

**Metoda:** Histologické barvení hematoxylin-eosinem

Andrea Lálová, 2. ročník ZL

Školitelé: Marcela Mášková, DiS.

**Princip:**

Barvení hematoxylin-eosinem vzniklo spojením dvou barviv; zásaditého hematoxylinu, který je přírodní a barví jádra, a kyselého eosinu, který je syntetický a barví cytoplazmu buněk. Výsledkem barvení je, že se barví jádra buněk modře, kolagen, hyalin a svalovina se barví růžově, fibrin se barví červeně, a chrupavka modře. Barvení probíhá v barvicím automatu. Jako první se skla s nataženým řezem musí odparafinovat v 70 % alkoholu. Následuje lázeň Gillova hematoxylinu. Po stanovené době se řezy diferencují v kyselém alkoholu a poté ve vodě (pro odmytí přebytečného barviva), což způsobí zmodrání jader. Poté se řezy barví roztokem eosinu. Po stanovené době se řezy opláchnou ve vodě. Odvodní se 96 % alkoholem a poté se projasní v xylenu a jsou připravené na zamontování (přikrytí krycím sklem, nebo zamontování v montovacím automatu). Poté řezy lékař vyhodnocuje pod mikroskopem.

**Uplatnění metody:**

Barvení hematoxylin-eosinem je základní a nejpoužívanější histologické barvení, které tvoří základní obraz patologům o možné diagnóze pacienta. Je přehledné a používá se rutinně na většinu materiálů v histologické laboratoři. Pokud má patolog podezření na diagnózu v tomto barvení, může se tkáň zpracovat s jiným barvením, pokud je to možné.

**Úskalí metody:**

Výsledek barvení může být ovlivněn prací laboranta nebo používanými roztoky chemikálií a barviv. Roztoky barviv jsou velmi stabilní a dobře barví po dlouhou dobu. Kontrolujeme expiraci a nepoužíváme proexspirovaná barviva. Úskalí může nastat při ručním barvení v diferenciaci (silnější kyselý alkohol) nebo v nedostatečném praní preparátů ve vodě (modrání jader). Jelikož jsou ale barvy komerčně dodávané a barvení provádí pouze přístroj, nedochází k problémům. Metoda je přesná a spolehlivá.

**Přístrojové vybavení:**

Pro zhotovení histologického preparátu je potřeba tkáň odvodnit a prosytit parafínem, což se provádí v autotechnikonu. Prosycená tkáň se poté zalije parafínem na zalévadle. Po zatuhnutí parafinového bločku z něj nakrájíme tenké řezy na mikrotomu, a ty pak natáhneme na podložní skla. Po odparafinování jsou řezy na skle připravené na barvení. Barvení probíhá v barvicím automatu. Automat má nastaveno, jak dlouho a v jaké lázni mají skla s řezy být a pracuje samostatně.

**Odběr a transport:**

Veškerá tkáň určená pro histologické vyšetření musí být šetrně odebrána, správně fixována ve 4 % formolu, a šetrně dopravena do laboratoře, aby nedošlo k pohmoždění tkáně. Tkáň potřebuje správné množství fixační tekutiny, při menším množství tekutiny, než je doporučeno (tekutiny by mělo být desetkrát až dvacetkrát více než je objem tkáně), může dojít k znehodnocení materiálu (po smrti nebo

po vyjmutí tkáně z těla dochází ihned k rozkladu). U některých materiálů není možné odběr opakovat, a tak je tento krok důležitý.