

**T.C.  
MİLLÎ EĞİTİM BAKANLIĞI**

# **LABORATUVAR HİZMETLERİ**

## **DOKU PREPARATI-2**

**Ankara, 2013**

- 
- Bu modül, mesleki ve teknik eğitim okul/kurumlarında uygulanan Çerçeve Öğretim Programlarında yer alan yeterlikleri kazandırmaya yönelik olarak öğrencilere rehberlik etmek amacıyla hazırlanmış bireysel öğrenme materyalidir.
  - Millî Eğitim Bakanlığınca ücretsiz olarak verilmiştir.
  - **PARA İLE SATILMAZ.**

# İÇİNDEKİLER

AÇIKLAMALAR .....	ii
GİRİŞ .....	1
ÖĞRENME FAALİYETİ-1 .....	3
1. DOKULARIN TAKİBİ.....	3
1.1. Doku Takibinde Kullanılan Çözelti Serileri .....	3
1.2. Doku Takip Yöntemleri .....	5
1.2.1. Elle Doku Takibi .....	5
1.2.2. Doku Takip Cihazı İle Doku Takibi .....	7
UYGULAMA FAALİYETİ .....	11
ÖLÇME VE DEĞERLENDİRME .....	12
ÖĞRENME FAALİYETİ-2 .....	13
2. DOKULARIN PARAFİNE GÖMÜLMESİ.....	13
2.1. Parafin Serilerinin Hazırlanması .....	13
2.2. Parafin Kalıplarının Hazırlanması .....	13
2.3. Doku Gömme Maddeleri .....	14
2.4. Dokuları Gömme Yöntemleri .....	14
2.4.1. Elle Parafine Gömme.....	14
2.4.2. Doku Gömme Cihazı İle Parafine Gömme.....	19
2.5. Dokuların Parafine Gömülmesinde Dikkat Edilmesi Gereken Noktalar .....	23
UYGULAMA FAALİYETİ .....	25
ÖLÇME VE DEĞERLENDİRME .....	26
ÖĞRENME FAALİYETİ-3 .....	27
3. DOKULARDAN KESİT ALMA.....	27
3.1. Parafin Bloklarından Kesit Alma .....	27
3.1.1. Mikrotom Çeşitleri ve Özellikleri.....	28
3.1.2. Rotary Mikrotomu İle Kesit Alma İşlemleri.....	30
3.2. Taze Dokulardan Dondurma Mikrotomu İle Kesit Alma .....	33
3.2.1. Dokuların Dondurulması .....	33
UYGULAMA FAALİYETİ .....	37
ÖLÇME VE DEĞERLENDİRME .....	38
MODÜL DEĞERLENDİRME .....	39
CEVAP ANAHTARLARI.....	41
KAYNAKÇA .....	42

# AÇIKLAMALAR

<b>ALAN</b>	<b>Laboratuvar Hizmetleri</b>
<b>DAL/MESLEK</b>	<b>Tarım Laboratuvar Teknisyeni/ Tarım Laboratuvarı</b>
<b>MODÜLÜN ADI</b>	<b>Doku Preparatı-2</b>
<b>MODÜLÜN TANIMI</b>	Bu modül; dokuların takibi, dokuların parafine gömülmesi ve dokulardan kesit alma ile ilgili bilgi ve becerileri içeren öğrenme materyalidir.
<b>SÜRE</b>	40/32
<b>ÖN KOŞUL</b>	Bu modülün ön koşulu yoktur.
<b>YETERLİK</b>	Doku preparatı hazırlamak
<b>MODÜLÜN AMACI</b>	<b>Genel Amaç</b> Bu modül ile gerekli ortam, araç ve gereçler sağlandığında tekniğine uygun olarak dokuların takibi, dokuların parafine gömülmesi ve dokulardan kesit alma işlemini yapabileceksiniz. <b>Amaçlar</b> <ol style="list-style-type: none"><li>1. Dokuların takibini yapabileceksiniz.</li><li>2. Dokuların parafine gömülmesini yapabileceksiniz.</li><li>3. Dokulardan kesit alma işlemini yapabileceksiniz.</li></ol>
<b>EĞİTİM ÖĞRETİM ORTAMLARI VE DONANIMLARI</b>	<b>Ortam:</b> Laboratuvar ortamı <b>Donanım:</b> Doku kasetleri, pens, şale, kurşun kalem, çeşme suyu, alkol, ksilol etüv, rotary veya kızaklı mikrotom, dondurma (frozen) mikrotom, disposable bıçaklar, benmari, ince uçlu fırça, lam, parafin kalıpları, parafin, parafin tankı
<b>ÖLÇME VE DEĞERLENDİRME</b>	Modül içinde yer alan her öğrenme faaliyetinden sonra verilen ölçme araçları ile kendinizi değerlendireceksiniz. Öğretmen modül sonunda ölçme aracı (çoktan seçmeli test, doğru-yanlış testi, boşluk doldurma, eşleştirme vb.) kullanarak modül uygulamaları ile kazandığınız bilgi ve becerileri ölçerek sizi değerlendirecektir.

# GİRİŞ

## **Sevgili Öğrenci,**

Doku Preparatı-1 modülü ile doku numunelerinin tespitini ve kemiklerin dekalsifikasyonunu öğrendiniz.

Bu modülle histolojik doku preparatı hazırlama aşamaları olan doku takibi, parafinle doku bloklaşması ve mikrotomla doku kesiti alma işlemlerini gerçekleştireceksiniz. Böylece doku preparatlarını mikroskopik incelemeye hazır hâle getirebileceksiniz.

Patoloji laboratuvar çalışmalarının büyük bir kısmı manuel olarak gerçekleştirilmekteydi. Son zamanlarda bu alanda meydana gelen teknolojik gelişmelere bağlı olarak manuel çalışmayı azaltan yeni cihazlar kullanılmaya başlanılmıştır. Bu modülde manuel çalışmanın yanında otomatik cihazlarla yapılan çalışmalara da yer verilmiştir.



# ÖĞRENME FAALİYETİ-1

## AMAÇ

Bu öğrenme faaliyetinde verilen bilgi ve becerilerle dokuların takibi işlemini eksiksiz yapabileceksiniz.

## ARAŞTIRMA

- Veteriner kliniğinde patoloji laboratuvarlarına giderek doku takip işlemlerini gözlemleyiniz.
- Konu ile ilgili çalışmalarınızı rapor hâline getirerek sınıfta arkadaşlarınızla paylaşınız.
- Patoloji laboratuvarında kullanılan kimyasal maddelerin insan sağlığı üzerindeki etkilerini araştırınız.

## 1. DOKULARIN TAKİBİ

### 1.1. Doku Takibinde Kullanılan Çözelti Serileri

Dokuların mikroskopik incelemeye hazır hale getirilmesi amacı ile yapılan, gömme ile sona eren işlemler dizisine doku takibi denir. Doku takibinde kullanılan çözelti serileri üçe ayrılır.

- **Alkol serileri**
- **Ksilol serileri**
- **Parafin serileri**

Fikse (tespit edici) olmuş dokunun dehidrasyon, seffaflaştırma ve infiltrasyon işlemleriyle bloklamaya hazır hâle getirilmesine doku takibi denir. Fikse olmuş dokuların mikrotomda 3-6µ kalınlığında kesitler yapılacak sertliğe (dirence) getirilmesi gerekir. Dokulara bu sertlik genellikle parafin infiltre edilerek sağlanır.

Fikse dokular direk parafinle infiltre olmaz, çünkü parafin suda erimeyen bir maddedir.

Fikse dokunun parafinle infiltre hâle getirilmesi için;

- Dehidrasyon (doku suyunun uzaklaştırılması)
- Şeffaflaştırma (clearing)
- Sertleştirme (infiltrasyon) işlemleri yapılır.

- **Dehidrasyon**

Fiksasyonu tamamlanmış dokuların ilk takip aşamasına dehidrasyon (dehidratasyon) denir. Tespitten sonra suyun ve bazı sıvıların uzaklaştırılması gerekir. Dehidrasyonda genellikle alkol ve aseton kullanılır. Dokular genellikle fazla miktarda su içerir. Bu suyun çıkarılmasıyla erimiş parafin doku parçalarının boşluklarına girebilir. Tespitten çıkarılan dokular genellikle yıkanır. Ardından %30-50'lik etil alkolle başlayarak %60-70-80-96-100'lük etil alkolden birer saat geçirilir. Böylelikle dokular büzülmeden sudan kurtarılır. Embriyonik dokular gibi hassas dokularda dehidrasyonun %30'luk basamakla başlaması önerilir.

Doku takibinde dehidrasyon işleminin yetersiz olması, doku takibi işlemlerinin kalitesini düşürür ve sonuçta yumuşak dokular elde edilir. Aşırı dehidrasyon ise sert, kırılğan, zor kesit alınan dokular elde edilmesine neden olur.

- **Dehidrasyonda kullanılan maddeler**

- **Etil alkol** : En çok kullanılan dehidrasyon maddesidir. Berrak, renksiz, kolay alev alabilen, orta derece toksik ve organik çözeltiler ile karışabilen bir sıvıdır. Hızlı etkili ve hidrofilik (su sever) bir maddedir. Dehidrasyon için yükselen konsantrasyonlarda kullanılmalıdır.
- **Metanol** : Biraz pahalı ve tehlikeli bir dehidranttır.
- **Aseton**: Şeffaf, renksiz, yanıcı, keskin kokulu ve diğer dehidrantlara göre daha uçucudur. Etanol ve metanolden daha hızlı hareket eder. Asetonda uzun süre bırakım, dokuları gevrekletirir.

Not: Bu maddelerle çalışırken muhakkak kişisel koruyucu güvenlik önlemleri alınmalıdır.

- **Şeffaflandırma**

Şeffaflandırma, temizleme ve dealkolizasyon adıyla da anılır. Şeffaflandırıcı maddeler; dokuyu şeffaflaştırır, dokudaki dehidrasyon maddesini uzaklaştıran, temizleyebilen maddelerdir. Burada dokudaki alkolü alıp yerine ksilen veya tolüen gibi eriyikleri geçirmektir. Bu eriyik içinde dokular 30-45 dakika tutulur. Ksilol yağları da eritilir ve dokuyu saydamlaştırır.

Şeffaflaştırıcı madde, dokudaki alkolle yer değiştirir. Böylece alkol ve sudan yoksun hâle gelen doku, parafinin nüfuz etmesine elverişli hâle gelir.

- **Şeffaflandırmada kullanılan maddeler**

- **Ksilen** : En sık kullanılan şeffaflandırıcıdır. Alev alabilen tehlikeli bir maddedir. Doku uzun süre ksilende kalırsa sertleşme çok fazla olur.



- **Toluen** : Ksilene göre daha az sertleştirir, daha yavaş etkilidir.
- **Benzen** : Çok hızlı etkili olmasına karşın toksik ve karsinojen olduğu için kullanılmamaktadır.
- **Kloroform** : Daha yavaş etkilidir. Özellikle tendon, kas ve uterus örnekleri için alternatif bir şeffaflandırıcı olarak bildirilmektedir.
- **Limonen** : Son yıllarda popüler bir temizleyici ajan olarak kullanılmaktadır. Ksilene göre dokuları daha az sertleştirir, parafin ile daha uyumludur.

Not: bu maddelerle çalışırken muhakkak kişisel koruyucu güvenlik önlemleri alınmalıdır.

- **Sertleştirme / parafin infiltrasyonu**

Gömme ortamı olarak parafin, selloidin, selloidin-parafin kullanılabilir. Amaç, dokuları yarı sert ve kolayca kesilen materyal içine yerleştirmek ve şeffaflandırıcı ajanı dokudan uzaklaştırmaktır. Parafin en çok kullanılan ortamdır. Bu aşamada dokular 58-60°C sıcaklıktaki parafin içinde 4 saat bekletilir. Böylece dokulardaki ksilol yerine parafin geçirilir. Sonuçta dokular kesilebilir sertlikte ve saydam hale gelir. Bu işlemler elde ya da otomatik doku takip makinelerinde gerçekleştirilir.

Kemik örnekleri bu işlemlerden geçirilmeden önce içlerindeki kalsiyum alınarak yumuşatılır. Bu amaçla %8'lik HCl+ %10'luk formik asit karışımı kullanılır. Bu işleme *dekalsifikasyon* denir.

## 1.2. Doku Takip Yöntemleri

Doku takip işlemleri, manuel (el takibi) ve ototeknikon (doku takip cihazı) cihazlarında otomatik olarak yapılır.

### 1.2.1. Elle Doku Takibi

Etüvde ısıtılmış takip çözeltileriyle dehidratasyon, seffaflaştırma ve parafinizasyon etüvde yapılır.

Doku, bir önceki işlemde yapısına diffüze olan kimyasalı bir sonraki basamaktaki solüsyon kabına taşır. Bu nedenle takip basamaklarındaki ilk kimyasallar, bir önceki basamakta kullanılan kimyasallarla fazla kirlenir. Doku takibinde kullanılan dehidratasyon (alkol), seffaflaştırma (ksilen) ve sertleştirme (parafin) solüsyonları en az iki kapta hazırlanır. Basamaklardaki son kimyasalların küçük miktarda bile bulaşı olmayacak şekilde temiz olması gerekir. Dokular, solüsyonlar arası geçişlerinde iyi bir şekilde süzdürüldükten sonra bir sonraki solüsyona nakledilmelidir. Büyük dokular hacimleriyle orantılı olarak yapılarında daha fazla kimyasal bulundurur. Bu dokular nakledildiği yeni kimyasalları daha fazla kirletir. Küçük dokularda basamaklarda iki ksilen, iki parafin solüsyonu yeterli görülürken büyük doku takiplerinde bu solüsyon sayısı daha fazla olmalıdır.

- Takibi yapılacak dokunun türüne ve büyüklüğüne göre;
  - Basamaklarda kullanılacak kimyasal hacmine
  - Kaç adet solüsyon basamağı oluşturacağına
  - Basamaklarda kimyasallara uygulanacak ısı derecesine
  - Basamaklarda bekleme süresine
  - Doku takip süresine karar verilir.
- Kimyasal solüsyonlar hazırlanır.
  - Dehidrasyon işlemi için %70'lik, %90'lık ve %100'lük alkol hazırlanır. Hassas dokular için daha düşük konsantrasyonlu alkol hazırlanır. Takip işleminde ısı uygulamasına karar verilmişse etüvde ısınmaya bırakılır.
  - Şeffaflandırma işlemi için ksilen hazırlanır. En az iki ksilen kabında planlanır, doku büyüklüğüne göre bu sayı daha fazla olmalıdır. Takip işleminde ısı uygulamasına karar verilmişse etüvde ısınmaya bırakılır.
- Sertleştirme işlemi için kararlaştırılan miktar kadar katı parafin uygun bir kaba konarak etüvde erimesi için bırakılır.
- Doku kasetleri, uygun bir sepete konur. Sepetin hazırlanan solüsyon kaplarıyla uyumlu, geniş gözenekli olmasına dikkat edilir.
- Programlanan süreye uyarak dokular solüsyonlarda sırayla bekletilir. Doku sepeti, solüsyonlarda bekletme süreleri içinde periyodik aralıklarla çalkalanır.
- Doku sepeti bekleme süresi sonunda bir sonraki kimyasala nakledilir. Sepetteki solüsyonlar, nakletmeden önce iyice süzülür.
- Doku sepeti, son parafinde bekletme süresi bitiminde parafinler iyice süzdürüldükten sonra çıkarılır ve doku takibi sonlandırılır. Son parafin solüsyonunda ksilen kokusunun alınmaması gerekir. Ksilen kokusu varsa dokular taze parafin kabında bir süre daha bekletilir. Sepet bloklama bölümüne verilir.



Şekil 1.1: Elle doku takip uygulamasında dokuların etüve kaldırılması

### 1.2.2. Doku Takip Cihazı İle Doku Takibi

Otomatik doku takip cihazlarında yapılan doku takibidir. Ototeknikonlar çok çeşitli olmakla birlikte genel olarak yarı kapalı ve kapalı sistem doku takip cihazları olmak üzere ikiye ayrılır.

#### ➤ Yarı kapalı sistem doku takip cihazları

Sepet içindeki dokuların kimyasal solüsyon kaplarına otomatik transferi ile yapılır. Bu cihazlarda genellikle 9-10 kimyasal solüsyon kabı ile 2-3 parafin kabı bulunur. Cihaz, doku kasetlerini istenen sürelerde bu solüsyonlar içinde bekleterek gerçekleştirir. Bu takip sisteminde çalkalama hareketi dikey veya daireseldir. Bazı modellerinde parafin kaplarına istenirse vakum ünitesi eklenebilir.

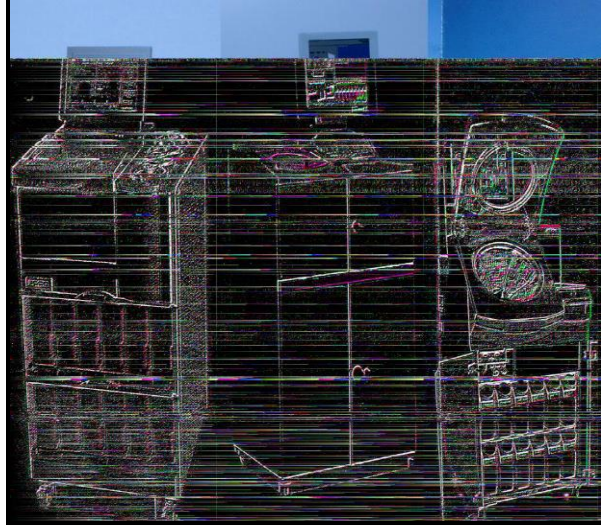


Resim 1.1: Yarı kapalı sistem doku takip cihazları (ototeknikon)

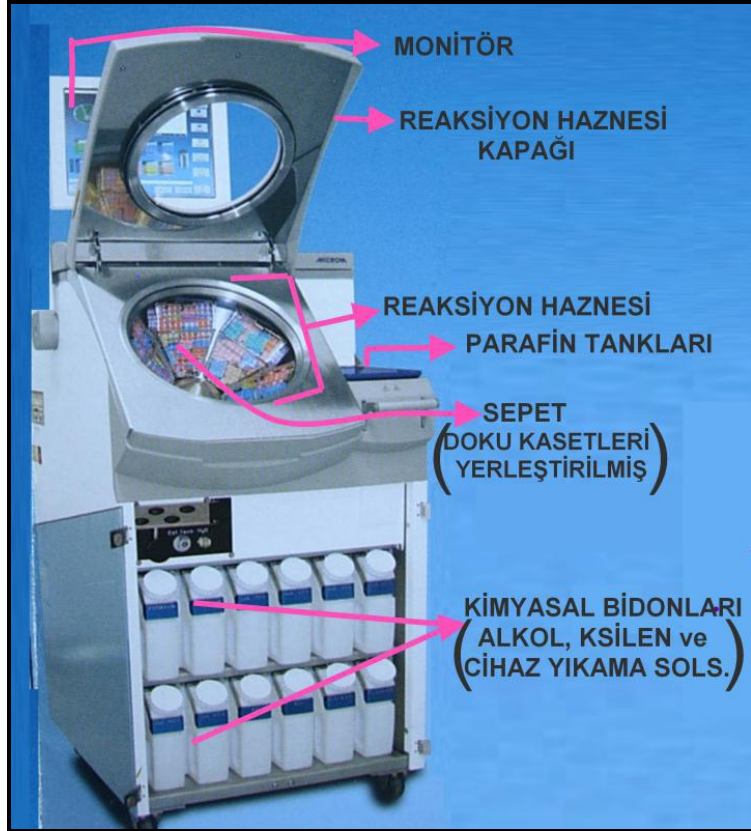
#### ➤ Kapalı sistem otomatik doku takip cihazları

Doku takibi, cihazın reaksiyon haznesinde gerçekleşir. Doku kasetleri cihazın sepetine dizilerek bu hazneye yerleştirilir. Dokular bu haznede sabit kalır. Cihazın kimyasal saklama haznesinde 10-12 takip solüsyon kabı, 3-4 parafin kabı bulunmaktadır. Cihaz otomatik

olarak kimyasal sıvıları reaksiyon haznesine transfer ederek doku takibini gerçekleştirir. Çalkalama hareketi gel-git şeklindedir.



**Resim 1.2: Kapalı sistem doku takip cihazları (ototeknikon)**



**Resim 1.3: Kapalı sistem otomatik doku takip cihazı bölümleri**

➤ **Doku takip cihazının bölümleri**

- **Doku sepetleri**

Doku kasetlerinin dizildiği ototeknikon reaksiyon haznesiyle uyumlu sepetlerdir.



**Resim 1.4: Kapalı sistem otomatik doku takip cihazı doku sepetleri (doku kasetleri dizilmiş )**

- **Reaksiyon haznesi**

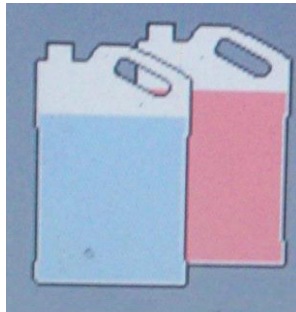
Doku sepetlerinin bulunduğu, doku takip kimyasal sıvılarının transfer olduğu ve doku takibinin gerçekleştiği alandır. Bu alanda kaliteli doku takibi için istenirse cihaza vakum, basınç, ısı ve mekanik karıştırma gibi fonksiyonlar seçilerek çok sayıda doku takip programı uygulanır.

- **Reaksiyon haznesi kapağı**

Basınçlara dayanıklı, toksik gazların çıkışını önleyen özelliktedir. Reaksiyon haznesinin gözlenebilmesi için genellikle camdan yapılmıştır.

- **Kimyasal bidonları**

Doku takip solüsyonlarının konulduğu 2-5 litre kapasiteli bidonlardır. Bunlar cihazın kimyasal saklama haznesi bölümünde bulunur ve kimyasal maddeye göre renklendirilmiştir. Cihazda belirtilen renk sistemine göre cihaza yüklenir. Bidonlarda zamanla kirlenen solüsyonlar, laboratuvar kimyasal atık imha kurallarına uyularak boşaltılır. Tekrar taze solüsyonların yüklemesi yapılır.



**Resim 1.5: Kapalı sistem doku takip cihazı kimyasal bidonları**

- **Flush (yıkama) bidonları**

Ototeknikonlar her doku takip bitiminde flush programlarıyla otomatik olarak temizliği yaptırılır. Bu amaçla kullanılan ksilen, alkol ve distile su bidonları vardır. Bunlar da cihazın kimyasal saklama haznesinde bulunur.

- Parafin tankları

Parafini eritme sıcaklığına sahip cihaza sabit haznelerdir. Katı parafinle doldurulur.

➤ **Kapalı sistem doku takip cihazlarının özellikleri ve avantajları**

- Çok sayıda dokunun takip işlemini yapabilme
- Kullanılan kimyasallarla oluşan toksik gazların zararını ortadan kaldırması
- Yükleme boşaltmanın kolay ve temiz yapılması
- Vakum, basınç, ısı, mekanik karıştırma işlemlerini uygulayabilmesi
- Bilgisayar programları sayesinde çok sayıda ve değişik doku takip programlarını uygulayabilmesi

➤ **Doku takip cihazında doku takip uygulaması**

- Cihazın kimyasal solüsyonları (alkol, ksilen, parafin ve yıkama solüsyonları) ve seviyeleri kontrol edilir. Eksik olan sıvılar tamamlama çizgilerine kadar tamamlanır. Kirli kimyasallar yenilerek cihaza yüklemesi yapılır.
- Cihaza flush programı uygulanıp uygulanmadığı kontrol edilir. Cihaza flush işlemi her doku takibi bitiminde yapılmalıdır.
- Doku sepetleri hazırlanır.
- Reaksiyon haznesinin kapağı açılır.
- Doku sepetlerinin reaksiyon haznesine yüklemesi yapılır.
- Reaksiyon haznesinin kapağı kapatılır.
- Monitörden fonksiyon butonlarıyla program girişi yapılır ve cihaz çalıştırılır.
- Cihaz çalışmaya başladığında reaksiyon haznesi kontrol edilir.
- Doku takip süresi dolduğunda cihaz reaksiyon haznesi kapağı açılır.
- Doku kaset sepetleri çıkarılarak bloklama bölümüne alınır.
- Cihaza flush programı uygulanır.



## UYGULAMA FAALİYETİ

### Dokuların takibini yapınız.

İşlem Basamakları	Öneriler
<b>Manuel olarak doku takibi yapmak için;</b> ➤ Dokunun adını ve protokol bilgilerini kurşun kalemle kasete yazınız.	➤ Alkol,ksilen ve parafin kimyasallarıyla çalışmaya uygun kişisel koruyucu önlemler (maske,eldiven vb.) alınız.
➤ Dokuları tespit kaplarından alarak doku kasetlerine yerleştiriniz.	➤ Doku solüsyon kaplarının uyumlu olmasına dikkat ediniz.
➤ Dokuları akan çeşme suyu altında en az 24 saat bekletiniz.	➤ Dokuların suda kalma sürelerine dikkat ediniz.
➤ Dokuları alkol serilerinden geçiriniz.	➤ Alkol serileri ile çalışırken muhakkak kişisel koruyucu güvenlik önlemleri alınız.
➤ Dokuları ksilol serilerine aktarınız.	➤ Ksilol serilerine aktarma işlemlerine dikkat ediniz.
<b>Doku takip cihazı ile doku takibi yapmak için;</b> ➤ Numuneye göre doku takip cihazının program ayarlarını yapınız.	➤ Cihazların program ayarları ve kimyasal solüsyonları kontrol edilir.
➤ Dokunun adını ve protokol bilgilerini kurşun kalemle kasete yazınız.	➤ Etiket yazma kurallarına dikkat ediniz.
➤ Dokuları tespit kaplarından alarak doku kasetlerine yerleştiriniz.	➤ Doku sepetlerinin reaksiyon haznesine yüklemesini yapınız.
➤ Kasetleri doku takip cihazına yerleştiriniz.	➤ Kasetleri doku takip cihazına dikkatli yerleştiriniz.
➤ Cihazı çalıştırarak takip işlemini yapınız.	➤ Takip işlemini yapınız ve cihaza flush programı uygulayınız.

## ÖLÇME VE DEĞERLENDİRME

Aşağıdaki soruları dikkatlice okuyunuz ve doğru seçeneği işaretleyiniz.

- Aşağıdakilerden hangisinde doku takip işlemi doğru olarak sıralanmıştır?  
A) Dehidrasyon → Şeffaflandırma → İnfiltrasyon  
B) Şeffaflandırma → İnfiltrasyon → Dehidrasyon  
C) Dehidrasyon → İnfiltrasyon → Şeffaflandırma  
D) İnfiltrasyon → Şeffaflandırma → Dehidrasyon
- Aşağıdakilerden hangisi doku takibinde dehidrasyon maddesi olarak kullanılmaz?  
A) Aseton  
B) Metanol  
C) Ksilen  
D) Etil alkol
- Doku takibinde dokuyu sıcak parafinde tutmakla ne amaçlanmaktadır?  
A) Dokunun şeffaflaşması  
B) Doku suyunun uzaklaştırılması  
C) Doku yumuşaklığının korunması  
D) Dokunun sertleştirilmesi
- Aşağıdakilerden hangisi doku takibinde şeffaflandırıcı madde olarak kullanılmaz?  
A) Ksilen  
B) Toluene  
C) Etil alkol  
D) Kloroform
- Aşağıdakilerden hangisi doku takip cihazının özelliklerinden değildir?  
A) Az sayıda dokunun takip işlemi yapabileceği  
B) Çok sayıda dokunun takip işlemi yapabileceği  
C) Yükleme boşaltmanın kolay ve temiz yapılması  
D) Vakum, basınç, ısı, mekanik karıştırma işlemlerini uygulayabilmesi

## DEĞERLENDİRME

Cevaplarınızı cevap anahtarıyla karşılaştırınız. Yanlış cevap verdiğiniz ya da cevap verirken tereddüt ettiğiniz sorularla ilgili konuları faaliyete geri dönerek tekrarlayınız. Cevaplarınızın tümü doğru ise bir sonraki öğrenme faaliyetine geçiniz.



# ÖĞRENME FAALİYETİ-2

## AMAÇ

Bu öğrenme faaliyetinde verilen bilgi ve becerilerle dokuların parafine gömülmesi işlemini yapabileceksiniz.

## ARAŞTIRMA

- Veteriner kliniğinin patoloji laboratuvarına giderek doku bloklamasında kullanılan maddeleri araştırınız.
- Konu ile ilgili çalışmalarınızı rapor hâline getirerek sınıfta arkadaşlarınızla paylaşınız.

## 2. DOKULARIN PARAFİNE GÖMÜLMESİ

Doku bloklaması, gömme ya da blokama olarak adlandırılır. Dokuların infiltrasyon ortamı ile kaplanmasıdır. Parafin doku içine girdikten sonra blok yapılmaya başka bir deyişle parafin içine gömülmeye hazırdır. Parafin blokama işlemleri laboratuvar olanaklarına göre elle doku blokama ve doku blokama cihazında blokama şeklinde gerçekleştirilir.

### 2.1. Parafin Serilerinin Hazırlanması

Emdirme materyalini iyice emmiş olan doku örnekleri yine aynı materyal içerisine gömülür. Bu amaçla özel kalıplar içerisine emdirme materyali doldurulur. Sıvı durumdaki bu materyalin içine kesit yapılacak yüzleri tabana gelecek şekilde doku örnekleri yerleştirilir. Eğer parafin kullanılıyorsa işlem çok hızlı yapılmalıdır. Zira oda ısısında parafin hızla sertleşir. İşlem bitince doku blokları hızla buzdolabına sertleşmeye bırakılır. Selloidin bloklaması farklı bir teknikle desikatör içerisinde yapılır. Plastik madde (akrilik, epoksi) kullanılıyorsa emdirmede kullanılan saf plastik madde sertleştirici katılarak özel kalıplara doldurulur içerisine doku örnekleri gömülür ve bu halleriyle polimerizasyona bırakılır.

### 2.2. Parafin Kalıplarının Hazırlanması

Günümüzde neredeyse tüm patoloji laboratuvarlarında gömme aleti bulunmaktadır. Bu alette parafini sıvı halde tutan hazne, gömmenin yapıldığı parafinin donmasını önleyen sıcak tabla ve blokları sertleştirmek için soğuk tabladan oluşur. Parafini sıvı halde tutan hazneden sıvı parafin kasete akıtılır. Penset kullanılarak işlenmiş doku örneklerinin gözlenmek istenen yüzeyleri zemine gelecek şekilde yerleştirilir. Kasetin kenarına protokol kayıt numaraları yazılarak soğuk tablaya aktarılır. Ondan sonra mikrotomla kesit alınmaya kadar buzdolabında daha da sertleşmesi için saklanır.

## 2.3. Doku Gömme Maddeleri

Mumlar, epoksi reçineler, selloidin, histoplast, parafin vb. maddeler, doku bloklamasında kullanılan maddelerdir. Ancak doku bloklamasında en sık parafin kullanılır. Parafinler, kolay kullanılabilmesi, dokuya az zarar vermesi, kısa sürede bloklanabilmesi ve doku özel işlemlerinin yapılmasına olanak sağlaması nedeniyle tercih edilir. Mikrotomda doku kesiti sırasında performansı iyileştirmek için bloklamada kullanılan parafine bal mumu, kauçuk, plastik vb. ticari maddeler katılabilir. Bu maddeler, donmuş parafin bloka şu özellikleri kazandırır:

- Bal mumu; sertlik ve kesit slaytlarının birbirine yapışkanlığını artırarak uzun kesit şeridi elde etme özelliğini artırma
- Kauçuk; kırılabilirliği azaltma ve kolay seri kesit yapma
- Plastikler; blokun sertlik ve destekliğini artırma

Parafinin özellikleri, erime noktasına göre değişir. Erime noktası arttıkça parafin sertleşmektedir; bu da özellikle küçük dokularda seri kesit alınmasını zorlaştırmakta, sert dokularda ise daha iyi desteklik sağlamasına neden olmaktadır. Patolojide rutin işlemlerde parafinin erime noktası 55-58<sup>0</sup>C'dir. Sıcaklık derecesi fazla olan parafin döküm sırasında blok demiri arasından sızmasına; ısı düşük parafin ise blokta hava kabarcığı oluşmasına neden olur. Parafin kazanının derecesi, parafin erime noktasına ayarlanır. Parafin kazanındaki ve dispenserdeki parafin miktarları kontrol edilir. Eksikse yeterli miktarda parafin eklenerek döküm işleminden önce erimesi sağlanır.



Resim 2.1: Parafin

## 2.4. Dokuları Gömme Yöntemleri

Doku bloklaması, gömme ya da blokama olarak adlandırılır. Dokuların infiltrasyon ortamı ile kaplanmasıdır. Parafin doku içine girdikten sonra blok yapılmaya başka bir deyişle parafin içine gömülmeye hazırdır. Parafin blokama işlemleri laboratuvar olanaklarına göre elle doku blokama ve doku blokama cihazında blokama şeklinde gerçekleştirilir.

### 2.4.1. Elle Parafine Gömme

Elle doku blokama aşağıdaki araç ve gereçler kullanılarak gerçekleştirilir.

➤ **Dispenser**

Parafin eritme cihazıdır. Isı ayarlı katı parafin eritme haznesine sahiptir. Isı ayarı, kullanılan parafinin erime derecesinin üzerinde ayarlanır ve dökümde devamlı sıcak parafin sağlar. Katı parafinin cihaza yüklemesi yapılarak dökümden önce erimesi sağlanmalıdır.



**Resim 2.2: Dispenser**

➤ **Parafin dağıtma kabı**

Dispenser'den alınan sıcak parafini nakletmede kullanılan kulplu kaptır.



**Resim 2.3: Parafin dağıtma kabı**

➤ **Pens**

Dokunun kasetten alınması, bloklara nakledilmesi ve pozisyon verilmesinde kullanılır.



**Resim 2.4: Pens**

➤ **Blok L demirleri**

Parafin blok kalıbı oluşturmada kullanılan 'L' şeklinde demirlerdir.



**Resim 2.5: Blok "L" demirleri**

➤ **Blok etiketi**

Blok numarası ve kodun yazıldığı kâğıt etiketlerdir.



**Resim 2.6: Blok etiketi yazımı**

### 2.4.1.1. Elle Bloklama Uygulaması

- Blok kalıp demirleri 'L demirleri' blok dökümüne hazırlanır. L demirleri, katılaşmış parafin blokların kalıp demirlerden kolaylıkla çıkarılması için sıvı vazelin emdirilmiş gazlı bezle silinir. Blok dökümü, pürüzsüz düz bir zeminde yapılmalıdır. Döküm masasında cam veya cam benzeri bir madde kullanılması en iyisidir. Bu yüzeyin de hafif şekilde sıvı vazelinle silinmesi blokların zeminden kaldırılmasında büyük kolaylık sağlar. Blok kalıpları doku büyüklüğüne göre ayarlanmalıdır. Küçük dokular için çok büyük, büyük dokularda çok küçük bloklar yapılmamalıdır. Dokuların çevresinde eşit kalınlıkta parafin kalmasına dikkat edilmelidir.



**Resim 2.7: Blok demirlerinin dizimi**

- Blok etiketleri doku takip formundaki bilgilere göre yazılır. Blok etiketine doku takip formundaki biyopsi numarası ve kodu yazılır.



**Resim 2.8: Blok demirleri ve etiketleri**

- Doku kasetlerinin kapakları açılır. Kaset etiketleri okunarak doku takip formundaki sıralamaya göre döküm masası üzerine sıralanır.



**Resim 2.9: Doku kasetleri**

- Kasetteki dokular pensle alınarak incelenir ve dokunun gömme yüzeyine (mikrotomda kesit alınacak yüzey) karar verilir. Genellikle büyük ve düz parçaların bloklanması pek sorun ile karşılaşılmazken küçük ve çok katmanlı dokuların gömülmesinde sorunlar oluşur. Dokunun gömme yüzeyi şu özelliklerine göre kararlaştırılır:

- Tek katmanlı parçanın geniş kesit yüzeyi alta gelecek şekilde
- Çok katmanlı dokuların tüm katmanlarının kesitte dokular gözükecek şekilde (örneğin punch biyopside deri ve deri altı dokusunun kesitlerde gözükecek şekilde yatay olarak)
- Tüp yapısındaki bir lümeneye sahip dokular dikey (iç boşluğu kesitte gözükecek şekilde) –Örnek, damar biyopsileri-

- Aynı bloka gömülecek küçük biyopsi örnekleri blok ortasına birbirine yakın şekilde
  - Çini mürekebi ile işaretli yüzeyi altta olacak şekilde tüm dokular pensle blok boşluğu ortasına yerleştirilir.
- Dokulara pensle pozisyon verilir, doku pozisyonu bozmayacak şekilde üzeri parafinle doldurulur.



**Resim 2.10: Dokunun bloka yerleştirilmesi**



**Resim 2.11: Sıcak parafinle blokun doldurulması**

- Blok etiketi blok üzerine yerleştirilir, blokların iyice katılaşması beklenir.



**Resim 2.12: Blok etiketlemesi**

- Katılaşmış parafin bloklar blok 'I' demirinden ayrılır.

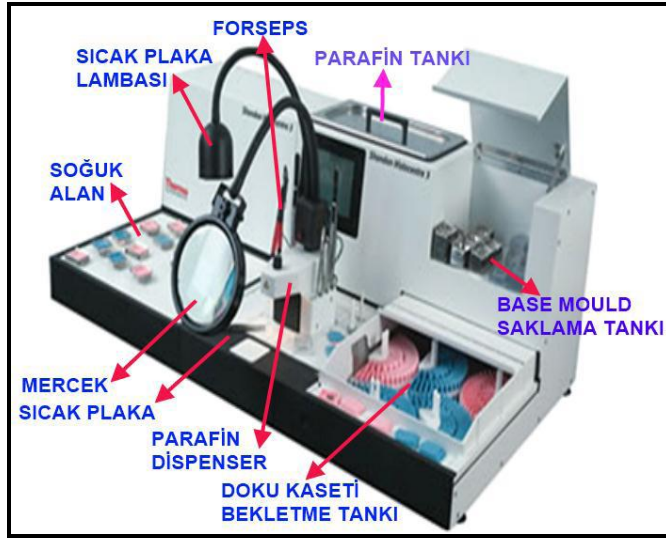


**Resim 2.13: Parafin blok**

- Bloklar doku takip formundaki sıralarına göre sıralanarak toplanır, derin dondurucuda veya buzdolabının buzluk kısmında 45-60 dakika bekletilir. Parafin oda ısısında katı formda olmasına rağmen mikrotomla mikron kalınlığında kesit alabilecek kadar sert kıvam göstermez. Bloklar daha sert kıvam kazandırmak amacıyla soğuk ortamda bir süre bekletilir.
- **Bloklamada dikkat edilecek hususlar**
  - Demir kalıp içine parafin dikkatsizce dökülürse donmuş blokta hava kabarcıkları meydana gelir. Kesit alırken parafin ufalanır ve dokular parçalanır.
  - Bloklar katılaşmadan blok demirlerinden çıkarılması, blokların şeklinin bozulmasına yol açar.
  - Aynı blok içinde birbirine uzak mesafelerde gömülmüş doku parçaları, kesitte zorluk oluşturur.

#### 2.4.2. Doku Gömme Cihazı İle Parafine Gömme

Doku bloklama cihazı, bloklama için gerekli (sıcak parafin, bloklama alanı, blok soğutma alanı vb.) bileşenleri bünyesinde bulundurur ve doku gömme işlemi etkin şekilde yapılmasını sağlar.



Resim 2.14: Doku gömme cihazı

- **Doku gömme cihazının bölümleri**
  - **Parafin tankı** : Bloklama sırasında erimiş parafin temin edilen tanktır. Çalışmaya başlamadan önce tank parafinle doldurulur.
  - **Parafin dispenser** : Bloklamada sıvı parafin akıtan musluk ve valf sistemidir. Valf açıldığında parafinin akması sağlanır.



- **Doku kasetlerini bekletme tankı** : Doku takibinden çıkmış doku kasetlerinin konulduğu ısıtmalı alandır.
- **Base mould saklama tankı** : Bloklamada kullanılacak base mould'ların konulduğu ve ön ısıtmasını sağlayan alandır.
- **o Base mould** : Doku yerleştirilmesinde kullanılan değişik ebatlardaki kaplardır.



**Resim 2.15: Base mould'lar**

- **Sıcak plaka** : Bloklamanın yapıldığı ısıtılmış alandır. Kalıplara akan parafinin katılaşmasını önler.
- **Sıcak plaka lambası** : Çalışmada iyi görüş sağlamak amacıyla sıcak plaka yüzeyini aydınlatan lambadır.
- **Mercek** : Doku incelemesi ve yerleştirme sırasında görülebilirliği artırır.
- **Soğuk alan** : Dökümü bitmiş blokların soğumasını sağlayan alandır. Ayrıca dokuya pozisyon aldırma base mould'un tabanındaki sıvı parafin biraz katı hâle getirmek için kullanılan alandır.
- **Forseps** : Doku tutmada kullanılan cihaza bağlı ısıtmalı penstir.
- **Forseps yerleri** : Elektrikli forseps veya penslerin ısıtıldığı alandır.

#### 2.4.2.1. Doku Bloklama Cihazında Bloklama Uygulaması

- Cihaz döküm işlemine hazırlanır.
  - Cihazın genel temizliği yapılır.
  - Soğuk plaka, sıcak plaka vb. kısımlardaki parafin kalıntıları cihazın genel kullanım kılavuzunda belirtildiği şekilde temizlenir.
  - Cihaz çalıştırılır. Doku tankı, sıcak plaka ve base mould bölümlerinin sıcaklıkları ayarlanır.
  - Parafin tankı parafinle doldurulur.



- Çalışılacak olan kasetler doku depo tankı içine yerleştirilir. Tank içindeki parafin seviyesi kasetleri kapatacak düzeyde olmalıdır.
- Doku depo tankından bir kasete bir doku taşınır. Kaset, doku depo tankı önündeki çalışma alanına getirilir. Blok tutucu olarak kaset kullanılacaksa kasete blok numarası yazılır.



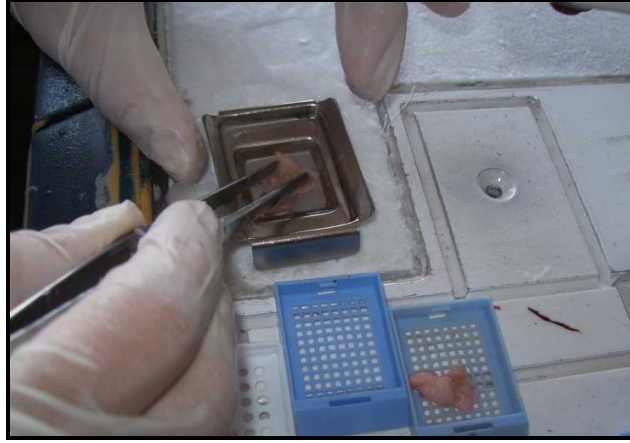
**Resim 2.16: Blok kasetine numara yazımı**

- Bloklanacak dokuya uygun ebatlarda bir base mould seçilir.
- Base mould sıcak plaka üzerine konur. Base mould belli bir seviyeye kadar parafinle doldurulur.



**Resim 2.17: Base mould'a doku yerleştirimi**

- Pensle/forsepsle doku kasetinden doku örneği alınır. Doku örneğinin gömme yüzeyine karar verilir ve bu yüzey üzerine doku base mould'a yerleştirilir.



**Resim 2.18: Base mould'a doku yerleştirimi**

- Base mould sıcak plakadan soğuk plakaya kaydırılır. İçindeki dokuya pens/forsepsle pozisyon verilir. Parafinin biraz katılaşması için birkaç saniye beklenir.
- Base mould'u sıcak plakanın üzerine kaydırılır.
- Blok numarası ve kodu yazılmış kaset base mold üstüne yerleştirilir. Base mould parafinle doldurulur. Bloklamada kaset kullanılmıyorsa base mould direkt parafinle doldurulur.



**Resim 2.19: Base mould'un sıcak parfinle doldurulması**

- Base mould hızlıca soğuması için soğuk plakanın arkasına kaydırılır. Bu alanda blokların katılaşması beklenir. Katılaşmış blok kasetinden base mould ayrılır.



**Resim 2.20: Blokların soğuk plakada bekletilmesi**

## **2.5. Dokuların Parafine Gömülmesinde Dikkat Edilmesi Gereken Noktalar**

Doku, doku takip sıvılarına daldırıldığında doku sıvısı ve çevresindeki sıvı arasında karşılıklı yer değişimleri olur ve bunu birçok faktör etkiler. Bu faktörler şunlardır:

### ➤ **Ajitasyon**

Takip sıvılarının karıştırılması veya dokuların sıvı içinde dikey ve yatay hareketler yaptırılmasıdır. Çok düşük ajitasyon hızı etkisizken yüksek ajitasyon uygulaması yumuşak ve gevşek dokularda harabiyete yol açabilir.

### ➤ **Isı**

Isı penetrasyon (nüfuz etme) hızını artırırken soğuğu azaltır. Isı her ne kadar süreci hızlandırır da dokuları fazla ısıtmamaya dikkat edilmelidir. Çünkü büzülme, gevrekleşmeye ve kesit alınımında zorluklara yol açabilir. Doku takibinde kullanılan sıvıların birçoğunun yanıcı, parlayıcı maddeler olması yangın tehlikesini artırabilir.

### ➤ **Viskozite**

Kullanılan sıvıların viskozitesi, dokulara penetre olma hızını etkiler, molekül büyüdükçe viskozitesi artar ve penetrasyon hızı azalır.

### ➤ **Vakum**

Azaltılmış vakum, erimiş parafinle dokuların impregnasyonunda çok kullanılmaktadır. Bazı otomatik takip cihazlarında doku takibinin tüm basamaklarında vakum kullanılmaktadır. Dehidrasyonda ve şeffaflaştırmada vakumun kullanılmasının çok az avantajı vardır. Dokudaki hava kabarcıkları bu yolla uzaklaştırılır.

## ➤ Süre

Doku takip süresi, standart olarak belirlenebilen bir süre değildir. Takip süresi laboratuvar çalışanlarının deneyimlerinin yanında takibi yapılan doku özellikleri ve takibi etkileyen faktörlerin bulunuşlarına göre belirlenir. Bunlar:

- **Doku tipi :** Kemik, deri ve sinir gibi yoğun dokular; karaciğer ve böbrek gibi yumuşak dokular için gerekli sürenin yaklaşık iki katı süre gerektirir. Kan, kas ve fibröz yapı içeren dokular, aşırı sertleşme ve parafin banyosunda gevrek kırılğan olma eğilimi vardır. Bu tür dokuların infiltrasyon süreleri daha az olmalıdır.
- **Büyükük ve kesit kalınlığı :** Dokunun büyükükü ve kalınlığı, doku takibini tüm basamaklarda olduğu gibi tam dokuya parafin infiltrasyonunu etkiler. Kalın dokunun merkezine parafin penetrasyonu için uzun zaman gerekir. Ayrıca kalın doku daha fazla şeffaflaştıcı madde taşır ve bunu çıkarmak için de daha fazla parafin değişimi gerekir. Bunlar doku takip sürelerini uzatır.

Doku takibinde ajitasyon, ısı, viskozite ve vakum gibi faktörler doku takip sürelerinin belirlenmesinde etkili olur.

## UYGULAMA FAALİYETİ

**Dokuların parafine gömülmesini yapınız.**

İşlem Basamakları	Öneriler
➤ Doku numunelerinin takibini yapınız.	➤ Doku takip işlemi sırasına uyunuz.
➤ Dokuları etüvdeki erimiş parafin serilerine aktarınız.	➤ Parafin ısısının erime noktasında olmasına dikkat ediniz.
➤ Parafin kalıplarını hazırlayınız.	➤ Dokuları pens ile tespit ederek üzerini parafin ile doldurunuz.
➤ Parafini tankta eritiniz.	➤ Parafin ısısı erime derecesinin çok üstünde ise parafininizi soğutunuz.
➤ Kalıpları erimiş parafinle doldurunuz.	➤ Parafin ısısı, erime derecesinin altında ise parafini ısıtınız.
➤ Parafinli dokuları etüvden alarak kalıplardaki parafine gömünüz.	➤ Dokuları etüvden alırken dikkat ediniz.
➤ Doku kimliği bilgilerini kâğıda yazarak ilgili kalıplardaki erimiş parafin üzerine yerleştiriniz.	➤ Bloklar sertleşmeden etiketleri monte ediniz. ➤ Etiketlemede kurşun kalem kullanmaya dikkat ediniz.

## ÖLÇME VE DEĞERLENDİRME

1. Doku gömme cihazında doku yerleştirilmesinde kullanılan blok kabı aşağıdakilerden hangisidir?  
A) Dispenser  
B) Base mould  
C) Forseps  
D) L demiri
2. Aşağıdakilerden hangisi, parafin eritme cihazıdır?  
A) Doku depo tankı  
B) Bese mould  
C) Forseps  
D) Dispenser
3. Doku takibi tamamlanmış dokunun infiltrasyon ortamı ile kaplanmasına ne ad verilir?  
A) L demiri  
B) Bese mould  
C) Bloklama  
D) Boyasız doku
4. Aşağıdakilerden hangisi doku bloklamasında yanlış bir uygulamadır?  
A) Çok katmanlı dokuların sadece tek bir katmanı gözükecek şekilde  
B) Tek katmanlı parçanın geniş kesit yüzeyi alta gelecek şekilde  
C) Çok katmanlı dokuların tüm katmanlarının kesitte dokular gözükecek şekilde  
D) Tüp yapısındaki bir lümene sahip dokular iç boşluğu kesitte gözükecek şekilde
5. Aşağıdakilerden hangisi, doku gömme maddesi değildir?  
A) Selloidin  
B) Balmumu  
C) Parafin  
D) Kloroform

## DEĞERLENDİRME

Cevaplarınızı cevap anahtarıyla karşılaştırınız. Yanlış cevap verdiğiniz ya da cevap verirken tereddüt ettiğiniz sorularla ilgili konuları faaliyete geri dönerek tekrarlayınız. Cevaplarınızın tümü doğru ise bir sonraki öğrenme faaliyetine geçiniz.

# ÖĞRENME FAALİYETİ-3

## AMAÇ

Bu faaliyette verilen bilgi ve becerilerle dokulardan kesit alma işlemlerini eksiksiz yapabileceksiniz.

## ARAŞTIRMA

- Veteriner kliniğinin patoloji laboratuvarlarında parafin bloklardan mikrotomla kesit alma işlemini gözlemleyiniz.
- Mikrotomun çalışma prensibini araştırarak edindiğiniz bilgileri arkadaşlarınızla paylaşınız.

## 3. DOKULARDAN KESİT ALMA

Işık mikroskopunda incelenecek preparatların hazırlanması için doku bloklarından 3-6µ arası kalınlıkta doku kesitleri yapılması gerekir. Bu amaçla, parafin bloklardan ince doku kesitleri yapabilen mikrotom denilen cihazlar kullanılır. Kesit işleminde mikrotomun yanında sıcak su banyosu, lam vb. araç gereçlere ihtiyaç duyulur.

### 3.1. Parafin Bloklarından Kesit Alma

En yaygın kullanılan sertleştirici maddedir. Kolay kullanılabilir olması, dokuya az zarar vermesi nedeniyle tercih edilmektedir. Parafin, petrolden elde edilmektedir. Patolojide rutin işlemlerde parafinin erime noktası 58-60°C'dir. iyi bir infiltrasyon için;

- Doku, parafinde optimum sürede kalmalıdır. Fazla kalırsa dokuda sertleşme ve büzüşmeler meydana gelir.
- Parafinin erime derecesi kaliteli bir doku takibi için her gün kontrol edilmelidir.
- Doku takibinde üç ayrı parafin kabı bulunmalı, son parafin kabında şeffaflandırıcı madde kokusu alınmamalıdır. Parafin infiltrasyonu sonunda dokuda az miktarda şeffaflandırıcı madde kalması, mikrotom kesiti sırasında dokunun ufalanmasına neden olur. Bunun için kaplardaki parafin, iş yüküne bağlı olarak sık sık değiştirilmelidir.
- Takip süresini kısalttığı için parafin ile infiltrasyon genellikle vakum ile yapılmaktadır. Ancak küçük dokularda vakum ve ısı dokulara zarar verebildiğinden küçük ve büyük dokular ayrı ayrı takip edilmelidir. Parafin takipte uygulanan vakum 400 mm/hg basıncını geçmemelidir.

### 3.1.1. Mikrotom Çeşitleri ve Özellikleri

#### ➤ Kızaklı mikrotom

Daha çok selloidine gömülü dokularda ve büyük parafin blokların kesiminde tercih edilir. Rotary mikrotomdan farklı olarak kızaklı mikrotomda blok sabit, bıçak hareketlidir.

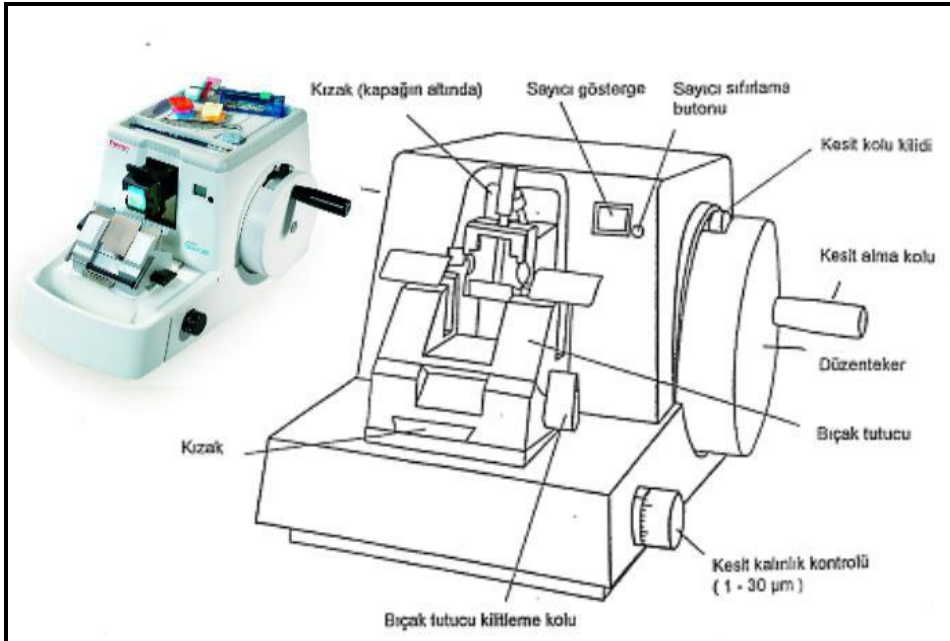
#### ➤ Kriyostat

Acil cerrahi biyopsilerde ve özel boyama tekniklerinde kullanılır. Soğuk alan içine yerleştirilmiş bir çeşit rotary mikrotom yapısındadır. İnce ve seri kesit alınabilmesi ve otomatik sterilizasyon sistemi içermesi cihazın en büyük avantajlarıdır.

#### ➤ Rotary mikrotom

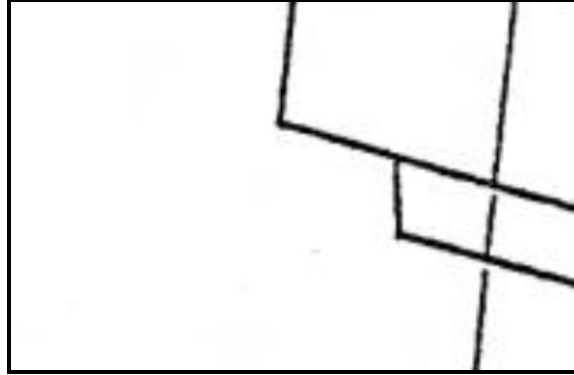
Bugün için birçok patoloji laboratuvarında kızaklı mikrotomun yerini almış durumdadır. Bu mikrotomun avantajı, ışık mikroskobu için parafin dokudan ince ve seri kesit (0,5–60  $\mu$ ) alınabilmesidir. Rotary mikrotomda blok hareketli, bıçak sabittir. Rotary mikrotomda doku örneği, geniş bir el çarkı yardımıyla blok tutucu olukta düşey düzlemde aşağı yukarı hareket eden çelik taşıyıcıya monte edilmiştir. Çarkın her dönüşünde blok, düşey hareketle (ayarlanan kesit kalınlığında) yatay yerleştirilmiş sabit bıçak üzerine ilerler ve bir kesit alınır. Mikrotom üç ana bölümden oluşur.

#### • Mikrotom gövdesi



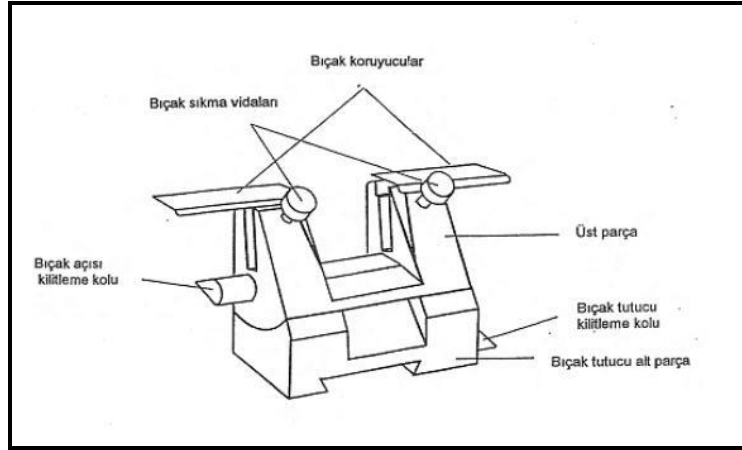
Şekil 3.1: Rotary mikrotom ve bölümleri





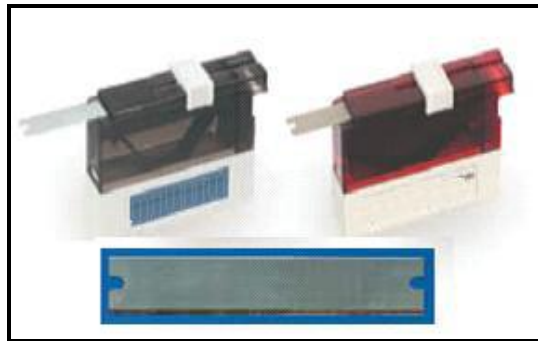
Şekil 3.2: Rotary mikrotom bölümleri

- Bıçak tutucusu ve bıçak



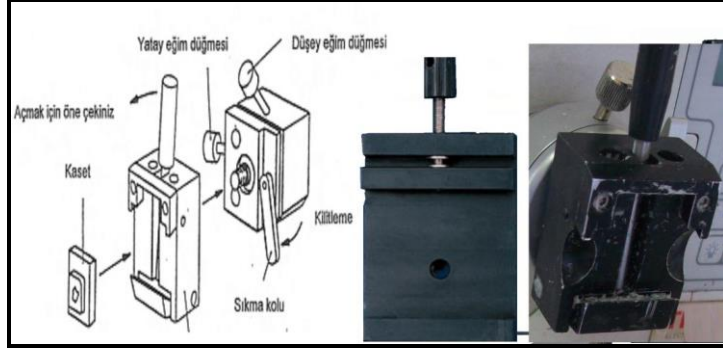
Şekil 3.3: Rotary mikrotomda bıçak tutucu

Bu mikrotomlarda günümüzde en yaygın kullanılan bıçak çeşidi, disposable bıçaklardır (tek kullanımlık bıçaklar). Bu bıçakların kesit kalitesi oldukça yüksektir. Paslanmaz çelikten imal edilir. Bıçak ağzı platin ve krom ile kaplı olanlar parafine gömülü dokuların kesiminde kullanılırken bıçak ağzı teflon ile kaplı olanlar kriyostatta kullanılır. Blok ve bıçak arasındaki açı genellikle  $5^{\circ}$ – $10^{\circ}$ dir.



Resim 3.1: Disposable mikrotom bıçağı

- **Blok veya materyal tutucusu:** Parafin blokun takıldığı başlıktır. Standart plastik kaset tutuculu ve değişken boyutlu blok tutuculu olan çeşitleri vardır.



**Resim 3.2: Blok tutucu**

### 3.1.2. Rotary Mikrotomu İle Kesit Alma İşlemleri

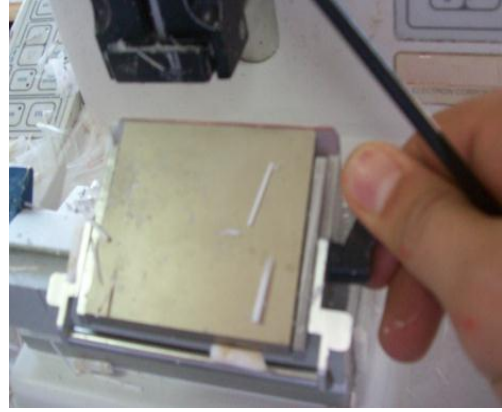
Doku kesit alma işlemleri, birbirini takip eden işlemlerdir. İş yükünün fazla olduğu laboratuvarlarda iki teknisyenin koordineli çalışmasıyla yürütülür. Kesit alma ve dokuları suya atma işlemleri bir teknisyen tarafından yapılırken blok numarasının lama yazılması, kesitin sudan alınması diğer teknisyen tarafından yapılır. Doku kesitlerinin kalitesi, kesiti lama alan teknisyen tarafından kontrol edilir. Doku takip formundaki bilgilerle kesit işleminin sırası, kaç lam kesit yapılacağı, kesitin tekrarlanması vb. işlemleri kesit yapan teknisyen yönlendirir. Bu işlemlerin doğru yapılabilmesi iki teknisyenin uyumlu çalışmalarıyla mümkün olur.

Mikrotomda bloklardan alınan kesitler, ışık geçirgenliğine sahip, saydam ve bir hücre katmanı kalınlığında olmalıdır. Doku hücresinin kalınlığı 3-6µ arasında olmalıdır. [mikrometre (µm) = 0.001mm = 0.000 001m(10<sup>-6</sup> m)]

- Bloklar soğuk ortamdan buz kalıpları üzerine konularak kesit masasına getirilir.
- Cihazın tüm kilitleme kolları kapatılır. Bıçak yatağında ve civarında parafin veya diğer parçacık olmamasına dikkat edilerek disposable bıçak yerleştirilir. Bıçak, bıçak sıkma koluyla sıkıştırılır.



**Resim 3.3: Disposable bıçak takılması**



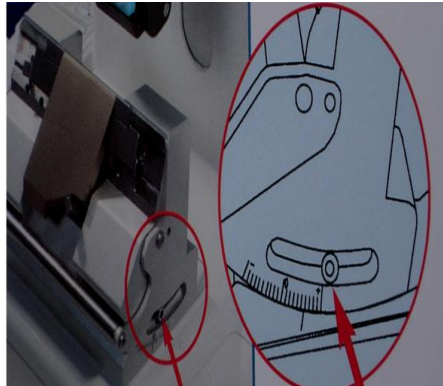
**Resim 3.4: Disposable bıçağın sıkıştırılması**

- Bloklar, mikrotomun blok tutucusuna yerleştirilir. Blok, blok tutucuda oynamayacak şekilde sıkıştırılır.



**Resim 3.5: Blok tutucuya blok yerleştirilmesi**

- Blok kaba besleme kolu çevrilerek mikrotom bıçağına yaklaştırılır.
- Bıçak açısı ayarlanır. Blok ve bıçak arasındaki açı  $5^{\circ}$ – $10^{\circ}$  arasında olmalıdır.



**Resim 3.6: Bıçak ayarı**

- Mikrotom kaba besleme kolu çevrilerek blok bıçağına yaklaştırılır.
- Mikrotom kesit kolu, kaba besleme kolu ile birlikte çevrilerek doku tıraşlaması (dokuya girme) yapılır. Doku tıraşlamasında, dokunun tüm katmanları (deri, deri altı dokusu gözükecek şekilde ) kesitte gözükecek en geniş yüzeyi elde edinceye kadar dokuya girilir. Tıraşlama işleminde mikrotom mikron ayarı 20-30 mikrona getirilerek zamandan kazanıldığı gibi bıçağın çabuk körelmesi önlenir. Daha yüksek mikron ayarında tıraşlama yapılması, parafin blokun kırılmasına neden olur. Mikrotom bıçağı ve çevresinde tıraşlama sırasında oluşan kalıntılar, gazlı bezle veya bir sulu boya fırçasıyla silinerek uzaklaştırılır.
- Kesit alınacak yüzeye karar verildiğinde kesit kalınlık kontrol düğmesi ile mikron ayarı yapılır.
- Kesit alma kolu seri hareketlerle çevrilir. Bıçak üzerindeki ilk parafin slaytı, diğer elin başparmak ve işaret parmağıyla nazikçe tutularak bıçak tutucuya değmeyecek kadar kaldırılır. Bu şekilde bir birine yapışmış kesit şeridi elde edilir. 4-5 slayttan oluşan kesit şeridi elde edilinceye kadar kesite devam edilir. Oluşan kesit şeridinin uç kısmı fırçayla bıçaktan kurtarılarak alınır.



**Resim 3.7: Doku kesiti**

- Oluşan kesit şeridinin serbest kısmı su banyosundaki 35–40°C'deki suya değdirilir, el hızla hareket ettirilerek kesit su yüzeyine serilir. Böylece doku kıvrımlarının düzgün şekilde açılması sağlanır. Buna rağmen su yüzeyinde yüzen kesitlerde kırışıklıklar varsa uygun bir sulu boya fırçası ile düzeltilmeye çalışılır. İyi bir doku kesitinde amaç, dokuların istenen kalınlıkta üst üste katlanmadan bloktaki görüntüsünün bir benzerini lama kesit olarak almaktır.



**Resim 3.8: Doku kesitinin sıcak su banyosuna atımı**



**Resim 3.9: Sıcak su banyosunda doku kesiti**

## **3.2. Taze Dokulardan Dondurma Mikrotomu İle Kesit Alma**

Cerrahi uygulamalar sırasında, deneysel çalışmalarda ötanazi uygulanmadan hemen önce veya agoni durumundaki hayvanlardan alınan doku örneklerinden kriostat adı verilen aletle dondurma kesiti alınır. Bu tip kesit alma; hızlı sonuç istenen olgularda, immunohistokimyasal çalışmalarda, enzim çalışmalarda ve özellikle rutin doku işlenmesi esnasında kaybolan lipid ile bazı karbonhidratların saptanmasında kullanılır. Kullanılan aletin içi -300C gibi çok düşük ısılarda olup devamlı soğuktur.

### **3.2.1. Dokuların Dondurulması**

Kesit alınacak doku örneği aletin doku taşıyıcısı üzerine özel sıvı damlatılarak yapıştırılır ve bu amaç için ayrılmış bölümde (-50 - -55<sup>0</sup>C) bekletilerek doku örneği dondurulur. 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 ulaşmış olacaktır.

### **3.2.2. Kesit Alma İşlemleri**

- Blok numarası ve kodu yazılmış lam, dik şekilde 37- 400C sıcaklıktaki sıcak su banyosuna daldırılır.
- Lam, su üzerinde yüzen doku şeridine yaklaştırılır. Doku şeridi lamla temas ettirilir.
- Lam, doku kesiti alınmış yüzü su yüzeyi ile dar açı yapacak şekilde sudan çıkarılarak doku lam üzerine alınır.
- Lamın alt yüzü gazlı bezle silinir.



**Resim 3.10: Lama doku alımı**

- Doku kesiti alınan lamlar, lam sepetine dik olarak yerleştirilir.



**Resim 3.11: Doku kesiti alınmış lamın doku taşıma sepetine yerleştirilmesi**

- Her blokun kesiti tamamlandıktan sonra su banyosundaki suyun yüzeyinde kalan kesit kalıntıları, gazlı bez/kâğıt şeritle temizlenir. Bu işlem her blok kesiti tamamlandıktan sonra yapılır.
- Lamlar 600C'lik etüvde 1-2 saat süre ile bekletilir.
- Bu sırada doku içindeki parafin erir ve akar.
- Lam üzerinde sadece doku kesiti kalır.
- Preparatlar tüm parafini temizlemek ve dokuyu saydamlaştırmak üzere 20 dakika ksilolde tutulur.
- Daha sonra absolu alkolde ve %96'lık alkolde 5'er dakika tutulur.
- Bundan sonra gerekli boya yöntemleri uygulanır.



<b>SORUNLAR</b>	<b>ÇÖZÜMLER</b>
<b>1. Kesitler katlanıyorsa</b>	
➤ Blok kenarı bıçak ile paralel değildir.	➤ Blok kesit yüzü bıçakla paralel hale gelinceye kadar tıraşlanır.
➤ Bıçak bir alanda kördür. Bıçağın alt kısmında parafin toplanmıştır.	➤ Bıçak yüzünü bıçağı kaydırarak değiştiriniz veya bıçağı değiştiriniz. Bıçak altındaki parafini fırça ile uzaklaştırınız
➤ Bir alanda parafin fazla toplanmıştır.	➤ Fazla parafini fırçalayarak uzaklaştırınız.
<b>2. Alınan Kasetlerin Bir İnce Bir Kalın Olması</b>	
➤ Doku veya laboratuvar ortamı için parafin çok yumuşaktır.	➤ Bloku buzla soğutunuz veya erime noktası yüksek parafine tekrar gömünüz.
➤ Blok veya bıçak iyi tespit edilmemiştir.	➤ Blok veya bistüri bıçağını kontrol ederek iyice tespit ediniz.
➤ Bıçağın blokla olan açısı alçaktır.	➤ Açı hafifçe artırılır yani yükseltilir.
➤ Mikrotomdaki arızadan kaynaklanabilir.	➤ Kontrol ediniz veya bir yetkiliye kontrol ettiriniz.
<b>3. Kesit kalınlığının dalgalı (ince-kalın) olması</b>	
➤ Bıçak veya blok gevşektir.	➤ Kontrol edip bıçak ve bloku sıkıştırınız.
➤ Bıçağın blokla olan açısı yüksektir.	➤ Bıçağın blokla açısı alçaltılır yani bıçak yatırılır.
➤ Kesit için doku veya parafin serttir.	➤ Sert dokulara uygun bıçak kullanınız. Bıçak açısını azaltınız veya doku üzerine yumuşatıcı sıvı kullanınız.
➤ Dokuda kireçlenmiş alanlar vardır.	➤ Hücrelere yeniden su kazandırınız ve kalsiyumsuzlaştırınız veya yüzey dekalsifikasyonu uygulayınız.
<b>4. Kesitlerde Bıçak Açısına Bağlı Olarak Çatallanma Veya Çentiklenme</b>	
➤ Bıçak yüzünde bozukluk veya parafin birikmesi vardır.	➤ Bıçak yüzeyinde bozukluk varsa bıçağı değiştiriniz ama önce bıçak yüzeyini temizleyiniz.
➤ Dokuda sert parçacıklar vardır.	➤ Şayet kalsiyum varsa dekalsifikasyon uygulayınız. Mineral veya diğer tip materyaller varsa keskin bir bisturi ile bu kısımları uzaklaştırınız.
➤ Parafinde sert parçacıklar vardır.	➤ Taze filtre edilmiş parafine yeniden gömünüz.
<b>5. Ardışık (seri) kesitler alınamıyorsa</b>	
➤ Kesit alma koşulları için parafin çok serttir.	➤ Bloku nefesinizle ısıtınız veya daha düşük ısıda eriyen parafine yeniden gömünüz.

➤ Bıçak kenarında artıklar vardır.	➤ Bıçağın kesit yüzünün arkasından fırça ile temizleyiniz veya ksilolle nemlendirilmiş yumuşak bir bezle keskin yüzeye zarar vermeden siliniz.
➤ Bıçak açısı çok dik veya çok alçaktır.	➤ Bıçağı uygun açığa getirerek ayarlayınız.
<b>6. Bıçak geri dönerken parafin kesitler bıçağa yapışıyor</b>	
➤ Bıçak açısı yetersizdir yani alçaktır.	➤ Bıçak açısını yükseltiniz.
➤ Bıçak kenarında parafin vardır.	➤ Fırça ile veya ksilolle nemlendirilmiş yumuşak bir bezle keskin yüzeye zarar vermeden bıçağı temizleyiniz.
➤ Blok kenarında kalıntı parafin vardır.	➤ Keskin bir bıçakla tıraşlayarak artıkları uzaklaştırınız.
➤ Ardışık (seri) kesitlerde durgun elektrik oluşmuştur.	➤ Mikrotomu topraklayınız. Bıçak yakınına sıcak su getirerek buharla nemlendiriniz veya bunzen beki kullanarak bıçak etrafındaki havayı deiyonize ediniz.
<b>7. Blok Alanında Bulunan Dokunun Tamamının Kesitte Bulunmaması</b>	
➤ Doku parafinle yetersiz emdirilmiştir.	➤ Doku işlenmesi aşamasındaki son parafinde birkaç saat tutulur. Şayet hata fazlaysa doku yeniden işlenir.
➤ Parafin blok yerinden ayrılıyorsa	➤ Sıcak spatula ile yeniden yapıştırılır.
<b>8. Kesitlerde aşırı basınç varsa</b>	
➤ Bıçak keskin değildir.	➤ Bıçağın kesit yüzeyini değiştiriniz veya bıçağı değiştiriniz.
➤ Doku veya kesit alma koşulları için parafin çok yumuşaktır.	➤ Bloku buzla soğutunuz veya yüksek ısıda eriyen parafinle yeniden bloklayınız.
<b>9. Kesitler doku banyosundaki suda yayılıyor ve dağılıyorsa</b>	
➤ Doku parafinle kötü emdirilmiştir.	➤ Doku işlenmesi aşamasındaki son parafinle birkaç saat tutulur.
➤ Doku banyosunun suyu çok sıcaktır.	➤ Banyonun sıcaklığını uygun ısıya (40-45C <sup>0</sup> ) düşürünüz.
<b>10. Doku kesitleri bıçak üzerinde düzgün gelmiyor katlanıyor veya büzülüyorsa</b>	
➤ Bıçak keskin değildir.	➤ Bıçağın kesit yüzeyini değiştiriniz veya bıçağı değiştiriniz.
➤ Bıçağın kesme açısı çok azdır.	➤ Bıçağı uygun açığa getirerek ayarlayınız.
➤ Kesitler kalındır.	➤ Kesit kalınlığını azaltınız veya biraz daha yüksek ısıda eriyen parafin kullanınız. Kesim aşamasında bloğa üfleyiniz.

**Tablo 1.1: Kesit almada karşılaşılan sorunlar ve çözümleri**



## UYGULAMA FAALİYETİ

Dokulardan kesit alma işlemini yapınız.

İşlem Basamakları	Öneriler
<b>Parafin bloklardan kesit almak için:</b>	
➤ Su banyosunun sıcaklık ayarını yapınız.	➤ Su banyosu kullanma kurallarına dikkat ediniz.
➤ Bıçak tutuculara bıçakları takınız.	➤ Bıçaklar bıçak sıkma koluyla sıkıştırılır.
➤ Bıçak tutucuyu mikrotoma takınız.	➤ Mikrotom çeşitleri ve özelliklerine uygun bıçak takınız.
➤ Bıçak tutucunun açı ayarını yapınız.	➤ Blok ve bıçak arasındaki açının 5-10 <sup>0</sup> olmasına dikkat ediniz.
➤ Doku bloklarını blok /kaset tutucuya takınız.	➤ Blokları mikrotomun blok tutucusuna yerleştiriniz ve blok tutucuda oynamayacak şekilde sıkıştırınız.
➤ Dokuyu kesiniz.	➤ Doku kesitini tekniğine uygun olarak alınız.
➤ Doku kesitini fırça yardımıyla bıçaktan alınız.	➤ Fırça kullanılırken doku kesitine el değmemesine dikkat ediniz.
➤ Doku kesitini benmariye aktararak düzeltiniz.	➤ Benmaride sıcaklığın 37-40 <sup>0</sup> C olmasına dikkat ediniz.
➤ Doku preparatını kurutunuz.	➤ Doku preparatlarının homojen bir şekilde kurumuş olmasına dikkat ediniz.
<b>Dondurarak dokulardan kesit almak için:</b>	
➤ Dondurma mikrotomunun sıcaklık ayarını yaparak dondurma platformunun donmasını bekleyiniz.	➤ Doku örneğinin donması için sıcaklığın -50,-55 <sup>0</sup> C olmasına dikkat ediniz.
➤ Taze doku numunelerini dondurma platformuna yerleştirerek donması için yeterli süre bekletiniz.	➤ Her numune için gerekli olan süreye uyunuz.
➤ Donmuş dokudan istenen kalınlıkta kesit alınız.	➤ Dokunun kesitinin yapılacak işleme göre ayarlanmasına dikkat ediniz.
➤ Kesitleri suda düzeltiniz.	➤ Kesitlerin suda katlanmamasına dikkat ediniz.
➤ Kesitleri lam üzerine alınız.	➤ Lamaları 60 <sup>0</sup> C'lik etüvde 1-2 saat süre ile bekletiniz.
➤ Doku preparatını kurutunuz.	➤ Doku preparatlarının homojen bir şekilde kurumuş olmasına dikkat ediniz.

## ÖLÇME VE DEĞERLENDİRME

Aşağıdaki soruları dikkatlice okuyunuz ve doğru seçeneği işaretleyiniz.

1. Parafin bloktan mikron inceliğinde kesitler yapan cihaz aşağıdakilerden hangisidir?  
A) Mikrotom  
B) Bıçak tutucu  
C) Doku takip cihazı  
D) Ototeknikon
2. Doku preparatları kesit sonrası hangi amaçla etüve bekletilir?  
A) Dokuların kurummasını ve lama tutunmalarını artırmak  
B) Dokuları dekalsifiye etmek  
C) Dokuları şeffaflaştırmak  
D) Doku kırışıklıklarını gidermek ve şeffaflaştırmak
3. Doku su banyosu hangi amaçla kullanılır?  
A) Doku kesitlerindeki infiltre parafinin eritilmesinde  
B) Doku bloklarının ısıtılmasında  
C) Doku kesitlerini lama almada  
D) Katı parafinin eritilmesinde
4. Aşağıdakilerden hangisinde kesit işlemi doğru olarak sıralanmıştır?  
A) Mikrotomla kesit → doku kesitini lama alma → kesitlerin etüve kaldırılması → blok soğutma  
B) Doku kesitini lama alma → mikrotomla kesit → kesitlerin etüve kaldırılması → blok soğutma  
C) Kesitlerin etüve kaldırılması → mikrotomla kesit → doku kesitini lama alma → blokları soğutma  
D) Blok soğutma → mikrotomla kesit → doku kesitini lama alma → kesitlerin etüve kaldırılması

## DEĞERLENDİRME

Cevaplarınızı cevap anahtarıyla karşılaştırınız. Yanlış cevap verdiğiniz ya da cevap verirken tereddüt ettiğiniz sorularla ilgili konuları faaliyete geri dönerek tekrarlayınız. Cevaplarınızın tümü doğru ise “Modül Değerlendirme” ye geçiniz.

# MODÜL DEĞERLENDİRME

Aşağıdaki soruları dikkatlice okuyunuz ve doğru seçeneği işaretleyiniz.

1. Parafinizasyon işlemi sırasında parafinin ısısı kaç derece olmalıdır?  
A) 30-40°C  
B) 10-15°C  
C) 40-50°C  
D) 58-60°C
2. Doku takibinde solüsyonların dokuya daha iyi nüfuz etmesi, hava kabarcıklarının giderilmesinde aşağıdaki faktörlerden hangisi daha etkilidir?  
A) Ajitasyon  
B) Isı  
C) Viskozite  
D) Vakum
3. Aşağıdakilerden hangisi doku takip süresini kısaltıcı bir faktör değildir?  
A) Yüksek ısı  
B) Düşük ısı  
C) Vakum  
D) Ajitasyon
4. Doku dehidrasyonunda yükselen alkol konsantrasyonu kullanılmasının amacı nedir?  
A) Dokuyu yavaş yavaş dehidre ederek sertleştirmek  
B) Dokuyu yavaş yavaş dehidre ederek yumuşaklığını korumak  
C) Dokuyu yavaş yavaş dehidre ederek fikse etmek  
D) Dokuyu yavaş yavaş dehidre ederek hücre büzölmelerini önlemek ve sertleştirmek
5. Doku işlenmesi sürecinin ilk ve en önemli aşaması nedir?  
A) Parafin emdirme  
B) Dehidrasyon  
C) Tespit  
D) Saydamlaştırma
6. Doku işlenmesi sürecinde aşağıdakilerden hangisi emdirme için uygun değildir?  
A) Parafin  
B) Jelatin  
C) Agar  
D) Gliserin
7. Dondurma kesiti alma aşağıdaki hangi durumda kullanılamaz?  
A) Hızlı sonuç istendiğinde  
B) Düzgün histolojik yapı gözlenmek istendiğinde  
C) Enzim çalışmalarında  
D) Lipid ve karbonhidratların saptanmasında

8. Doku işlenmesi sürecinde aşağıdakilerden hangisi saydamlaştırmada kullanılmaz?  
A) Tolue  
B) Ksilol  
C) Kloroform  
D) Propilen oksit
9. Mikroskopik inceleme sürecinde doku örneğinin geçirdiği aşamalar sırasıyla hangisidir?  
A) Örnek alma ve makroskopik değerlendirme, tespit, dehidrasyon, yıkama, saydamlaştırma, emdirme, bloklama, kesit alma  
B) Örnek alma ve makroskopik değerlendirme, tespit, yıkama, saydamlaştırma, dehidrasyon, emdirme, bloklama, kesit alma  
C) Örnek alma ve makroskopik değerlendirme, tespit, yıkama, dehidrasyon, saydamlaştırma, emdirme, bloklama, kesit alma  
D) Örnek alma ve makroskopik değerlendirme, tespit, yıkama, emdirme, saydamlaştırma, dehidrasyon, bloklama, kesit alma
10. Dokuların suyunu almak için aşağıdaki maddelerden hangisi kullanılır?  
A) Ksilol  
B) Formol  
C) Alkol  
D) Amonyak

## DEĞERLENDİRME

Cevaplarınızı cevap anahtarıyla karşılaştırınız. Yanlış cevap verdiğiniz ya da cevap verirken tereddüt ettiğiniz sorularla ilgili konuları faaliyete geri dönerek tekrarlayınız. Cevaplarınızın tümü doğru ise bir sonraki modüle geçmek için öğretmeninize başvurunuz.

# CEVAP ANAHTARLARI

## ÖĞRENME FAALİYETİ-1'İN CEVAP ANAHTARI

1	A
2	C
3	D
4	C
5	A

## ÖĞRENME FAALİYETİ-2'NİN CEVAP ANAHTARI

1	B
2	D
3	C
4	A
5	D

## ÖĞRENME FAALİYETİ-3'ÜN CEVAP ANAHTARI

1	A
2	A
3	C
4	D

## MODÜL DEĞERLENDİRMENİN CEVAP ANAHTARI

1	D
2	D
3	B
4	D
5	C
6	D
7	B
8	D
9	C
10	C

## KAYNAKÇA

- ÖZFİLİZ Nesrin, Hatice ERDOST, Levent ERGÜN, Asuman ÖZEN, **Temel Veteriner ve Embriyoloji**, T.C. Anadolu Üniversitesi Yayını No: 2322, Açık Öğretim Fakültesi Yayını No: 1319, Eskişehir, Eylül 2011.
- AÇIKALIN Ergin, Cengiz BAYÇU, Firdevs GÜRER, Erinç ARAL, **Histoloji**, T.C. Anadolu Üniversitesi Yayınları No:894, Eskişehir, 1995.
- AKAY M. Turan, **Genel Histoloji**, Yücel Ofset, Ankara, 1997.
- AKAY M. Turan, **Genel Histoloji Atlası**, Palme Yayıncılık, Ankara, 2004.
- ANDERSON W.A.D., Thomas M. SCOTTİ, **Kısa Patoloji**, Nobel Tıp Kitabevi, İstanbul, 1986.
- ARSLAN Nuğran, **Histoloji ve Histopatoloji**, Çare Tek Bilim Eğitim Limited Şirketi, Ankara, 2001.
- CANDA Şerafettin, Tülay CANDA, **Temel Patoloji**, Dilek Basımevi, Sivas, 1988.
- DEMİR Ramazan, Selma YILMAZER, Melek ÖZTÜRK, İsmail ÜSTÜNEL, Necdet DEMİR, Emin TÜRKAY KORGUN, Gökhan AKKOYUNLU, **Histolojik Boyama Teknikleri**, Palme Yayıncılık, Ankara, 2001.
- KUMAR Vinay, Ramzi COTRAN, S. ROBBINS, L. STANLEY, **Temel Patoloji**, Nobel Yüce, İstanbul, 1994.
- TEL Nilüfer, Ülkü ÖNER, Özgül PAŞAOĞLU, **Patoloji**, T. C. Anadolu Üniversitesi Yayınları No:495, Eskişehir, 1993.
- YENERMAN Münevver, **Genel Patoloji**, Cilt I, II, İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Vakfı, 1994.