinita k oběma druhům barviv

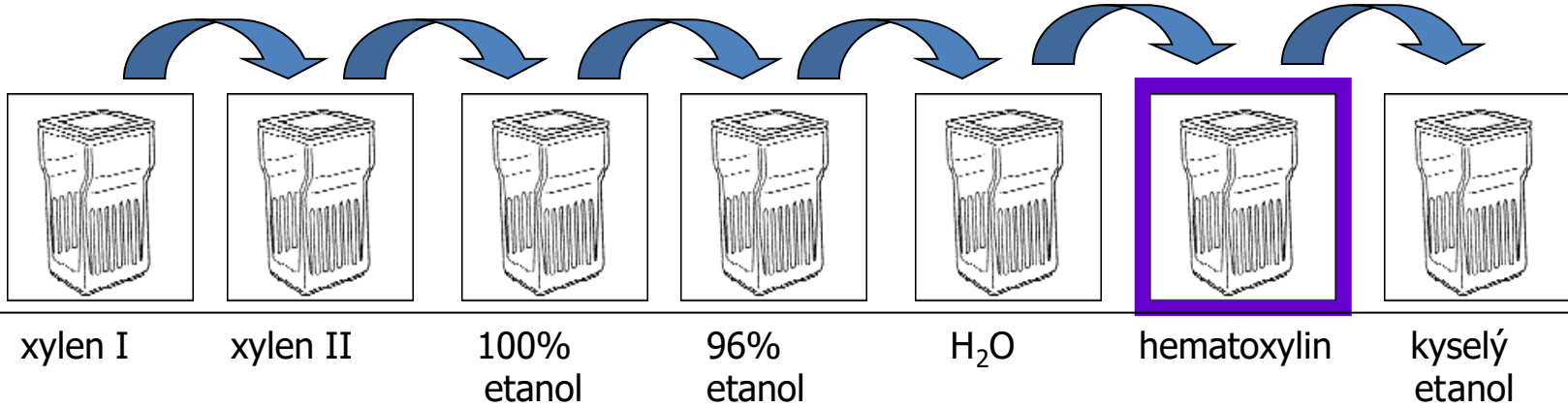
HEMATOXYLIN – EOSIN (HE)

deparafinace

rehydratace praní

barvení

diferenciace



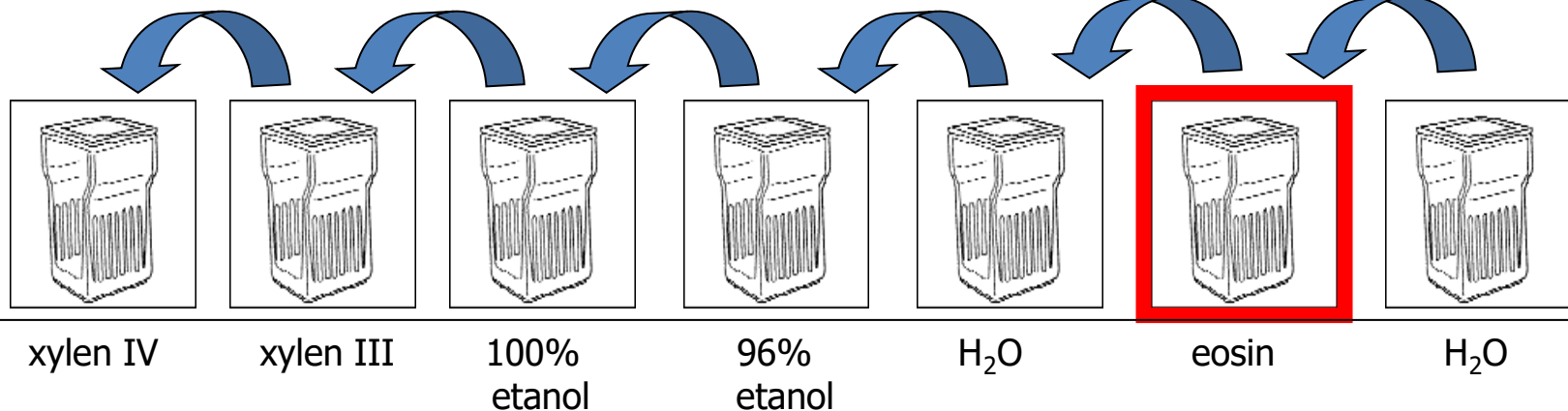
projasnění

dehydratace

praní

barvení

praní



RUTINNÍ BARVENÍ

HEMATOXYLIN – EOSIN (HE)

Hematoxylin – zásaditý

Eosin – kyselý



Postup:

- Odstranění parafinu xylenem
- Rehydratace „sestupnou“ řadou alkoholů (100% → 96% → 80%)
- Barvení hematoxylinem ⇒ jádra - **modro-fialová**
- Diferenciace kys. alkoholem a vodou (odstranění přebytku barviva)
- Barvení eosinem ⇒ **růžová** - cytoplazma, vazivo, svaly
- Praní ve vodě (odstranění přebytku barviva)
- Dehydratace „vzestupnou“ řadou alkoholů (80% → 96%)
- Projasnění v xylenu

Barvicí automat



řada boxů (kyvet) s barvicími médii

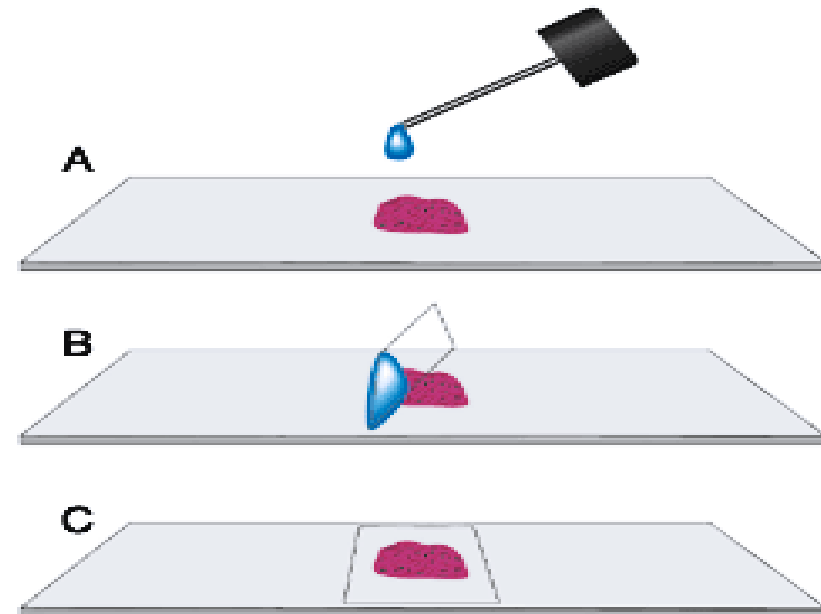
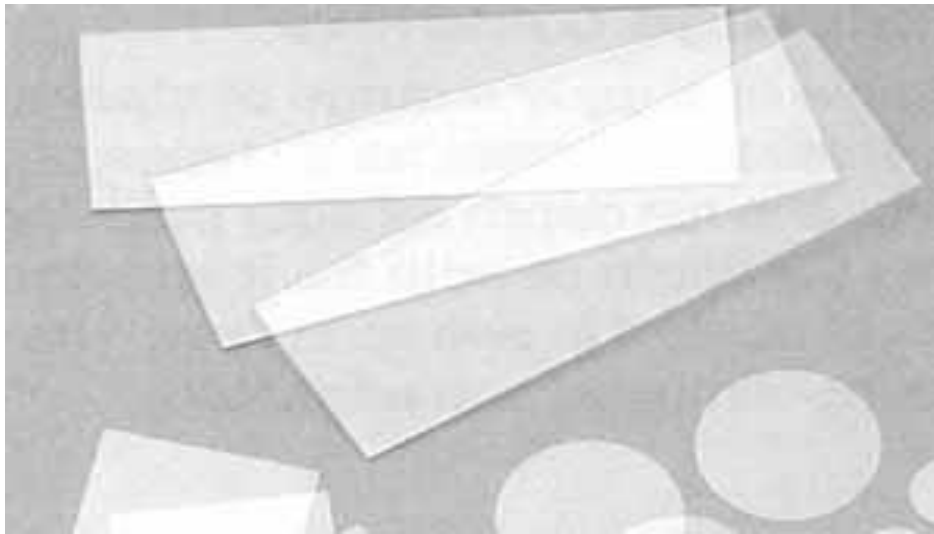


TYPY BARVENÍ

- rutinní, přehledná – HE, AZAN (demonstrují všechny zákl. složky)
- speciální – vizualizace vybraných struktur
 - Massonovy trichromy: žlutý - HEŠ, modrý - AZAN, zelený trichrom (kolag.vlákná)
 - orcein, aldehydový fuchsin (elast.vlákná) aj.
- impregnační – AgNO₃ (nervová nebo retikulární vlákná)

MONTOVÁNÍ

- uzavření preparátu – kapkou montovacího media a krycím sklíčkem \Rightarrow trvalý preparát

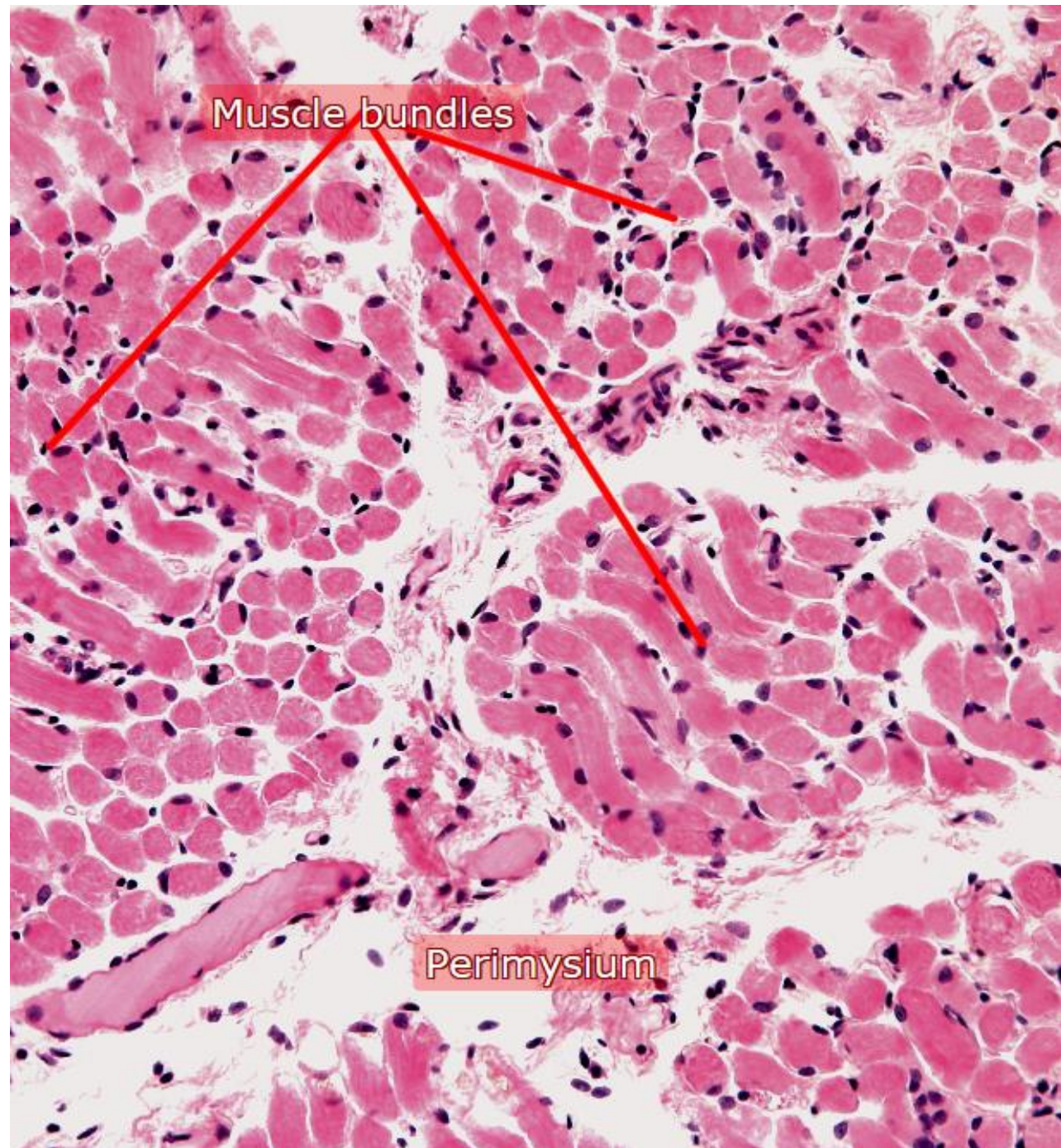


- rozpustná v xylenu – kanadský balzám
- rozpustná ve vodě – glycerin-želatina, arabská guma

Hematoxylin Eosin (HE)

Výsledek barvení:

jádra buněk – modrofialová
cytoplazma – růžová
kolagenní vlákna – růžová
svalové buňky – červené



2 – Apex linguae (HE)

Hematoxylin

Eosin

Šafrán

(HEŠ)

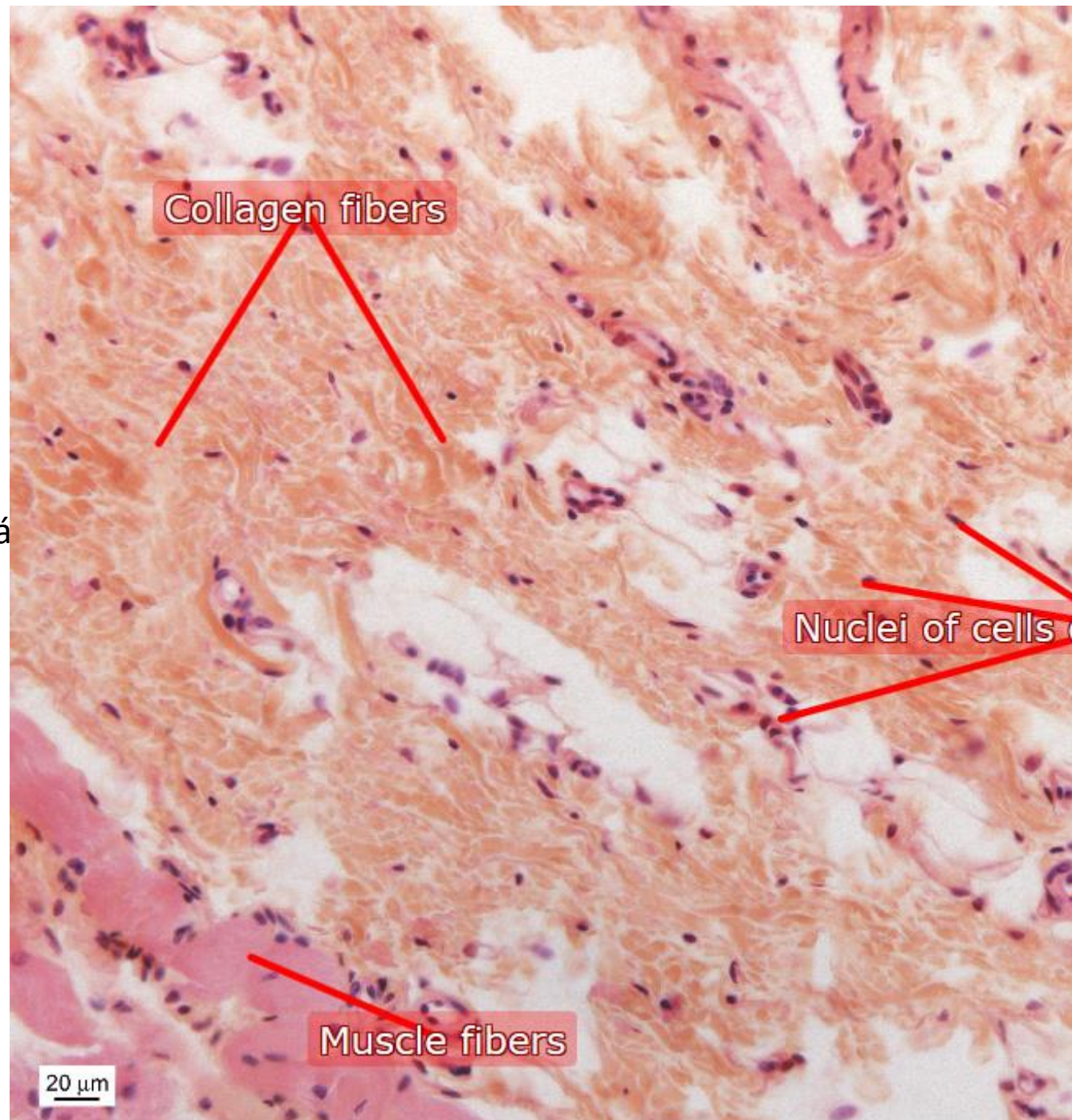
Výsledek barvení:

jádra buněk – modrofialová
cytoplazma – růžová
kolagenní vlákna – žlutá



žlutý Massonův trichrom

11 – Oesophagus (HES)



Azokarmin
Aniline blue
Orange G
(AZAN)

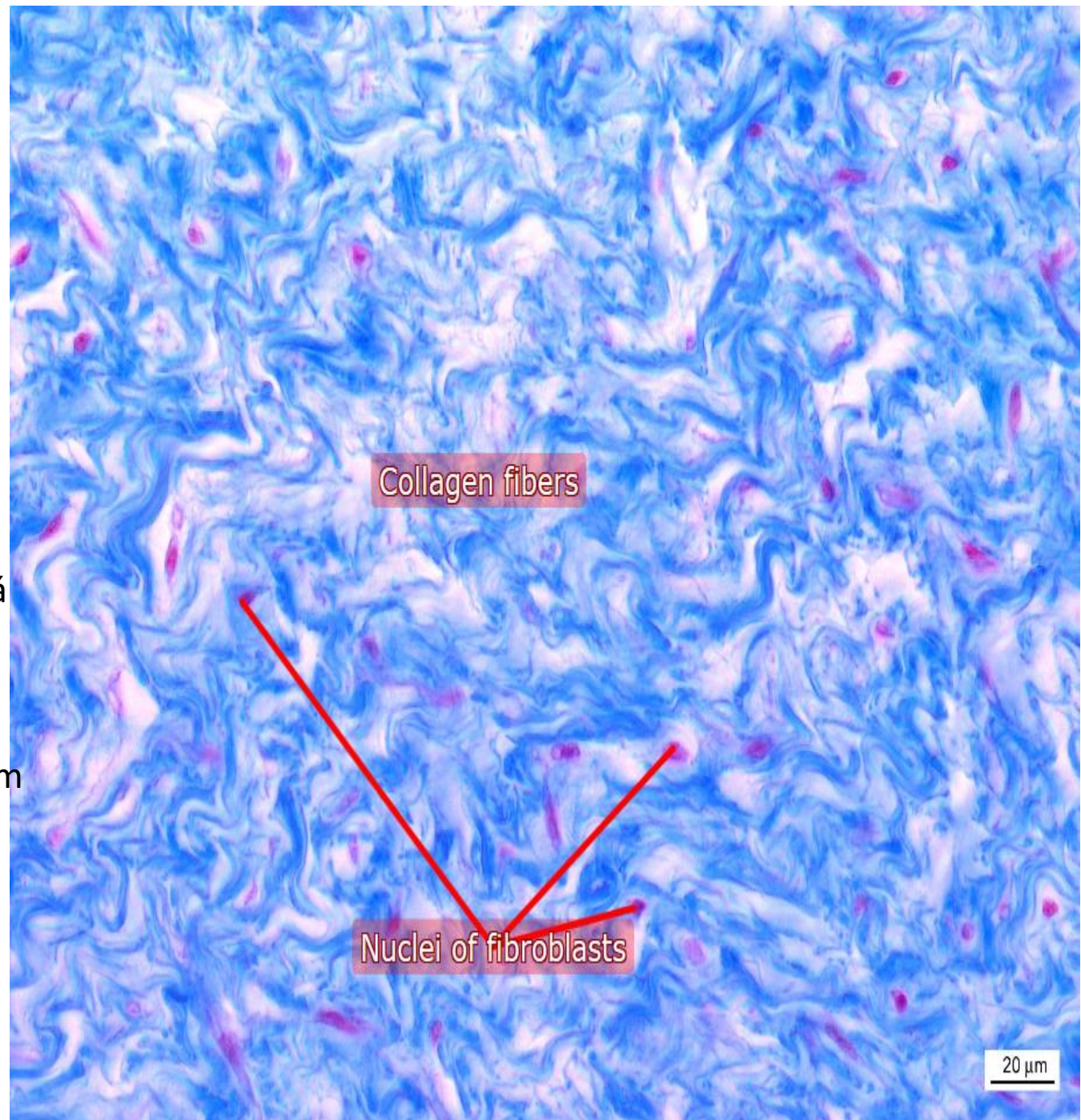
Výsledek barvení:

jádra buněk – purpurová
cytoplazma – růžová
kolagenní vlákna – modrá
erythrocyty – oranžové



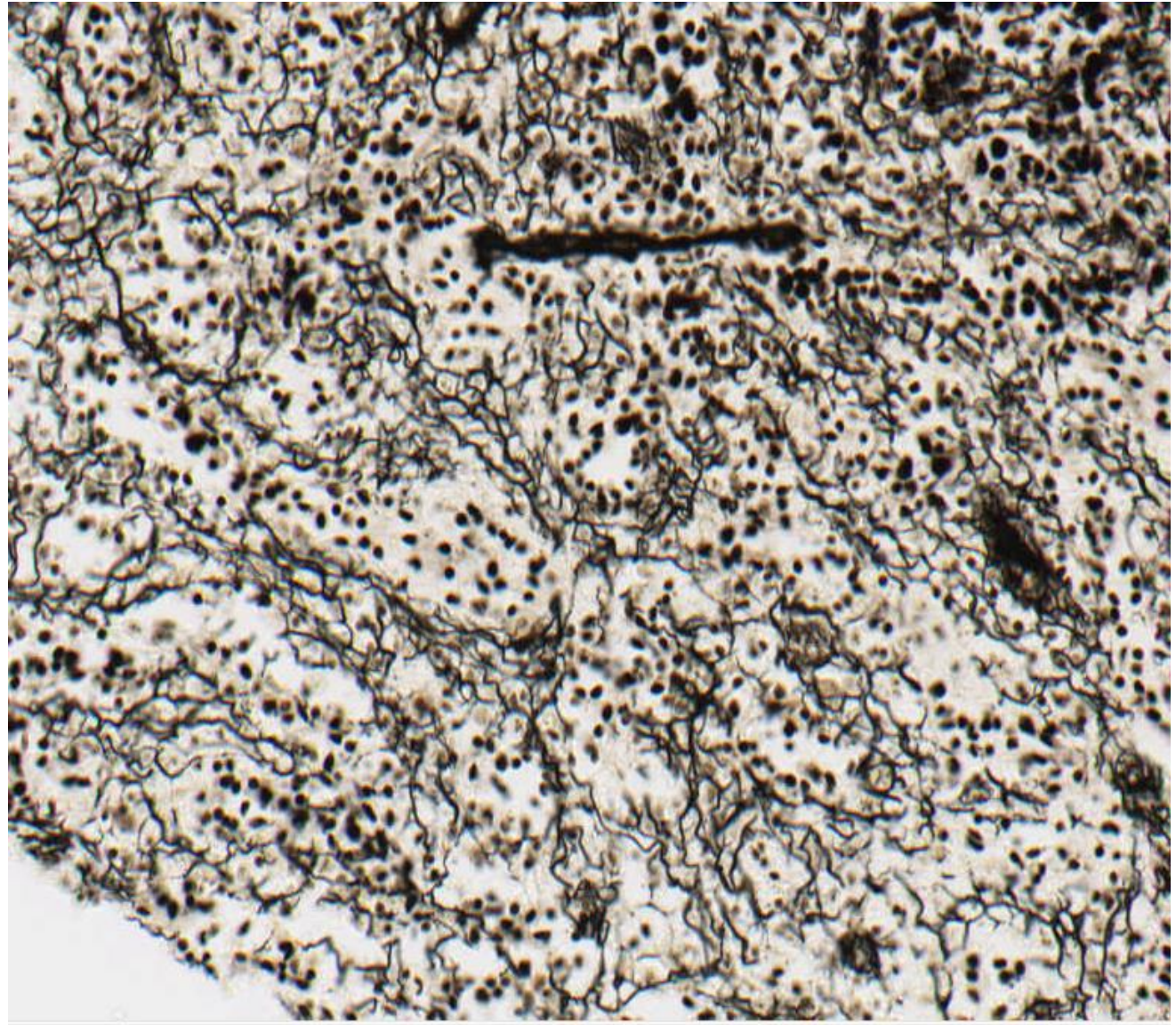
modrý Massonův trichrom

99 – Pupečník (AZAN)



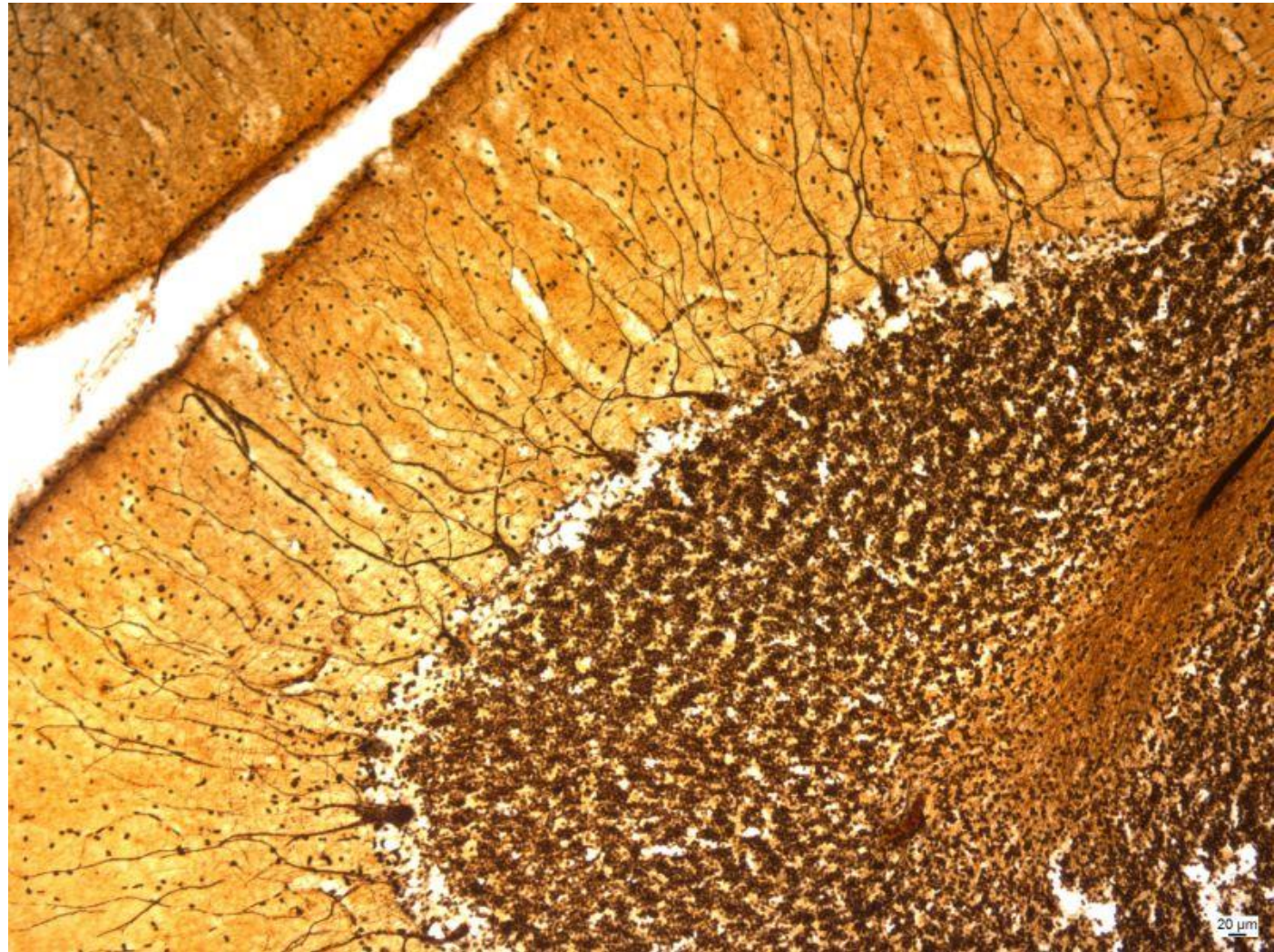
Impregnace s AgNO₃

Prep 68 – lien
Barvení – **impregnace**
Výsledek – **černá**
retikulární vlákna



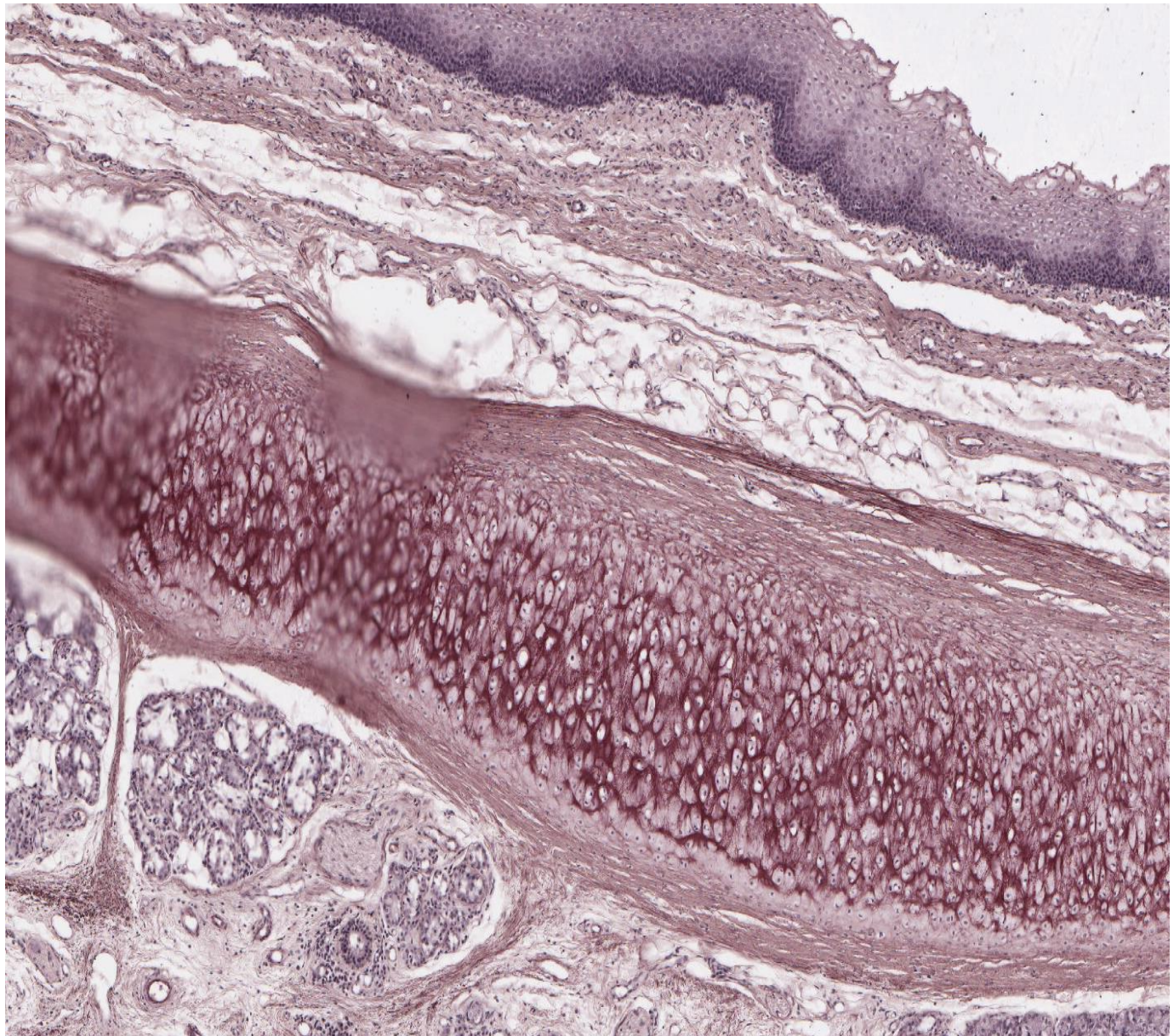
Impregnace s AgNO₃

Prep 77 – cerebellum
Barvení – **impregnace**
Výsledek – **černá**
nervová vlákna



Orcein

Prep. 28 – elastická
chrupavka
Barvení – **orcein**
Výsledek – purpurová
elastická vlákna

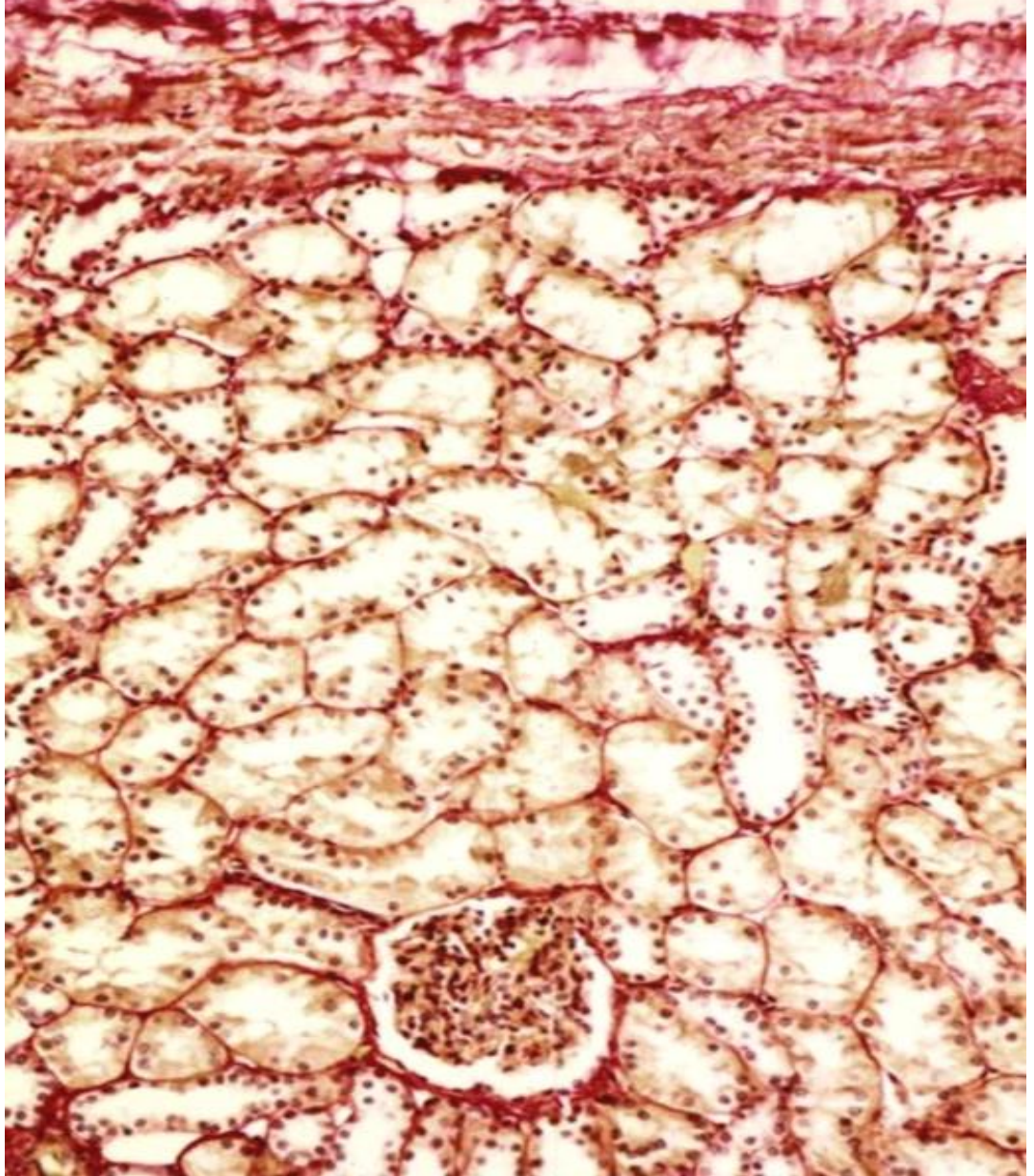


Weigert-van Giesson

Prep. 31 – kůra ledviny

Barvení – **Weigert-van Giesson**

Výsledek – **třešňově červená
kolagenní vlákna**

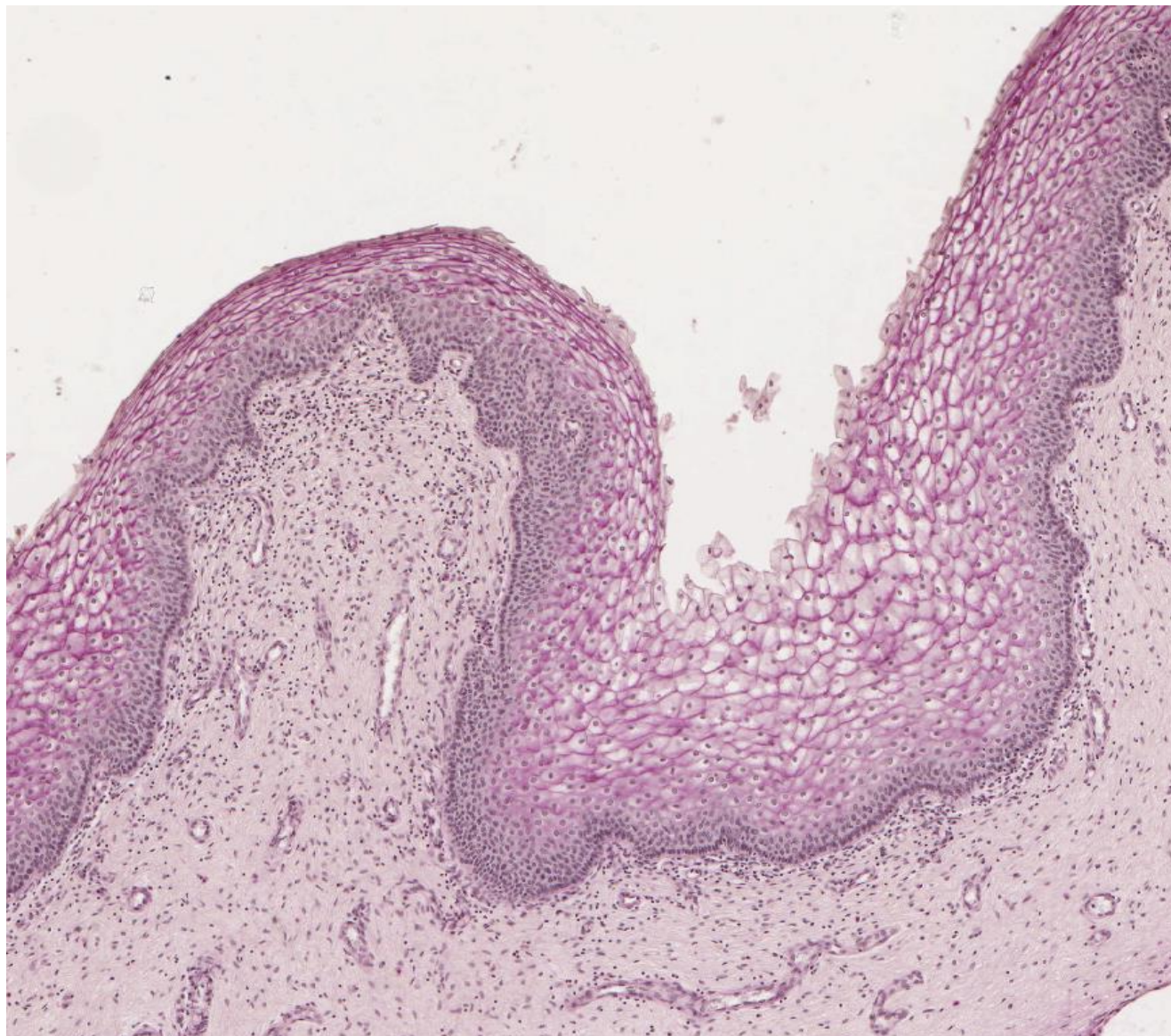


Bestův karmín

Prep. 49 – vagina -
glykogen

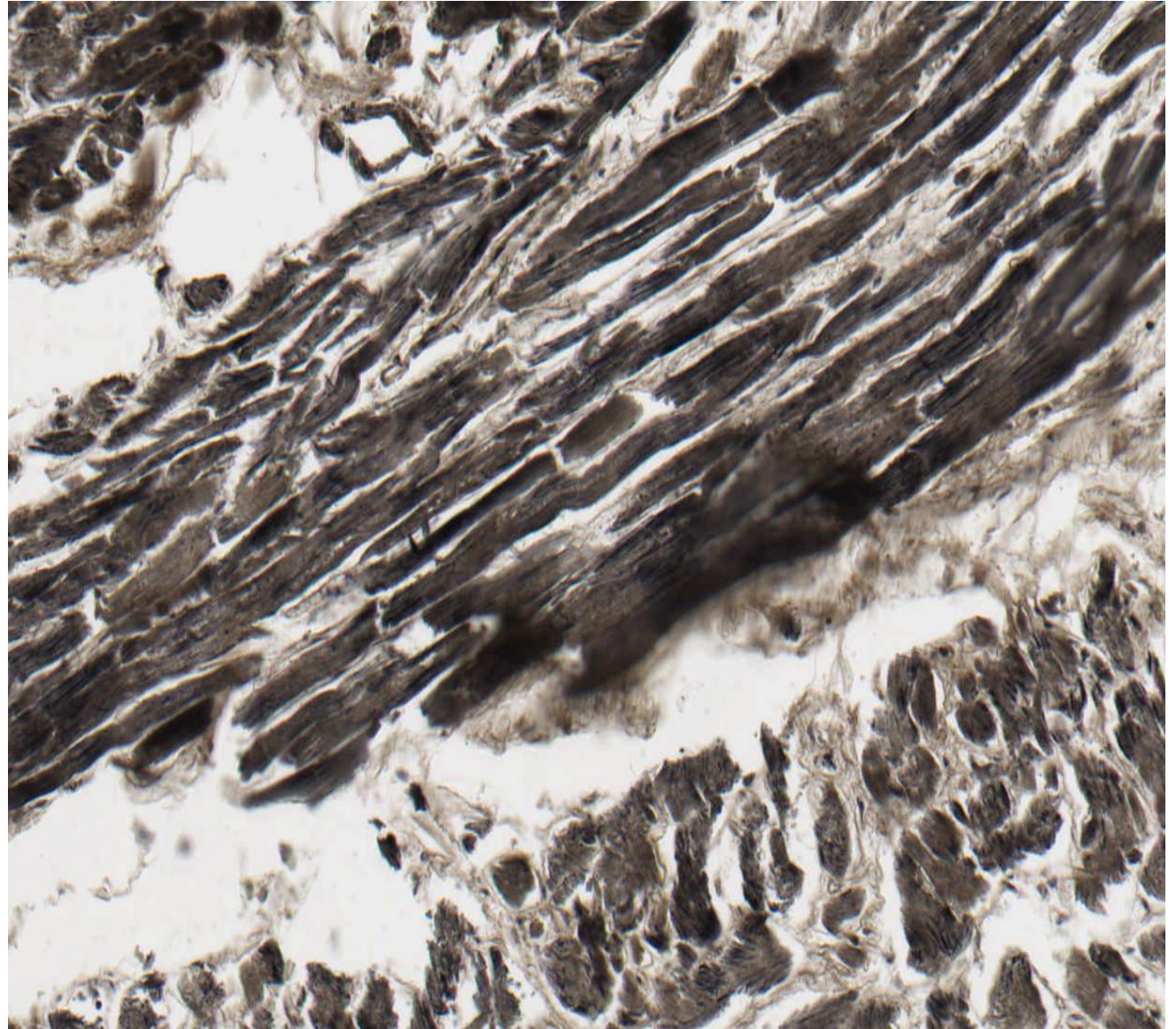
Barvení – **Bestův karmín**

Výsledek – **tmavě
růžový glykogen**



Heidenhain

Prep. 65 – myokard
Barvení – **Heidenhain**
Výsledek – **černé**
kardiomyocyty (příčné
žíhání)

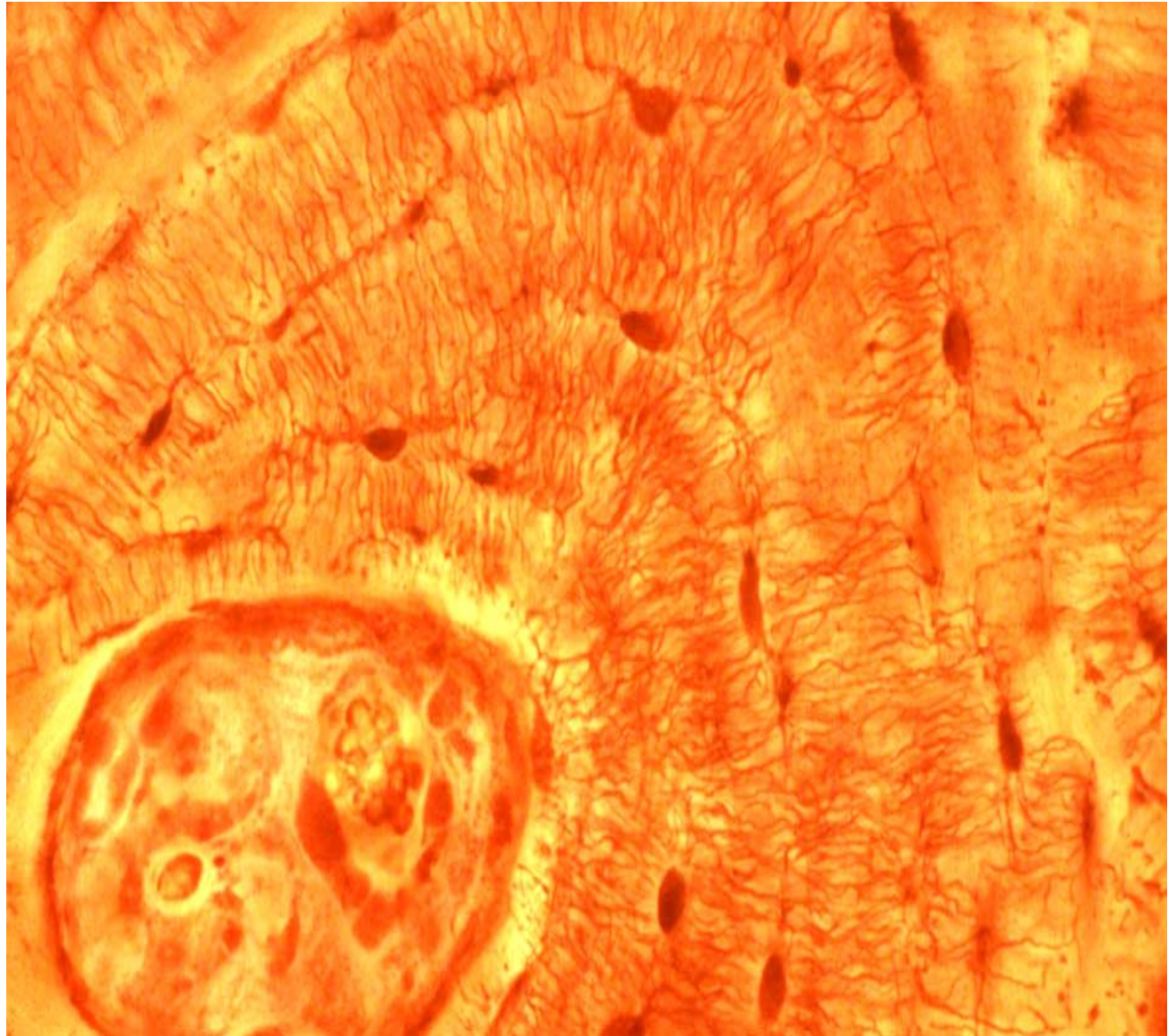


Schmorl

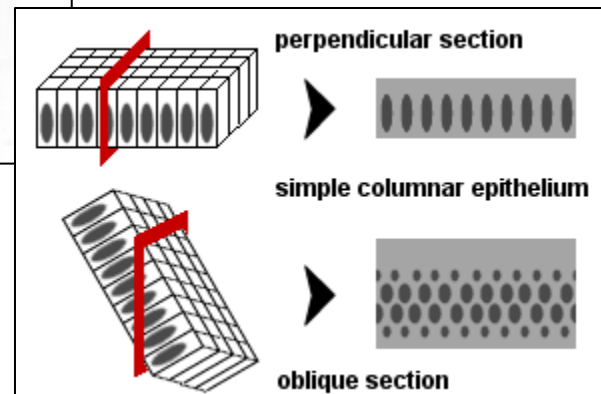
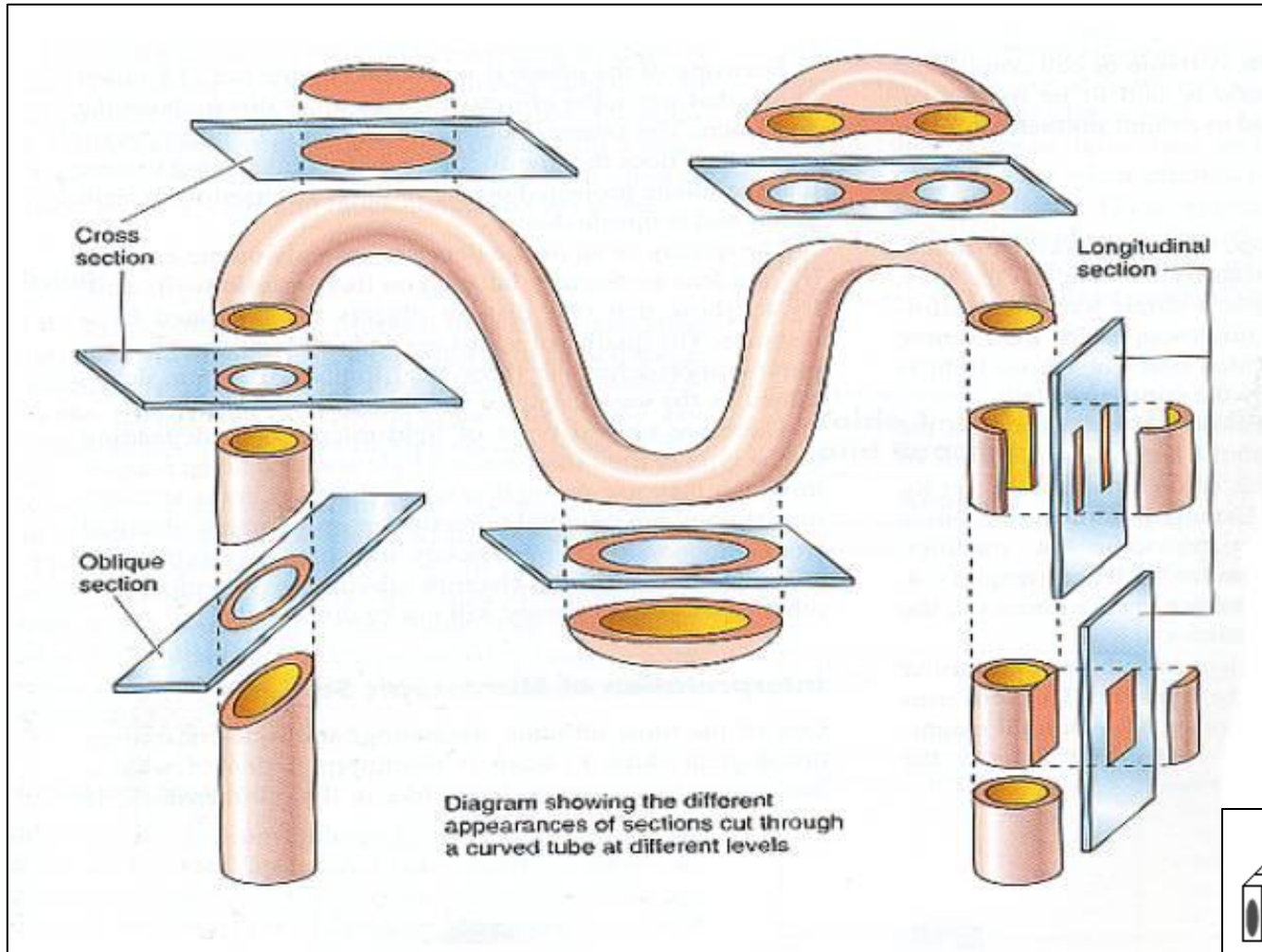
Prep. 95 – kost

Barvení – **Schmorl**

Výsledek – **rezavě hnědá
kostní tkáň**



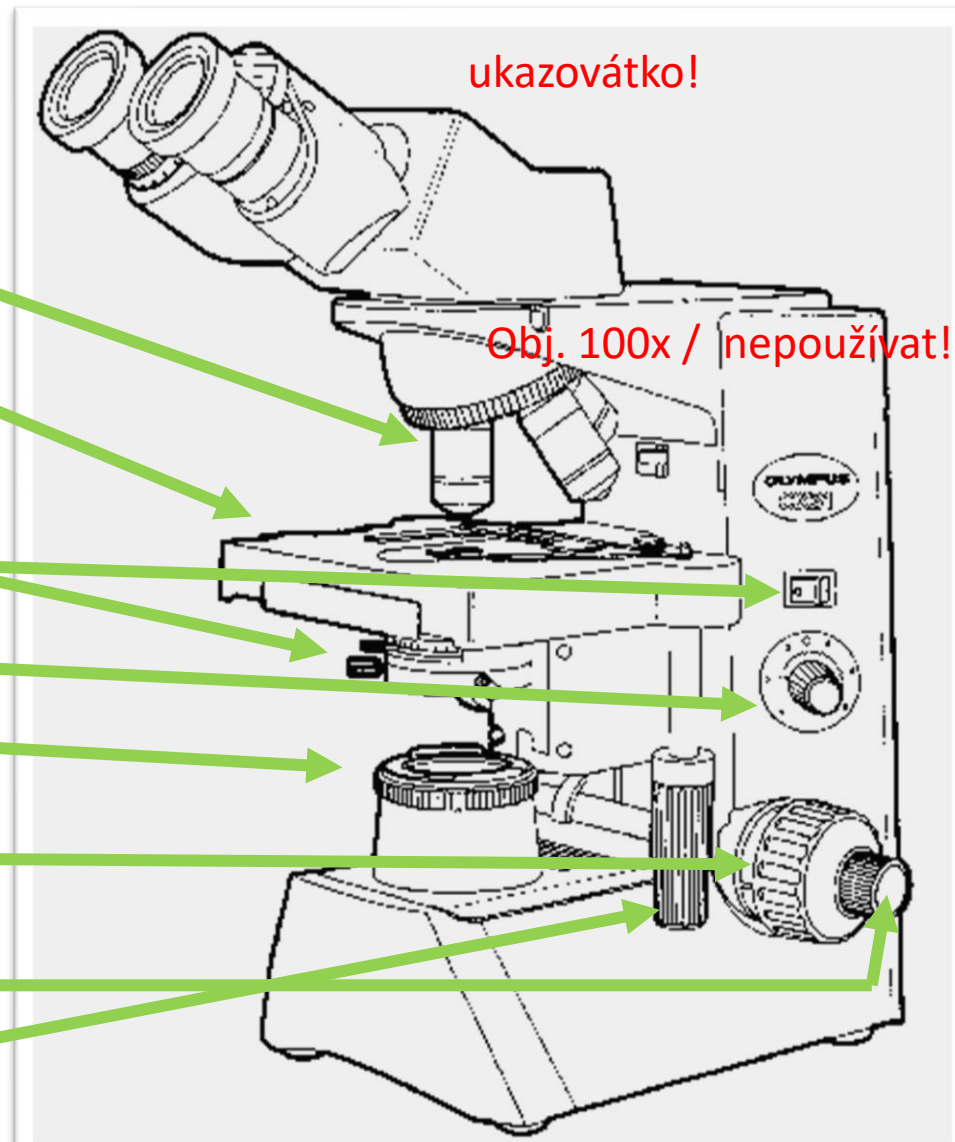
ZOBRAZENÍ 3D ÚTVARŮ V 2D ROVINĚ ŘEZU



Světelný mikroskop

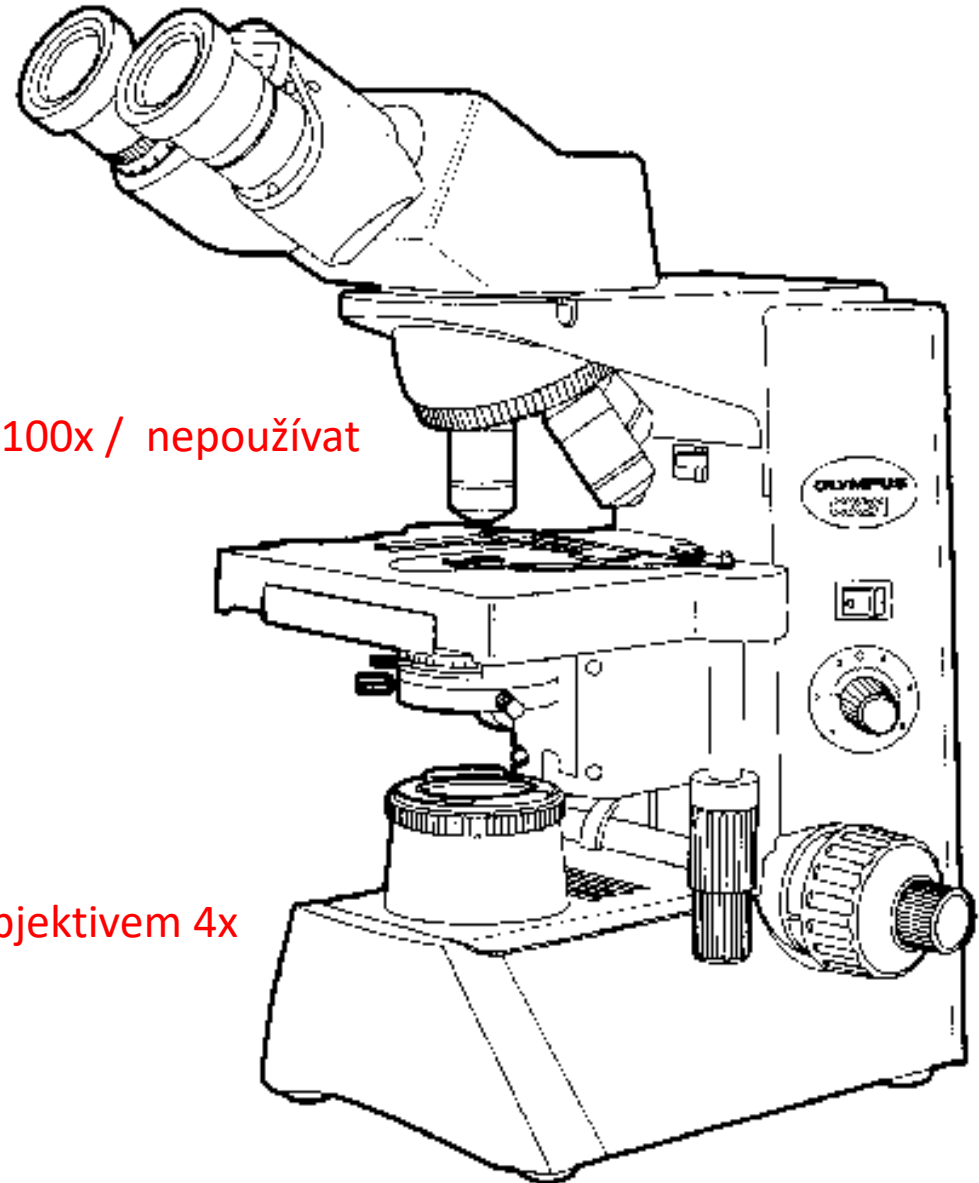
Orientace preparátu krycím sklem nahoru.

- okuláry
- objektivy s čočkami
4x, 10x, 40x, imerzní obj. – 100x
- stolek s preparátem
+pérko k fixaci preparátu na stolku
- clona
- on/off
- regulace intenzity světla
- zdroj světla
- makrošroub - ostřit jen s
objektivem 4x
- mikrošroub
- posun preparátu



Světelný mikroskop

- okuláry ukazovátko!
- objektivy s čočkami
- stolek s preparátem
+pérko k fixaci preparátu na stolku
- clona obj. 100x / nepoužívat
- on/off
- regulace intenzity světla
- zdroj světla
- makrošroub - ostřit jen s objektivem 4x
- mikrošroub
- posun preparátu



Instrukce

- Zapněte světlo.
- **Začněte s objektivem 4x.**
- Položte preparát na stolek mikroskopu – krycím sklíčkem nahoru.
- Pohlédněte do mikroskopu a zaostřete. Použijte hrubé zaostření a jakmile je obraz víceméně vidět, použijte jemné ostření obrazu.
- Seřid'te světlo.
- Seřid'te okuláry.
- Přepněte na objektiv 10x. K zaostření obrazu by měl stačit šroub pro jemné ostření. Pokud ztratíte obraz, vra'tte se k objektivu 4x a začněte znovu.
- Chcete-li vidět detailní obraz, přepněte na objektiv 40x.
- **Objektiv 100x nepoužívejte!**
- Chcete-li studovat další preparát, přepněte zpět na obj. 4x před výměnou preparátu.
- V každém okamžiku během praktika může být vyjmut **pouze jeden preparát**. NE víc!
- Po skončení práce s mikroskopem (na konci praktika), nastavte objektiv 4x ztlumte intenzitu osvětlení, zhasněte světlo, přikryjte mikroskop obalem.
- Na konci praktika bude krabice s preparáty zkontrolována za přítomnosti studenta, který s ní pracoval. Teprve pak může student opustit pracovní místo.

PRAVIDLA PRO ZACHÁZENÍ S PREPARÁTY

- 1. *Na začátku*** každého praktika zkontrolujte sadu preparátů a zjištěné závady (např. chybějící nebo rozbitý preparát) oznamte učiteli.
- Z krabice lze vyjmout vždy pouze jeden preparát!
- Preparát na stolku mikroskopu musí být vždy orientován krycím sklíčkem nahoru, tj. proti čočce objektivu.
- Při manipulaci s preparáty buďte maximálně opatrní; v případě poškození preparátu informujte učitele.
- 5. *Na konci*** každého praktika nechte krabici s preparáty otevřenou ke kontrole, během níž musí student zůstat na svém pracovním místě.

