

SAĞLIK HİZMETLERİ MESLEK YÜKSEKOKULU



PATOLOJİ LABORATUVAR TEKNİKLERİ PROGRAMI

PLT113-GENEL HİSTOTEKNOLOJİ-I

Öğretim Görevlisi Dr. Nurhan ÇON

Dondurma (Frozen) Kesit Teknikleri ve Selloidin Metodu

PLT113-GENEL HİSTOTEKNOLOJİ-I

Hafta-11



Frozen Kesit ve İntraoperatif Konsültasyon

Rutin histopatolojik işlemlerin sağlıklı olarak yapılabilmesi için genellikle en az 10-15 saatlik bir süreye gereksinim vardır.

Oysa, ameliyat sırasında ameliyatın gidişini değiştirebilecek bir durum olduğunda dakikalar içinde verilecek bir tanıya ihtiyaç duyulabilir.

Anestezi süresini uzatmamaya ve yeniden ameliyat ihtiyacına engel olmaya yönelik, hızla patolojik değerlendirmeye imkan veren frozen kesite hastanelerde sıkça başvurulmaktadır.



Ayrıca;

- *immunohistokimyasal çalışmalarda,

- *enzim çalışmalarında ve

- *özellikle rutin doku işlenmesi esnasında kaybolan lipid ile bazı karbonhidratların saptanmasında taze doku hazırlanması gereken durumlarda da frozen ile kesit hazırlanmalıdır.



Frozen Kesit ve İntraoperatif Konsültasyon

Bu yöntem, dokuların istenilen incelikte kesilebilmeleri için dondurulmaları temeline dayanır.

Özel bir cihazla dokular -20°C sıcaklıkta kesilir ve hazırlanan kesitler hızlandırılmış yöntemle boyanırlar.

Patolog, bu kesitleri inceleyerek vardığı sonucu ameliyatı yapan cerraha bildirir.



Frozen Kesit ve İntraoperatif Konsültasyon

Dondurarak kesme yöntemiyle hazırlanan kesitlerin değerlendirilmesi güçtür ve ancak deneyimli patoloğlar tarafından yapılabilir.

Cerrahlar patoloğlardan “intraoperatif histolojik inceleme” istediklerinde, hasta hakkındaki tüm önemli bilgileri de sunmalıdır.

İletişim eksikliği, istenilen verimin alınmasını engeller ve bu uygulamanın hastaya zarar vermesine bile yol açabilir.



Frozen Materyallerin Kabul Kriterleri

- Frozen çalışılacağı klinik hekim tarafından tercihen 1 gün önce patoloji uzmanına veya laboratuvara bildirilir.
- Materyal herhangi bir tespit solüsyonuna konulmadan, gazlı bez ya da uygun kap içerisinde gönderilmelidir.
- Materyalin yanında istek formu bulunmalıdır.



Frozen Materyallerin Kabul Kriterleri

- Doku acilen makroskopik değerlendirmeye alınırken, sekreter tarafından bilgisayar kaydı yapılır ve biyopsi numarası verilir.
- Biyopsi numarası frozen inceleme dahil tüm laboratuvar süreçlerinde değiştirilmeden kullanılır.
- Lezyon içeren parçadan kesitler alınarak frozen cihazına konur.



Frozen Materyallerin Kabul Kriterleri

- Donma, kesit ve boyama işlemleri tamamlandıktan sonra mikroskopik incelemeye geçirilir.
- Mikroskopik inceleme sonrasında sonuç ortalama 20 dk içinde hastanın operasyonundaki hekime telefonla sözel olarak bildirilir.
- Parafin blok çalışması ile birlikte frozen lamları tekrar değerlendirilir.



Frozen Red Kriterleri

	Tespit solüsyonu içinde gönderilen materyal
	HİV pozitif olgulardan alınan biyopsi örnekleri
	Aktif tüberkülozlu olgulardan alınan biyopsi örnekleri
	Kimden alındığı bilinmeyen, sahibi belirsiz materyaller
	Ameliyat seyrini değiştirmeyecek olgulardan alınan biyopsiler



Frozen Kesit

- Frozen kesitler, kriyostat (dondurma mikrotomu) kullanılarak hazırlanır.
- Kriyostat; mikrotom, bıçak tutucu ve örnekleri donduran kısımdan oluşan, düşük ısı sağlayan bir cihazdır.
- Kriyostatın çalışma sıcaklığı 0 ile -35°C arasındadır.
- -35°C 'den daha düşük sıcaklık gerektiğinde, likit nitrojen gibi kriyojenler kullanılmalıdır.



Frozen Kesit

- Gelen numuneden lezyonun görüldüğü kısım seçilip bir parça hazırlanır.
- Mümkün olduğunca yağlı ve kalsifiye dokulardan kaçınmak gerekir.
- Kesit $2\text{ cm} \times 2\text{ cm} \times 2\text{ mm}$ 'den daha büyük olmamalıdır.
- Doku içerisinde buz kristalleri oluşmasını önlemek için ıslak dokular nazıkçe



Frozen Kesit

- Hazırlanan doku parçası (küçük dokularda dokunun tamamı) frozen paletinin üzerine konur.
- Kesit alınırken düzgün yüzey sağlaması ve dondurmayı kolaylaştırması amacıyla doku paleti üzerine, önce jel kıvamında özel bir vasat eklenir.
- Cihazın kapağı kapatılarak dokunun donması için ortalama 5-6 dk beklenir.



- Bu şekilde doku örneği aynı zamanda tespit edildiğinden ayrıca bir histolojik işleme gerek kalmamaktadır.
- Aynı aletin içinde bir mikrotom da vardır ve mikrotomun kolu aletin dışındadır. Kesit alma işlemi diğer doku mikrotomlarında olduğu gibi elle veya otomatik de olabilir.
- Kesit kalınlığını ve alet içerisindeki bölümlerin farklı derecelerde soğutulmasını sağlayan sistemleri ve elektronik göstergeleri vardır.
- Dondurularak tespit edilen örneğin içindeki su donacak ve örnek, kesit almak için uygun sertliğe ulaşacaktır.



Frozen Kesit

- Donma işlemi tamamlandıktan sonra doku üzerindeki fazla vasatın alınması için yaklaşık 25-30 mikron ile tıraşlama yapılır.
- Düzgün yüzey elde edildikten sonra 10-12 mikron kalınlıkta kesilerek ortalama 2 kesit lam ve/veya lamlara alınır.
- Bütün bu işlemler sırasında cihazın kapağı kapalı olmalıdır. Aksi takdirde cihazın iç ısı yükselir ve işlemin süresi uzar.



Boyama İşlemi

- ✓ Lamlar alkol serilerine hızlıca batırılıp çıkarılır.
- ✓ Suda yıkanır.
- ✓ Hemotoksilende 1 dk bekletilir.
- ✓ Suda yıkanır.
- ✓ Amonyaklı suya 2-3 kez batırılıp çıkarılır.
- ✓ Suda yıkanır.
- ✓ Eozinde 10-20 sn bekletilir.
- ✓ Suda yıkanır.
- ✓ Alkol serilerinden geçirilir.
- ✓ Kurutulup ksilene konur.
- ✓ Lamlar kapatılır.



Bu işlem
yaklaşık 5 dk
sürer.



Frozen İnceleme

- Uzman patolog ışık mikroskopunda en kısa sürede değerlendirme yaptıktan sonra materyali gönderen hekime telefonla bildirir.
- Sonuç bildirilen hekimin ismi, materyal geliş ve sonuç verme saati patoloji istek kağıdına ve protokol defterine kayıt edilir.



Frozen İnceleme

- Sonuç verme süresi optimal şartlarda 15-20 dakika arasında değişmektedir.
- Ancak aynı zaman diliminde birden fazla intraoperatif konsültasyon istendiğinde, her materyalden 2-3 örnek alınması gerektiğinde ya da yağlı dokularda donma daha uzun sürede tamamlandığından bu süre uzayabilmektedir.



Frozen İnceleme

- Sonuç bildirildikten sonra palet üzerindeki doku, frozen materyalinin protokol numarası ve FA (frozen artığı) ibaresi yazılmış kasete konarak tespit solüsyonuna atılır.
- Rutin işleme sokulur.
- İncelenen frozen ve frozen artığı lamaları rapor yazıldıktan sonra preparat arşivinde saklanır.



Selloidin Metodu

- Bazen ısıtılmış parafin ile doku hasar görebilir ve oda sıcaklığında gömme işlemi yapılması gerebilir. Böyle bir durumda selloidin uygun bir alternatif olabilir.



Selloidin Metodu

- Avantajları:
 - Hiçbir işlem basamağında ısı gerektirmez.
 - Sert dokulara destek oluşturan bir katılık sağlar.
 - Katmanların birbiriyle olan ilişkisini korurken, aynı kalınlığa sahip sert ve yumuşak dokuların birlikte kesilmesini mümkün kılar
- Dezavantajları:
 - İnce kesitler almak zordur.
 - Seri kesitlerin hazırlanması zordur. Belki çift gömme işlemiyle kısmen aşılabılır.
 - Oldukça yavaştır, haftalar alır.
 - Bloklar ve kesitler %70 alkolde saklanmazsa renklerini kaybeder, kurur ve büzülür



Selloidin Metodu

- Selloidin eşit miktarlarda alkol ve eter karışımında çözünür.
- Doku alkolle dehidrate edilir ve seyreltik selloidin solüsyonuna aktarılır.
- Alkol ve eter buharlaşarak daha konsantre olan selloidin ile yer değiştirir.
- Son olarak kloroformla sertleştirilir ve %80 alkolde saklanır.



Selloidin Metodu

- Parafine göre çok uzun bir süreçtir.
- Daha az büzüşme ve distorsiyon görülür.
- Özellikle göz ve beyin gibi dokuların incelenmesinde kullanılır.

