

Příprava trvalých histologických preparátů:

1. Odběr: biopsie, tkáňový bloček max. 1 cm³

2. Fixace – podstata – denaturace proteinů, tak aby struktura tkáně zůstala zachována. Bloček se vloží do fixačního činidla co nejdříve po odběru, fixační tekutina musí mít ke tkáni přístup ze všech stran a má ji být asi 20x více než je objem bločku. Doba fixace závisí na teplotě, velikosti bločku, vlastnostech tkáně, typu fixačního činidla. Nejčastěji používaná fixační činidla: formaldehyd, etylalkohol, ledová kyselina octová, kyselina trichloroctová

3. Vypírání – voda nebo alkohol, cílem je odstranit zbytky fixačního činidla a tím zamezit pokračování fixace

4. Zalévání – cílem je zalít bloček do pevné a přitom krájitelné hmoty, nejčastěji parafin, nebo celoidin, které jsou ve vodě nerozpustné nebo želatina, která je ve vodě rozpustná. V případě těch nerozpustných, což je častější se musí tkáň nejprve zbavit vody a potom zalévat do média. Pokud by voda v tkáni zůstala, nemohlo by zalévací médium tkáň prostoupit.

Pro příklad uvedeme postup při zalévání do parafinu, tedy ve vodě nerozpustného média. Je nutné provést:

- Odvodnění se provádí tzv. vzestupnou alkoholovou řadou, kdy se bloček postupně ponořuje do 50%, 80% a absolutního alkoholu.
- Prosyčení tkáně benzenem (benzen se mísí s alkoholem a současně rozpouští parafin)
- Prosyčení tkáně parafinem a vlastní zalití do parafinu

5. Krájení zalitých tkáňových bločků – mikrotomy sáňkové nebo rotační, získáme řezy, ty umístíme na podložní sklíčko a všechny další procedury se už provádí na řezy, který je pevně přilnutý na podložní sklíčko. Jsou to tyto kroky:

6. Odparfinování provádí se podstatě v opačném sledu jako zalévání do parafinu. Tedy parafin se rozpustí xylenem a potom sestupnou alkoholovou řadou preparát vlastně zavodníme. To je nutné z toho důvodu, že barviva používaná v následujícím kroku v naprosté většině vodné roztoky.

7. Barvení: většina postupů je empiricky vypracovaných. Příklad: barvení hematoxylin – eozin. Eozin je kyselé barvivo, barví cytoplasmu, hematoxylin je bazický, barví jádro. Další příklady barvení: Azan, impregnace solemi stříbra apod.

8. Uzavírání obarvených řezů: řez se „montuje“ mezi podložní a krycí sklíčko. Procedura barvení probíhala na podložním sklíčku, uzavírání tedy znamená, že se nahoru přiloží krycí sklíčko a upevní nejčastěji pomocí kanadského balzámu. Předtím je nutno řez odvodnit, protože kanadský balzám se nemísí s vodou a barvení probíhalo ve vodném prostředí, potom projasnit xylenem a uzavřít do kanadského balzámu.