

Patoloji Laboratuvarı



Prof. Dr. Kutsal YÖRÜKOĞLU
Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi
Patoloji Anabilim Dalı

İZMİR

İÇİNDEKİLER

Ön Söz	VI	H&E boyama örnekleri.....	125
Sunuş	VII	H&E boyamada kalite kontrolü.....	127
1. Giriş	1	Püf noktaları.....	129
2. Tarihçe	7	Sorunlar-çözümleri	129
3. Neyi neden yapıyoruz?	15	11. Kapama	135
4. Tespit	25	12. Frozen	143
Tespiti etkileyen faktörler	29	13. Sitoloji	153
İkincil tespit.....	32	Tespit.....	156
Tespit sorunları	32	Materyal işleme.....	158
Tespit solüsyonları	33	Hücre bloğu	161
Mikrodalga tespit.....	46	Boyama.....	162
Püf noktaları.....	47	Lam soldurma.....	164
Sorunlar-çözümleri	48	Püf noktaları.....	166
5. Makroskopi	53	Sorunlar-çözümleri	166
Makroskopi teknisyeni	55	14. Histokimya	169
Makroskobik inceleme	56	Müsin boyaları	172
Fotoğraflama.....	64	Bağ dokusu boyaları.....	181
Tespit.....	66	Mikroorganizma boyaları	188
Örnekleme	66	Mantar boyaları.....	193
Cerrahi sınırlar.....	70	Bağ dokusu hücreleri boyaları	197
Materyal listesi	71	Biyojenik amin boyaları	199
6. Dekalsifikasyon	77	Soldurma-uzaklaştırma yöntemleri	210
7. Doku takibi	85	Püf noktaları.....	212
Dehidrasyon	87	15. İmmünohistokimya	215
Şeffaflandırma	89	Epitop açığa çıkarma.....	219
İmpregnasyon	89	Sitolojide immünohistokimya	219
Mikrodalga doku takibi	90	Frozenda immünohistokimya	220
Doku takibi örnekleri.....	91	Pozitif ve negatif kontroller	220
Geri takip	93	Zemin boyanması.....	222
Püf noktaları.....	94	Boyanma sorunları.....	223
Sorunlar-çözümleri	94	Standardizasyon	223
8. Gömme	97	Multipleks immünohistokimya	224
9. Kesit	105	Kalite kontrol parametreleri	225
10. Boyama	117	Boyama örnekleri	226
Hematoksilen	120	Püf noktaları.....	228
Eosin	123	Sorunlar-çözümleri	228

16. İmmü floresan	233	Doku gömme cihazı.....	311
17. Moleküler	239	Lam yazma cihazı.....	312
Hibridizasyon	243	Mikrotom	313
PCR.....	244	Su banyosu.....	316
Mutasyon analizi.....	246	Frozen cihazı.....	316
Doku mikroyarray	246	Frozen boyama cihazı.....	318
Akım sitometrisi.....	247	Santrifüj cihazı.....	318
Biyobanka	248	Sitosantrifüj cihazı.....	318
Moleküler tekniklerin kullanım alanları.....	249	Boyama cihazı	318
Endikasyonlar	251	Kapama cihazı	320
Süreç.....	252	Histokimya boyama cihazı	320
Materyaller.....	253	İmmünohistokimya boyama cihazı	320
Soğuk iskemi	254	Püf noktaları.....	325
Tespit.....	255	22. Arşiv	327
Dekalsifikasyon	256	23. Artefaktlar	335
Raporlama.....	256	24. Patolojide toplam kalite	357
Arşiv	258	Sağlıkta kalite standartları.....	365
Kalite kontrolü.....	259	Kalite programı yazma	392
Püf noktaları.....	261	Hatalar	396
18. Mikroskopi	263	Laboratuvar yönetimi.....	398
Polarize mikroskop.....	272	25. İş yükü	407
Floresan mikroskop	272	26. Mesleki riskler ve güvenlik	413
Mikroskop ayarı.....	273	Formol	415
Mikroskop bakımı ve temizliği	274	Ksilol	419
Fotoğraflama.....	276	Aromatik aminler.....	419
19. Elektron mikroskopi	279	Fiziksel hasarlar	420
20. Atık yönetimi	285	Önlemler.....	420
21. Cihazlar	295	Biyolojik riskler	422
Yeni cihaz alımı	297	Fiziksel riskler.....	425
Teknik şartname.....	299	Genel güvenlik.....	426
Otomasyon	301	27. Etik ve hukuk	431
Cihaz sarf malzemesi.....	301	Etik	433
İn vitro cihaz.....	303	Biyoetik.....	433
Makroskopi kabini	304	Yasal konular	436
Kemik kesme cihazları.....	305	Otopsi	443
Dekalsifikasyon cihazı.....	306	Bilirkişilik	443
Kaset yazma cihazı.....	306		
Doku takip cihazı.....	307		

28. Raporlama	447	32. Sözlük - Kısaltmalar - Ekler	509
29. Dijital patoloji	465	Sözlük.....	511
Sanal mikroskop	467	Eklemeler	518
Dijital mikroskop	470	Kısaltmalar.....	520
Fotoğraflama.....	470	Biyogüvenlik sınıfları	521
İnformatik.....	472	Güvenlik kabini sınıfları.....	522
30. Yapay zekâ	477	Biyolojik tehlike sınıflaması	522
31. Patoloji laboratuvarı kuruyoruz	485	İmmünohistokimyasal antikor	
Materyal kabul alanı.....	489	sınıflaması.....	522
Makroskopi salonu	489	Duyarlılık ve özgüllük.....	522
Havalandırma	496	Saf su	523
		Eldivenler	524
		Piktogramlar.....	526
		Akış çizelgesi.....	528
		33. Dizin	529

Bölüm 1 >

Giriş

1

Patoloji; morfolojik teknikleri kullanarak semptomları açıklayan, ölüm nedenini belirleyen, tedaviyi yönlendiren, hastalığın seyrini öngören tıp dalıdır.

14. yy, Rönesans, İtalya

Giriş

Yunanca ızdırap anlamına gelen pathos (πάθος), ve çalışmak anlamına gelen logia (λογία) sözcüklerinden türeyen patoloji, hastalık bilimi anlamına gelmektedir. Hastalık ile uğraşan bilim dalı olduğu için patolojinin başlangıcı, tıp ile özdeş düşünülebilir. Hastalıklar ile ilgili ilk gözlemler Mısır'da mumyalama sırasında yapılan gözlemlere dayandırılır ve bu konuda ilk kayıtlar o döneme ait papiruslarda vardır. Sonrasında otopsiler başlar. Papirus kayıtları MÖ 1500 yıllarına dayanırken ilk otopsinin yapılması MS 1100 yılı civarıdır. Otopsilerden elde edilen bilgilerin patolojide yani tıpta ilerleme sağlaması Rönesans döneminde olur. Gözlemlere ve kanaatlere dayalı ilk bölüm görüldüğü gibi çok uzun sürmüştür. Otopsiler ile gözlemlerin objektif temellere dayandırılması olan ikinci dönem ile ilerlemeler de hızlanır. Buraya kadar olan iki dönemde patolojinin makroskobik gözlemlere yani morfolojiye dayalı olduğunu görüyorsunuz. Sonrasında üçüncü dönem olarak bu makroskobik gözlemlere mikroskobinin eklenmesi ile olmuştur diyebiliriz. Ve artık bu dönemlerin de daha kısa sürdüğünü, teknolojik gelişmelerin de katkısı ile yeni dönemlere geçişleri görmekteyiz. Belli bir aşama sağlandığında artık hastanelerde patolojik inceleme gereksinimi ortaya çıkmış ve 19. yüzyılın başında bir hastanede ilk patolog göreve başlamıştır. Bu dönemde mikroskobik inceleme için gerekli olan teknikler yoğun olarak araştırılmış ve bu amaca yönelik cihazlar da geliştirilmiştir. Teknolojideki ilerlemelerin de katkısı ile

bilimde ilerleme ivme kazanmış, bunun patolojiye de yansımaları belirgin hâle gelmiştir. Önce histokimya, sonra elektron mikroskopi ve ardından immünohistokimya, morfolojik gözlemlere eklenmiştir. Son dönemde ise immünohistokimyaya ek olarak moleküler tekniklerin artık standart hâline geldiğini söylemek yanlış olmaz.

Patolojiye başladığım yıllarda hematoksilen boyası laboratuvarda yapıldı, mikrotom bıçakları tek kullanımlık değildi. Büyük, hatta kocaman bıçaklar kullanılırdı ve ara ara bilenirdi. Çoğu işlem elde yapıldı, otomatik makinelerin kullanımı sınırlıydı. Bu nedenlerle de laboratuvar yönetiminde kimya, fizik bilgisi ön plandaydı. Şu dokuda şu tespit solüsyonu, ksilole alternatif şu ticari solüsyon gibi seçenekler vardı. İmmünohistokimyanın çıktığı ve geliştiği dönemde de şu antikor şu tespit solüsyonu ile daha iyi çalışır, şu yöntem daha iyi, kromojen hangisi olsun gibi seçenekler de çoktu. Bu seçenek çokluğunun özellikle immünohistokimyanın uygulanmasında sorunlar yarattığı fark edilince tüm antikorların ve yöntemlerin tüm laboratuvarlarda aynı sonucu verebilmesi için standart tespit ve yöntem oluşturma ihtiyacı herkesi aynı kulvara yönlendirdi. Bu süreç içerisinde tespit, doku takibi, kesit ve boyama konularında değişik seçenekler ortaya çıkmasına karşın bir şekilde günümüzün formol tespitli parafine gömülü (FTPG) dokulardan alınan kesitlerin Hematoksilen&Eosin (H&E) boyanması standart hâline geldi. Otomasyonun mali etkinliği tartışılırken, yapılan işin tüm laboratuvarlarda aynı olması için şart olduğu ortaya

Bölüm 2 >

Tarihçe

2

Tarihçe

Patologlar, “doktorların doktoru” olarak da tanınırlar. Bunun nedeni, klinisyenlere hastalığın tanısını koymada yardımcı olmalarıdır. Patoloji sözcüğünün kökenine bakarsak; Yunanca ızdırap anlamına gelen pathos (πάθος) ve çalışmak anlamına gelen logia (λογία) sözcüklerinden türemiştir ve hastalık bilimi anlamına gelmektedir. Bu nedenle de patoloji ne zaman başladı sorusunun yanıtı biraz da bakış açısı ile ilişkilidir. Anlamından yola çıkarsak, hastalıkların incelenmesi, anlaşılmasına çalışılması, anlamak için bazı yöntemlerin uygulanmasının başlangıcı olarak kabul etmek gerekir. Bu bakış açısı ile patolojinin başlangıcı Mısır’da hastalıkların dökümanite edilmesi ile 3.500 yıl önce başladı diyebiliriz. Mısır’da mumyalama işlemi sırasında ölüm nedenini anlamak için ilk incelemelerin yapıldığı MÖ 1.500 yıllarına ait papiruslarda kemik kırığı gibi gözlemler yer almaktadır ancak bu incelemeler tam anlamı ile hastalık nedenini ortaya koymak için olmadığı ve sistematik yapılmadığı için çok fazla katkı sağlamamıştır.

Modern patoloji ise Rönesans döneminin anatomisinden doğmuştur. Bu 3.000 yıllık dönemde eski Yunan’da Hipokrat ve Aristo, Romalılarda Celsus ve Galen, Bizanslarda Aetius ve Arap dünyasında İbn-i Sina ve İbn-i Zühr tıp biliminin gelişimine önemli katkılar sağlamışlardır.

İlk otopsiyi yapan 1091-1161 yılları arasında yaşamış olan Endülüslü Arap hekim İbn-Zühr’dür (Avenzoar). Ama modern patolojinin doğuşu Antonio Benivieni’nin hastalıkların nedenini ve has-

talının semptomlarını anlamak için otopsi yapması olarak kabul edilir. Patoloji terimini ilk kullanan 1554 yılında yayımlanan “*Medicina*” adlı kitabında Fernel olmuştur. Epey sonra GB Morgagni 700 otopsinin bulgularını 1769’da yayınlayarak hastalıkların anatomik temellerine inen kişi olur ve günümüzde de en büyük patolog olarak bilinir. Günümüz patolojisi; anatomi, fizyoloji ve patoloji temelinde gelişmiştir. Histopatolojinin doğuşu, kanserin doğası ve yapısını anlamak için 1838’de mikroskop kullanan Johannes Muller’e (1801-1858) atfedilir.

Patolojinin gelişiminde ve bugüne gelinmesindeki basamak taşları mikroskobun gelişimi, tespit solüsyonları, mikrotomun geliştirilmesi, doku gömme yöntemi, boyama, frozen kesit, otomasyon, elektron mikroskobi, histokimya, polarize ve floresan mikroskobi, immünohistokimya ve moleküler patoloji olarak özetlenebilir (**Resim 2-1**).

Optik konusunda ilk iki kitap 13. yüzyılda Pecham ve Witelo (*Perspectiva*) tarafından yazılmış, bu kitaplarda görme konusu ve kırılma gibi olaylar incelenmiştir. 16. yüzyılda Giambattista della Porta’nın *Magia Naturalis* kitabının optik bölümünde içbükey ve dışbükey aynalar, mercekler, uzağı görmeyi sağlayan gözlükler incelenmektedir. İçbükey ve dışbükey merceklerle çok uzak ve çok yakındaki cisimlerin daha iyi görülebileceğini açıklayarak Porta teleskop ve mikroskobun ilkelere ulaşmıştır. İlk kompozit mikroskop 1591’de Zacharias Jansen tarafından yapılır. Bu mikroskoplarda sferik ve kromatik sapma sorunları vardır ve materyalden yansıyan ışık aracılığı ile görüntü

Hayran olmak... ve eskinin, modernin, gelenekselin değil, her zaman ve yalnızca gerçeğin peşinden gitmek.

Morgagni

Bölüm 3



Neyi Neden Yapıyoruz?

3

Öğrenme Hedefleri

Tespit nedir?

Doku takibi nedir?

Lamdaki dokuda ne görmeyi bekliyoruz?

Laboratuvarda hangi işi neden yapıyoruz?

Laboratuvarda yaptığımız işlerin başka yolu yok mu?

Neyi Neden Yapıyoruz?

Patolojide hastalıklar ile ilgili bilgiye ulaşmada temelde makroskobik gözlemi ve ışık mikroskobik incelemeyi, gerektiğinde histokimyayı, immünohistokimyayı ve moleküler incelemeleri kullanıyoruz. Ana hedefimiz ışık mikroskobik inceleme. Bunun için dokuyu tamponlu formolde tespit ediyoruz. Tespitte amacımız dokunun bozulmasını engellemek, morfolojisini korumak, immünohistokimya ve moleküler incelemeler için uygun ve yeterli olmasını sağlamak. Daha sonra doku takibi dediğimiz işlem, ardından gömme, kesit, boyama ve kapama. Bunların hepsi de dokuyu ışık mikroskobik inceleme için uygun hâle getirmeyi hedefliyor.

Işık mikroskobunda hedefimiz 2 boyutlu bir görüntü elde etmektir ve ışık mikroskobunun ayırım gücü (rezolüsyon) $0.5 \mu\text{m}$ 'dir. Bu, ışık mikroskobunda görebileceğiniz en küçük boyutu anlatır. Lama aldığımız dokuda 3. boyutu, yani dokunun derinliğini görmek istemiyoruz. *Kalın kesitte hücreler üst üste görülür, biz ise hücreleri tek sıra hâlinde görmek isteriz.* Bunun için, doku en fazla $6 \mu\text{m}$ kalınlıkta olabilir. İdeali $4 \mu\text{m}$ olarak kabul edebiliriz. Bir maddeyi bu kadar ince kesebilmek için sertleştirmeniz gerekir. Örneğin; ekmeği fırından çıkınca ince kesemezsiniz. Keserken de morfolojisine (yani dokusuna, görünümüne) zarar verirsiniz. Bayat bir ekmeği ise ince dilimleyebilirsiniz. Ama dilimlerken kuruma ve gevrekleşme nedeni ile ekmeğin kırıntılar halinde döküldüğünü görürsünüz. Yani ekmek sertleşirken suyunu da kaybetmiştir ve yine dilimlerken sorunla karşılaşsınız. Bir başka

örnek olarak da sucuğu ele alalım. Tazeyken aynı şey söz konusudur; ince dilimleyemezsiniz ve dilimlerken morfolojisini bozarsınız. İyice sertleşmiş bir sucuğu ise ince kesebilirsiniz, suyunu tam olarak kaybetmediği için ekmekte yaşadığımız kırıntı oluşumunu yaşamazsınız. Konumuza dönersek; dokuyu sertleştirmek yetmiyor, aynı zamanda gevrekleşmenin önüne geçmelisiniz, biraz kaygan hâle getirmelisiniz ve tabii ki o incelikte kesebilecek yeteneğiniz veya makineniz olmalı. Ayrıca dokunun ince kesilebilmesi için kalıba konması gerekir. Kalıpta dokunun içi ve dışı farklı yoğunlukta olursa kesit alınamaz veya kesit kalitesinden ödün verilir. Örneğin, sucuk dilimini parafine gömerseviz mikrotomda kesemezsiniz. Her kesit alışınızda parafin kesilirken, sucuk geriye kaçar. Bu nedenle de dokunun ve kalıbın aynı yoğunlukta olması yani dokunun içine de kalıp maddesinin girmesi gerekir. İşte bu amaçlarla dokunun içerisinden suyu alıp, içeriye parafin sokuyoruz. Parafin kullanmamızın nedenleri;

1. Ucuz,
2. Kolay ulaşılabilir,
3. Oda sıcaklığında katı, dokuya zarar vermeyecek sıcaklıklarda sıvı,
4. Çevreye zararsız,

olması olarak sıralayabiliriz. Doku takibinde, dokuya zarar vermemek için $60-65^{\circ}\text{C}$ 'nin üzerine çıkmamak gerekir. Parafin ise, $48-66^{\circ}\text{C}$ 'de eriyen bir maddedir. Dokuyu $4-5 \mu\text{m}$ inceliğinde kesebilecek sertliğe ulaştırmanın bir başka yolu ise dokuyu dondurmaktır. Bunu, hepinizin bildiği gibi frozen

Uygarlık yolunda başarı yenileşmeye bağlıdır. Sosyal hayatta, iktisadi hayatta, ilim ve fen sahasında başarılı olmak için tek gelişme ve ilerleme yolu budur.

Mustafa Kemal Atatürk

Uygulama

Bir biyopsinin mikroskopta incelenebilir hâle gelmesi için yapılan işleri ve mekanizmalarını bir akış çizelgesi hâline getirin. (Akış çizelgesinin nasıl yapılacağı Ekler bölümünde yer alıyor).

Neyi neden yapıyoruz konusunu anlattığım her ortamda sonunda şu soruyu soruyorum:

Frozen için gelen bir dokuyu kestiniz. Şimdi H&E boyayacaksınız. Lamı ilk önce hangi solüsyona batırırsınız? Size de soruyorum. Lütfen iyi düşünün. Yanıtlarınızı arkadaşlarınız ile tartışın. Farklı solüsyonlara batırdığınızı göreceksiniz. Doğruyu bulmaya çalışın. Yanıtı frozen bölümünde var!

Olur ya, diyelim ki reçineniz bitti. Yerine kullanabileceğiniz ve her yerden kolayca bulabileceğiniz ne var? 3-5 lam için ama rutin için değil!

Bölüm 4 >

Tespit

4

Öğrenme Hedefleri

Tespit nedir?

Tespite ne zaman başlanmalıdır?

En iyi tespit solüsyonu hangisidir?

Soğuk iskemi nedir?

Tespite etki eden faktörleri sıralayın.

Tespit süresi en az ve en çok ne kadar olmalıdır?

Tespit süresini nasıl kısaltırsınız?

Bir kenarı 10 cm olan küp şeklindeki bir dokuyu tespit etmek için ne kadar tespit solüsyonu gerekir?

Formol nasıl tamponlanır?

Tespit

Tespit üç şekilde yapılabilir; ısı, perfüzyon ve immersiyon. Isı ile tespit daha çok mikrobiyolojide kullanılmaktadır. Lama yayılan materyalde ben-sen burner alevine tutularak yapılan tespiti örnek verebiliriz. Perfüzyon ile tespit kan damarı içerisine, organ veya kalbe tespit solüsyonu enjekte edilerek tüm organizma tespit edilir. Tabii ki, organ/canlı ölür! Hayvan deneylerinde uygulanan bu yöntem hâlâ kullanılıyor mu bilmiyorum ama yöntem patolojiye de uyarlanmıştır. Örneğin, akciğer lobektomi materyalini bronşlardan veya arterlerinden fiziksel enjekte ederek her tarafına solüsyonun ulaşmasını sağlayarak tespit edebilirsiniz. İmmersiyon ile tespit ise materyalin tespit solüsyonuna konması ile yapılan yani bizim bildiğimiz tespit şeklidir. Dondurarak kurutma, sprey sıkarak tespit ve mikrodalga tespiti de bu yöntemlere eklemek gerekir.

Hücreler, organizmadan ayrılır ayrılmaz otoliz süreci başlar. İlk 10 dakika içerisinde mitokondriler bozulmaya başlar. İlk 1 saat içerisinde enzimler kaybolur. Çıkarılan dokunun çevresindeki hücrelerde bu olaylar daha hızlı ve erken gelişir. Dokunun ortalarına doğru bu etkiler daha geç başlar. Bu değişiklikler oda ısısında daha hızlı, soğukta daha yavaş gelişir. Hücredeki enzimler ile dokuda ve ortamda bulunan mikroorganizmalar bu sürece etki eder. Tespitin amacı, bu enzimleri ve dokudaki proteinleri stabilize etmek, mikroorganizmaları ortadan kaldırmaktır. Bu arada uygulanan tespit kullanılabilecek/uygulanacak yöntemleri de etkilememesi gerekir. Uygulanan yöntem; yapıyı korumalı ve dokuyu sertleştirmeli, solüsyon halden jel hâline dönüştürmeli, yapıların görsel farklarını keskinleştirmeli ve boyanma özelliklerini korumalıdır. Bu arada da doku ve hücreler canlı hâline en yakın biçimde korunmalıdır. Bunların hepsini sağlayan bir tespit yöntemi bulunmamaktadır. Tespit sırasında dikkat edilmesi gereken en önemli unsur proteinlerdir. Kullanılan yöntemlerin çoğunda lipidlerin kaybı gibi etkiler oluşmaktadır. Yine de dokunun yapısı, tanı koymayı sağlayacak kadar korunmaktadır. Özel yöntemler için ise rutinde kullanılan tespit yöntemleri yetersiz kalmaktadır. Elektron mikroskobu, histokimya, enzim çalışmaları, immünfloresan gibi yöntemler için özel uygulamalar gerekmektedir.

Dokunun elde edilmesinden, mikroskop altında bakılabilir hâle gelmesine kadar olan süreçte en önemli aşama tespittir. Diğer tüm basamaklarda olabilecek sorunlar telafi edilebilir. Doku takibinde bir aksaklık veya yanlış uygulama, dokuyu geri takibe alıp yeniden takip ederek düzeltilebilir. Boyanın soluk veya koyu olması gibi sorunlar, soldurup tekrar boyayarak aşılabılır. Ancak tespitteki sorunun geri dönüşü yoktur. Ama iyi tespit edilmiş bir doku, sonraki aşamalarındaki yanlış uygulamalara bile direnç gösterecektir. Bu nedenle tespit mekanizmalarının da iyi bilinmesi ve anlaşılması gerekir.

Tespit solüsyonları makromolekülleri denatüre eder ve şekillerini değiştirir. Tespit, hücreleri öldürür zira denatüre olmuş moleküller kimyasal reaksiyona giremez. Tespit ile enzimler de bozulup şekil değiştirdiği için otoliz de engellenir. Mikropoların da tespit olmuş dokuyu etkilemesi söz konusu değildir zira yapısı değişen yüzeyleri artık tanıyamazlar. Tespit olan doku denatüre moleküllerde ve moleküller arasında bağlar oluştuğu için sertleşir. Tespit, boyalara ve histokimyasal işlemlere uyumu da etkiler. Bu işlemler, tespit olmuş dokulara uygun hâle getirildiği için etkilenme genellikle iyi yöndedir. Ama antijenik yapıların maskeleyilmesi gibi kötü sonuçları da olabilir.

Her tespit solüsyonunun oluşturduğu morfolojik görünüm farklıdır. Mikroskopta bakarak, alkol tespiti ile formol tespiti birbirinden ayırt edilebilir (**Resim 4-1**). Bazı uzmanlar lenfoid dokular için sıvalı tespit solüsyonlarını, gastrointestinal dokular için pikrik asit içeren tespit solüsyonlarını tercih eder. Bu tercih, bu solüsyonlar ile elde edilen daha keskin görüntü nedeniyledir. Hangi tespit solüsyonu kullanılmış olursa olsun yine de boyanın kalitesi için nükleer ayrıştırıcı, epitelyal hücre zarı ve sitoplazma, boyamanın değerlendirme ölçütleridir.

Tespit için, tespit solüsyonunun dokuya girmesi yeterli değildir çünkü tespit hemen olan bir reaksiyon değildir. Tespit için bir başka kural da tespit solüsyonunun 'her yerde' var olmasıdır. Yani, bir dokuyu tespit solüsyonu içerisine koymak o dokunun tespit olduğu/olacağı anlamına gelmez. Dokuda, tespit solüsyonunun ilerlemesi için gözeneklerin var olması gerekir. Hücreye ulaşan solüsyonun bir sonraki hücreye geçebilmesi için membranı aşması gerekir. Bu membranların yapısındaki

5. Kullanılan ajitasyon işlemi (çalkalama, sallama gibi),
6. Dokunun hacmi ve kalınlığıdır.

2.5 GHz frekansında mikrodalgaların penetrasyon derinliği en fazla 4 cm'dir. Bu nedenle, mikrodalga

fırına konan dokuların kalınlığı 3 cm'yi geçmemelidir. Primer mikrodalga tespitinde 60 °C'ye çıkılması, mikrodalga aracılı tespitte daha düşük sıcaklıklar önerilmektedir. Mikrodalga fırından çıkartıldıktan sonra dokulardan 2-3 mm kalınlıkta örnekleme yapıp hemen %70'lik alkole konmalıdır.

Püf noktaları

1. En kısa sürede tespit et.
2. Hemen tespit edemiyorsan, buzdolabına koy ama dondurma. Donduracaksan, sıvı nitrojen ile ve hızlı yapmalısın. Yavaş yavaş dondurursan buz kristalleri oluşur ve dokuya hasar verirsın.
3. Taze dokunun enfekte olabileceğini unutma.
4. Dokuların kurumasına izin verme. Herhangi bir nedenle büyük materyali bir süre açıkta bırakacaksan, yüzeyinin kurumaması için ıslak gazlı bez ile ört.
5. Dokuyu bozma. Dokuya karşı nazik ol.
6. Dokunun her tarafından tespit solüsyonunun temas etmesini sağla. Kaba önce tespit solüsyonunu, sonra dokuyu koy. Önce dokuyu koyarsan, bir tarafa yapışacak ve o bölümün tespiti iyi olmayacaktır.
7. Boşlukları, kistleri aç ve sonra tespit solüsyonuna koy.
8. Eğer vasküler yapılardan perfüzyon ile tespit uygulayabiliyorsan, avantaj sağlar.
9. Örneklemede, doku kalınlığının en fazla 4 mm olmasına dikkat et.
10. İlk dakikalarda materyali tespit solüsyonu içerisinde biraz sallarsan, tespit solüsyonunun penetrasyonuna yardım etmiş olursun.
11. Hangi tespit solüsyonunun kullanılması gerektiğine dikkat et.
12. Dokunun 20 katı hacimde tespit solüsyonu içine koymaya özen göster.
13. Tespit için yeterli zaman bekle. Dokunun niteliğinin, ortam sıcaklığının bu süreye etkisini unutma.
14. En iyi tespit oda sıcaklığında olur (20-23 °C)
15. Tespit solüsyonu olabildiğince taze hazırlanmış olmalıdır. Tespit solüsyonunun özelliklerinin bilinmesi gerekir. Bazı tespit solüsyonlarının stok solüsyondan o sırada hazırlanması gerektiği bilinmelidir.
16. Tespit solüsyonunda gelen dokular dikkatle değerlendirilmeli, tespit solüsyonu kontrol edilmeli, gerekiyorsa dökülerek yeni tespit solüsyonu konmalıdır.
17. Tespit solüsyonları bir defa kullanılır.
18. Bazı tespit solüsyonlarının metaller ile reaksiyona gireceği bilinmelidir.
19. Tespitten sonra yıkama gerekebileceği unutulmamalıdır. (Formol tespitinden sonra çeşme suyu ile yıkanabilir veya doğrudan %70'lik alkole geçilir, çinko formolden sonra çeşme suyu ile yıkanır, Zenker, Hollande ve Helly solüsyonu ile tespitten sonra çeşme suyu ile yıkanır, Bouin ve B-5 ile tespit edildikten sonra doku %70'lik alkole alınmalıdır, Gendre solüsyonu ile tespitten sonra pikrik asit %80'lik alkol ile uzaklaştırılmalıdır.)
20. Tüm tespit solüsyonları toksik ve iritandır.

Sorun	Görünüm	Nedenler	Çözüm	Notlar
Gecikmiş tespit	Kromatinde kayıp Soluk kromatin Hücrelerde büzüşme Sitoplazmada kayıp Hücreler arasında boşluk Hücre kaybı	Tespit solüsyonuna geç konması Materyalin açılmadan tespit solüsyonuna konması Dilimlerin kalın olması Yetersiz tespit solüsyonu	Doku alınır alınmaz tespit solüsyonuna konmalı Materyal açılmalı Büyük dokular ince dilimlenmeli Lenf düğümleri ikiye bölünmeli Ajitasyon uygulanması Tespit solüsyonu, dokunun en az 15-20 katı olmalı	Resim 23-8 Resim 23-33 Resim 23-54
Yetersiz tespit	Nükleus çamur gibi, soluk Kesitte dokular banyoda parçalanıyor Morfoloji korunmamış	Yetersiz tespit süresi Kesitler çok kalın Formol eski	Tespit süreleri kontrol edilmeli Tespit solüsyonu hacmine dikkat edilmeli Örneklemler en fazla 3 mm kalınlıkta olmalı Formol günlük (en fazla haftalık) hazırlanmalı	Resim 23-8 Resim 23-33 Resim 23-54

Makroskobi

Makroskobik inceleme, patolojik tanının ilk basamağıdır ve çoğu kez mikroskobik inceleme kadar önemlidir. Görüntünün hoş olmaması, formol kokusu, mikroskop başından kalkıp makroskobi odasına gitme işi gibi nedenlerle çoğu kez savsaklanmaktadır. Erişkin otopsi makroskobik inceleme gibi algılanırken, cerrahi patoloji mikroskobik inceleme yani histopatoloji olarak kabul edilmektedir. Materyal küçüldükçe, makroskobik değerlendirmeye daha da boş verilmektedir. Eğitim veren kurumlarda makroskobiyi asistanlar sırtlamıştır. Diğer kurumlarda yardımcı sağlık personeli bu işi götürmektedir. A.B.D.’de 1970’li yıllardan itibaren bu işi özel eğitilmiş, bizim makroskobi teknisyeni dediğimiz, A.B.D.’de ise “patoloji asistanı” denen kişiler yapar. Ülkemizde de makroskobi teknisyenliği gündemde olan bir konudur.

Makroskobi teknisyeni

A.B.D’de “patoloji asistanı” adı ile anılan makroskobi teknisyenliği eğitimi 1969’da başlamış. Bu başlangıç aslında bir kurs ile olmuş. Başta gerekliliği, sorumluluk sınırı tartışılmış ve maaş konusu sorun olmuş. Böyle bir çalışma alanının çıkış gerekçesi ise patoloğların işlere yetişememesi, özellikle otopsi sayılarının artışı nedeni ile yardımcı gereksinimi ile olmuş. Aynı dönemde aynı gerekçe ile “physician asistant/doktor asistanı (yardımcısı)” adı ile bir iş kolu oluşturulmuş ve bu da makroskobi teknisyenliği için ilham konusu olmuş. Doktor yardımcısı olarak adlandırılan meslek hemşirelikten “bir tık üst”, doktorluktan “bir tık alt” gibi tanımlanıyor. Aynı hemşirelik gibi doktor gözetiminde doktorun bazı işlerini yaptığı anlatılıyor. Doktor yardımcısının etkin olduğu gözlemlenince ihtiyaç duyulan branşlarda yardımcı personel yolunun önü açılmış.

Makroskobi teknisyenliği eğitimi önce 1 yıl olarak başlamış ama kısa sürede 2 yıla çıkartılmış. Bu eğitim programına girebilmek için 2 yıllık inorganik kimya ve genel biyoloji yüksekokul eğitimi almış olmak koşulu varmış. 1928’de American Society for Clinical Pathology’nin (Amerika Klinik Patoloji Derneği) patoloji laboratuvarlarında çalışan teknisyenler için getirdiği koşullar makroskobi teknisyenliğinin önünde engel oluşturmuş. Patoloji

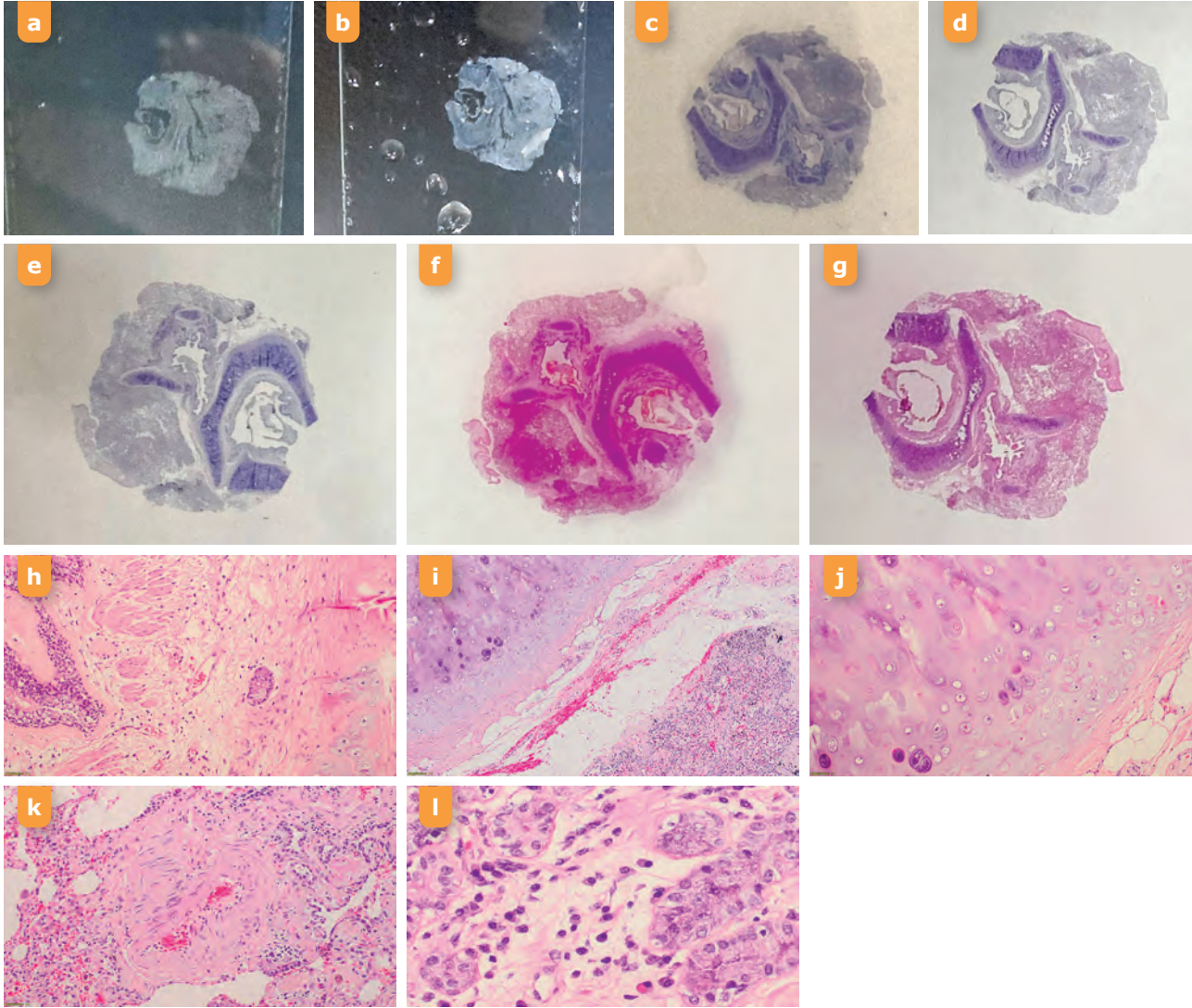
camiası bu iş koluna fazla ilgi göstermemiş ama bu eğitimi alanların 1972 yılında kurduğu Amerika Patoloji Asistanları Derneği’nin yoğun çalışmaları ile yaygınlaşmaya başlamış. Başta var olan eğitim programlarının standardizasyonu sağlanmış. Ardından bu eğitim programına girebilmek için gerekli koşullar da yükseltilmiş ve MSc koşulu (Fen bilimleri yüksek lisans derecesi; 4-6 dönemlik yüksekokul eğitimi) getirilmiş. Başta cerrahi patoloji materyallerinin örneklenmesinde frozen kesmede patoloğlara yardım ederken, daha sonra otopsi yaparken de otopsi teknisyenlerinin (“diener”) yerini almışlar. National Accrediting Agency for Clinical Laboratory Sciences ve American Society for Clinical Pathology’nin kabul etmesi ile 2004 yılında tüm sorunlar çözümlenmiş diyebiliriz. 2005 yılında da resmi olarak sertifikasyon başlatılmış.

Şu anda A.B.D’de her patoloji laboratuvarında makroskobi teknisyenliğini “pathology assistant”lar üstlenmiş değil. Ama hemen her laboratuvar da makroskobi teknisyeni makroskobi almada ve frozen kesmede patoloğlara ve uzmanlık öğrencilerine yardım etmekte. Bu anlamda A.B.D’de “pathology assistant” dışında histotekniker, sitoteknolog, medikal teknolog, medikal laboratuvar teknisyeni, yabancı medikal çalışanları kullanıldığı belirtilmektedir. Bu meslek gruplarının ne olduğunu vs. ben de bilmiyorum ama bu bilgiler bize makroskobi teknisyenliğinin, yerinde (kurum içerisinde) eğitim ile de yapılabileceğini göstermektedir. Yapılan çalışmalarda da makroskobi teknisyenlerinin zamanla kazandıkları deneyim ile patoloğlardan daha iyi örnekleme yaptıkları da gösterilmiştir. Burada bir noktayı atlamamak gerekiyor: Biz makroskobi teknisyeni diyoruz ve o gözle bakıyoruz. İlk çıktığı yerde yani A.B.D’de patoloji asistanı denmesinin nedeni sadece makroskobide değil, gereken her yerde patoloğa yardımcı olacak bir iş kolunu tanımlamasıdır. Zaten bu kişiler başta sadece makroskobide, frozenda ve otopside görevlendirilmişlerken, zamanla ne kadar başarılı oldukları da gözlemlenince idari uygulamalarda, kalite programlarında, denetimlerde de sorumluluklar verilmiştir. Diğer yardımcı sağlık çalışanlarında olduğu gibi burada da asıl sorumluluk patoloğundur ve yardımcı personel işerini “doktor gözetiminde” yapar. A.B.D’de “pathology assistant” dışında bir çalışana makroskobik örnekleme yaptırılacaksa, gözetim görevlisi patoloğ ve

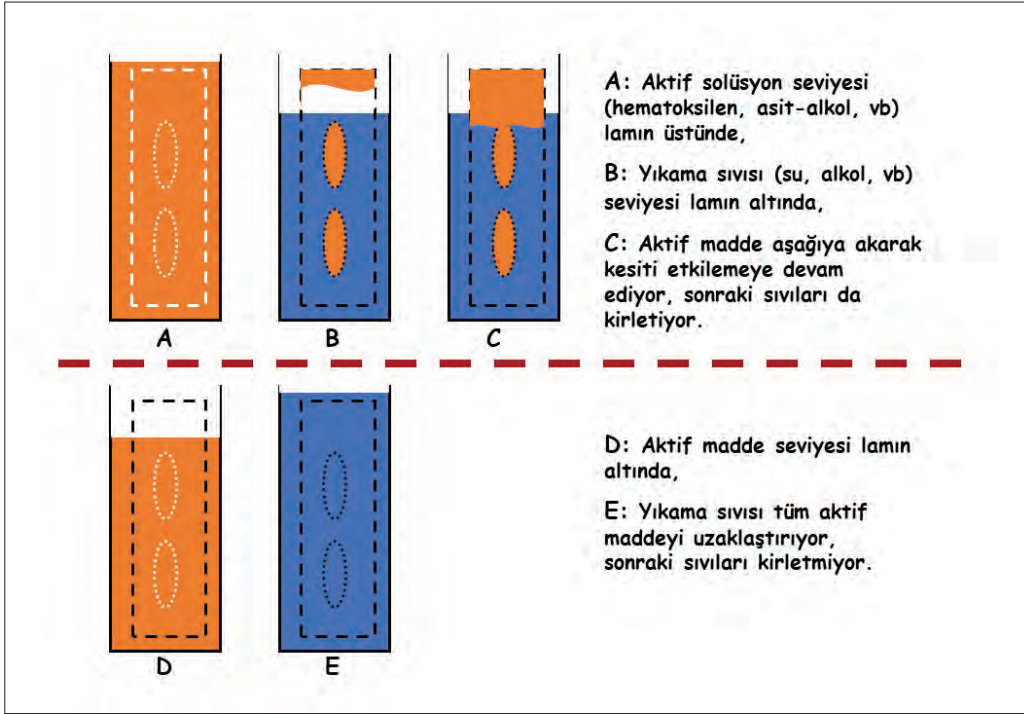
H&E boyamada kalite kontrolü

Hem hematoksisilenin hem de eosinin yeterliliği süre ile değil, gözle anlaşılabilir (**Resim 10-5**). Ancak, bu tecrübeye ulaşana kadar boyanma şiddeti mikroskop altında değerlendirilmelidir. Bu şekilde belli bir deneyim kazanıldıktan sonra “el ayarı göz kararı” değerlendirme en iyi sonucu verecektir. Yine de her boyama öncesi bir boyama kontrolü yapılmalıdır.

H&E boyamada tüm kapların solüsyon düzeyleri kontrol edilmelidir. Tüm solüsyonlar aynı düzeyde olmalıdır. Aksi takdirde, tam uzaklaştırılmayan bir solüsyon, bir sonraki aşamada reaksiyonu bozabilir. Örneğin asit alkolden sonra yıkama suyunun seviyesi aşağıda ise asit alkol uzaklaştırılmayacak ve kesiti soldurmaya devam edecektir. Hatta yıkama sularının seviyesi daha yüksek tutulmalı, otomatik boyama cihazlarında akışın tam olduğu sürekli kontrol edilmelidir (**Resim 10-6**).



Resim 10-5: **a)** Boyama için kesit deparafinize edildiğinde homojen ama mat görünür. **b)** Kesit suya getirildiğinde yine homojen ama parlaktır. **c)** Hematoksisilen aşamasından sonra kesit kontrol edilirse biraz koyu görünmelidir. **d)** Asit alkolden sonra istenen ton elde edilmelidir. **e)** Amonyaklı sudan sonra ise kesitin mavileştiği görülmelidir. **f)** Eosinden sonra kesit koyu renkte görülür. **g)** Eosin aşamasından sonra alkol serilerinden geçirildikten sonra eosinin tonu istenen noktaya gelir. Burada gördüğümüz tonlar, kişiye/ laboratuvara göre değişir. Bazıları koyu hematoksisilen ister, bazıları daha açık tonları tercih eder. Eosin şiddeti daha fazla görüş ayrılığı barındırır. Yapılması gereken **h)** mikroskopik değerlendirmede kas ve bağ dokusu kontrastının farklı olduğu görülmeli, nükleuslarda kromatin ayrıntısı ve nükleol seçilebilmelidir. **i-j)** Kıkırdak dokuda boyanın tüm tonları görülebilmeli, **k)** eritrositler parlak kırmızı görülmeli ve **l)** plazma hücrelerinin araba tekerliği kromatini seçilebilmelidir.



Resim 10-6: Üstteki şemada yıkama solüsyonunun seviyesi aktif maddeden aşağıda olduğunda boyayı nasıl soldurabileceğini görüyorsunuz. Alttaki şemada yıkama solüsyonu daha yukarı seviyede olduğu için yeterli süre yıkandığında boyada solma söz konusu olmaz.

H&E boyamanın kontrolü için; rutin boyamaya geçmeden önce bir kontrol kesitin boyanması, sorun yoksa rutin lamaların boyanmasına geçilmesi, yeni kesit ve/veya yeniden boyama iş yükünü engeller. Kontrol için kullanılacak kesit, iyi tespit edilmiş ve doku takibi iyi olan bir doku olmalıdır. Kontrol kesiti bir arter, gastrointestinal doku, serebellum dokusu, dalak ve plasenta içeren bir blok hazırlayarak elde edilebilir. Benim önerim bronş çevresinden alınan bir kesitin kullanılmasıdır (**Resim 10-5**). Bu doku hem kıkırdak, hem düz kas, hem epitel, hem lenfoid hücreler, hem de eritrosit içerdiği için gerekli kontrolün yapılabilmesini pratik yolla sağlamaktadır. Bu kontrol kesiti boyamasında nükleuslar keskin, parlak, mavi kromatinli ve iyi seçilen membranlara sahip olmalıdır. Soluk-

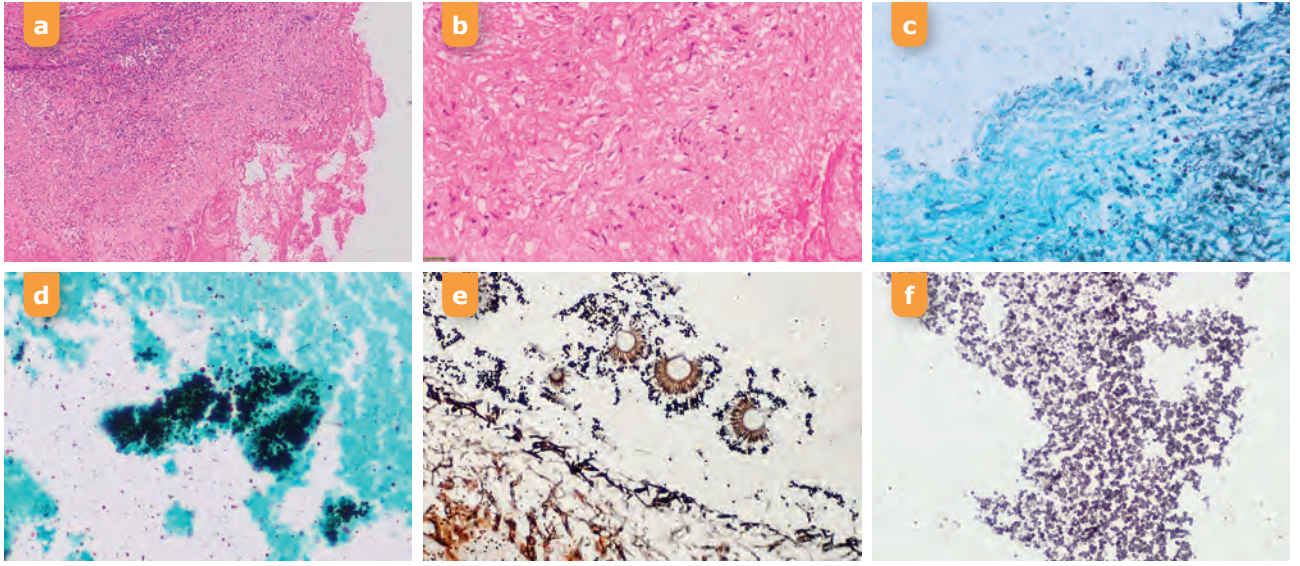
luk, baloncuklar, ezilme bulguları görülmemelidir. Hücrelerde büzüşme, hücreler arasında boşluk olmamalıdır. Eritrositler parlak kırmızı, düz kas ve kollajen iki farklı pembe tonunda olmalıdır. Kapama maddesi lamelin dışına taşmamalı, lam lamel arasında hava kabarcığı olmamalıdır.

H&E boyamaya etki eden faktörler; hem boyama, hem de boyama öncesi ve sonrası olayları içerir ve örnekleme, tespit, doku takibi ile kesit kalitesi çok önemli faktörlerdir. Boyama aşamaları da H&E boyanın kalitesine aynı düzeyde etki eder. Tespit ve/veya doku takibi iyi olmadığında iyi bir boyama elde etmek olanaksızdır. Boyama sonrası dehidrasyon, şeffaflandırma ve kapama aşamaları da çok önemlidir.

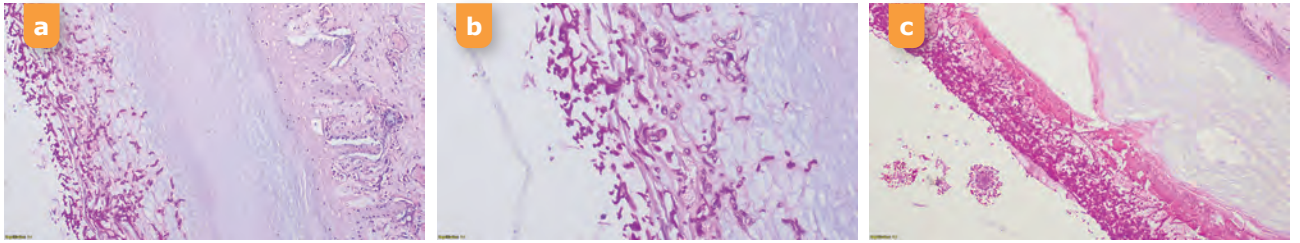
Püf noktaları

1. Boyama sırasında kesitler kurumamalıdır.
2. Boyama dışı zamanlarda tüm solüsyon kaplarının kapakları kapatılmalıdır.
3. Hematoksilen ve eosin boyaları her gün kontrol edilmeli, çökelti veya kaymak varsa süzülmalıdır.
4. Boyanan lam sayısına göre solüsyonlar her gün veya belli aralıklarla değiştirilmelidir.
5. Boya solüsyonları haftada bir değiştirilebilir.
6. Dehidrasyon aşamasında boyanın diferansiyasyonu devam eder, süre kritiktir. Kısa tutarsanız boyanın kalitesi düşer, uzun tutarsanız eosin boyanması soluk olur.
7. Solüsyonların düzeyi her gün boyama öncesi kontrol edilmelidir.
8. Yıkama solüsyonlarının düzeyi, bir önceki aktif solüsyonun düzeyinden yukarıda olmalıdır.
9. Tespit süresi uzun olan otopsi dokuları gibi dokular için daha uzun süre hematoksilen ve eosin boyaması gerekir, ayrı bir protokol oluşturulmalıdır.
10. Yıkama suyu olarak çeşme suyu kullanıyorsanız mutlaka su kalitesi kontrol edilmelidir. Ülkemizde hemen tüm çeşme sularının kireci yüksektir. Ayrıca klorlanmaktadır. Bunlar, hematoksilende kullanılan şap/mordant ile etkileşime girebilmektedir ve boya kalitesini bozar. Su kalitesini/mineral içeriğini çok ucuza satılan basit bir TDS metre ile yapabilirsiniz. Sorun varsa saf su kullanabilir veya çeşmeden boyama cihazına gelise basit bir arıtma cihazı takabilirsiniz.
11. Formol dışında başka bir tespit solüsyonu veya ksilol yerine alifatik hidrokarbon gibi başka bir solüsyon kullanıyorsanız, boyama protokolünde değişiklik gerekiyor olabilir, bu maddelerin özelliklerini ve boyamada gerektirdiklerini okumalısınız.

Sorun	Görünüm	Nedenler	Çözüm	Notlar
Ezilmiş nükleus, kabarcıklar, kromatin seçilemiyor	Kromatin net seçilemez, ezilmiş gibidir Nükleus içerisinde farklı boyanma alanları görülmez, homojendir	Yetersiz tespit Su dokudan tam olarak uzaklaştırılmamış Yetersiz şeffaflandırma Doku takibinde veya kurutma aşamasında yüksek ısı ile karşılaşma	Tespit iyi ve tam yapılmalı Örneklemeden sonra doku takibine kadar olan sürede kasetlerin konduğu kaptaki formol düzenli aralıklarla değiştirilmeli Dehidrasyon ve şeffaflandırma aşamaları ve solüsyonları kontrol edilmeli Isı kontrolü yapılmalı Kesitler 70 °C'den daha düşük ısılarda kurutulmalı	Resim 23-33
Eosinin 3 farklı tonu görülüyor	Eosin kollajen, kas doku ve eritrositlerde aynı tonda veya kontrast çok az	Yetersiz tespit Yetersiz doku takibi Eosin diferansiyasyonu yetersiz Eosin pH'ı yanlış	Tespit sürelerini kontrol et, formolü düzenli aralıklarla değiştir Doku takibi aşamalarını kontrol et Eosinin diferansiyasyonunu kontrol et Eosinin pH'ını 4.0-4.5'a getir	En iyi eosin diferansiyasyonu %70'lik alkol ile başlayarak olur. Seride yoksa %70'lik alkol eklenir. Eosin pH'ı glasiyel asetik asit ile ayarlanabilir. Resim 23-49



Resim 14-14: a ve b) Bir olguda nekroz alanlarında çok dikkatli bakılmazsa atlanabilecek mantarlar var. **c ve d)** GMS boyasında mantarlar belirgin hâle gelmiş ve **e)** bir alanda da Aspergillus olduğunu kanıtlayan görünüm var. **f)** Mantar için kontrol bloğu arayışı içerisinde iken, mikrobiyolojideki arkadaşlardan kültürde üreyen mantarlardan örnek istedim. Aldığımız pneumocystis carinii üreyen kültür materyalinden hücre bloğu yaptık ve uzun süredir kontrol olarak kullanıyoruz.



Resim 14-15: Aynı olguda mantarların PAS ile de boyandığı görülüyor.

Tablo 1: Hangi mantar için öncelikli olarak hangi boya tercih edilmeli, o yoksa ne yapılabilir ve kullanılmaması gereken (yanlış negatif sonuç verebilecek) boyalar.

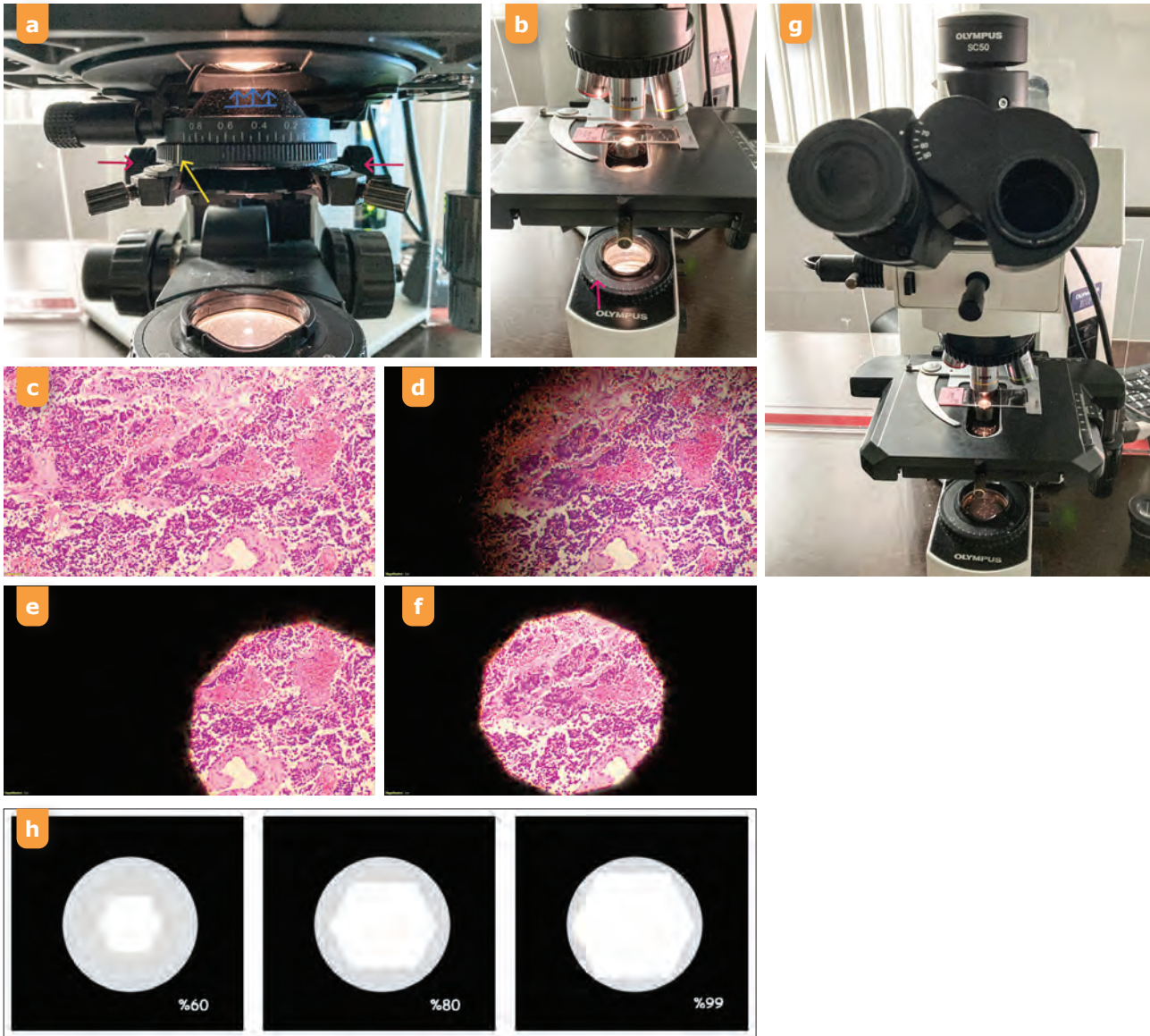
	Gram	Gomori	PAS	AB	Musikarmin	Diğer
Actinomyces	+	+	-			
Aspergillus	±	+	+			
Blastomyces		+	+	±	±	
Candida		+	+			
Coccidioides		+	+			
Cryptococcus		±	+	+	+	Toluidin blue
Histoplasma		+	-			
Mucor		+	+			
Nocardia	+	+				
Pneumocystis		+				Giemsa

+: İlk tercih, ±: Olabilir, -: Kullanılmamalı

Püf noktaları:

1. Kullanılan tüm solüsyonlar atılmalıdır ama altın klorür solüsyonu süzülerek 100 defaya kadar tekrar kullanılabilir.
2. Kromik asit sık yenilenmelidir.
3. Methenamin silver aşamasında bir kontrol lamı ara ara sıcak saf suda durulanıp mikroskopta bakarak koyu kahverengi mantar görülene kadar inkübasyona devam edilmelidir.
4. Methenamin silver aşamasında ideali su banyosu (benmari yöntemi) kullanmaktır, 65°C geçilmemelidir.

Sorun	Görünüm	Nedenler	Çözüm	Notlar
Nonspesifik boyanma	Her yer siyaha boyanmış	Yetersiz oksidasyon	Kromik asit yeniden hazırlanmalı ve süresi kontrol edilmeli	
Mantarlar soluk boyanmış	Mantar duvarları siyah değil açık kahverengi görülür	Yetersiz oksidasyon Boyama (6.) yetersiz Boyama solüsyonu iyi ısıtılmamış	Kromik asit yeniden hazırlanmalı ve süresi kontrol edilmeli Boyama (6.) aşamasında boyanma yeterliliği kontrol edilmeli Boyama solüsyonu ısısı ölçülmeli	
Mantarlar fazla boyanmış	Mantarın iç yapısı duvarı ile aynı renkte	Boyama solüsyonu fazla ısıtılmış	Boyama solüsyonu ısısı ölçülmeli Boyama, su banyosuna batırılmış bir şale içinde yapılmalı Boyamaya geçmeden önce boyama solüsyonu ısınmış olmalı	
Lamın tümü siyah	Lam ayna görüntüsü verir	Boyama solüsyonu çok ısıtılmış Şale kirli	Boyama solüsyonu ısısı kontrol edildikten sonra boyamaya geçilmeli Tüm kaplar temiz olmalı	
Mantarlar doğru renkte değil	Mantarlar kahverengi veya kırmızı görünür	Altın klorürde fazla kalırsa mantarlar kırmızı, az kalırsa kahverengi olur	Altın klorür boyama süresi kontrol edilmeli	



Resim 18-11:

- Kondansörü (her iki yanda bulunan kırmızı ok ile işaretli vidalar aracılığı ile mavi ok yönünde) en üst pozisyona alın.
 - Hem kondansörün (**Resim 18-11a**'da sarı okla işaretli) hem de ışık kaynağının diyaframlarını (kırmızı ok) açık pozisyona getirin.
 - Bir preparat koyun ve 10x objektifte görüntüyü netleyin.
 - Işık kaynağı diyaframını, diyaframın kenarları görünene kadar (görüntü alanının 1/3'ünü kaplayana kadar) kapatın. Birkaç deneme ile ne kadar kapatmanız gerektiğini anlayacaksınız, bana güvenin.
 - Işık kaynağının diyaframının kenarları net görünene kadar kondansörü aşağıya doğru indirin.
 - Kondansör hareket vidaları ile ışık kaynağının diyaframını ortalayın ve ışık kaynağı diyaframını görüntü alanının tam kenarına gelene kadar açın.
- Hepsi bu ama: Aşağıda yer alan maddelerin uygulanmasının gereksiz olduğunu ve pratik olmadığını düşünüyorum. Ben bu maddelerde tanımlanan işlemi uygulamıyorum. Ama tüm kılavuzlarda bu tanımlanır, ben de bu nedenle buraya yazdım. Tercih sizin.
- Okülerlerden birini çıkarın ve okülersiz alandan ışığa bakın.
 - Kondansör diyaframını kapatın ve ışık kenar karanlık alana yaklaşıp karanlık alana kadar kondansör diyaframını açın.

leştirmiş oluyor ve bir taşla iki kuş vuruyorsunuz. Bu işlemin cihazda yapılabilmesi hem zaman tasarrufu hem de standardizasyona çok önemli katkı sağlıyor.



Nizip'te 40-45°C sıcakta sarp kayalık bir dağa duvar tımaşıkkuşu görmek için çıkarken elinde bir tüfek ile bir delikanlı ve yanında bir çocuk ile karşılaştık. Askerden izine gelmiş ve keklik avına çıkmış. Keklik görürsen bize bir ısıklık çal, gelip fotoğrafını çekelim, sen sonra avlarsın onu dedik. Bir kuş gözlemcisi olarak kuş avlayanlara ve "bir taşla iki kuş vurmak" ve buna benzer kötü deyimlerimizi de teessüflerimi iletiyorum.



Manuel boyamada kesitin etrafı bir kalem ile çerçevelenerek solüsyonun kesit üzerinde kalması ve daha az solüsyon ile işlemin gerçekleştirilmesi sağlanır. Boyama sırasında solüsyonun tüm işlem zamanında kesit üzerinde kurumadan kalması gerekir. Bu sırada nem sağlanması, yani boyamanın nem odasında ("humidity chamber") yapılması boyanın kalitesini artırır. Çok fazla lam aynı anda boyandığında işler zorlaşır ve solüsyon kuruyabilir, boyama gerçekleşmez. Cihaz kullanıldığında lam üzerinde kapiller bir boşluk yaratılır ve tüm lam yüzeyi 100 µl solüsyon ile kaplanabilir. Eğer kesitleri lamın altına alırsanız bazı cihazlarda programlamada sadece alt 1/3 veya 1/2 yüzeyin solüsyonla kaplanmasını seçerek 100 ml'den daha az solüsyon kullanılmasını sağlayabilirsiniz. Bazı cihazlar standart tüm yüzeyi solüsyon ile kaplanır, böyle bir seçime izin vermez. Bazı cihazlarda kapiller boşluk oluşturmak yerine, lamın üzerini sıvı bir lamel ile kapatır. Ama sonuçta tüm cihazlar manuel boyamaya göre daha az antikor ve solüsyon kullanarak tasarruf sağlar.

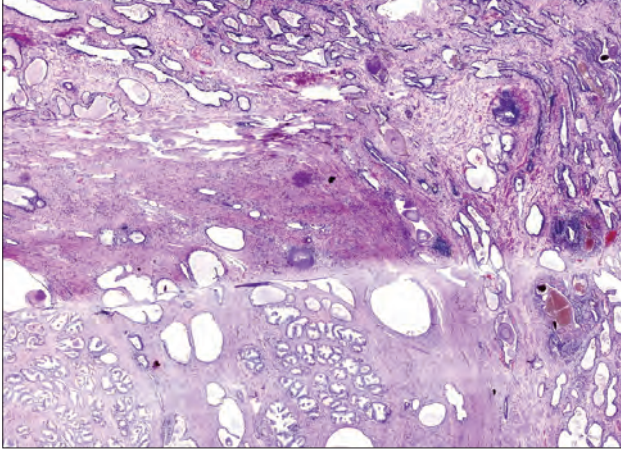
Eski cihazlarda (hâlâ kullanan var mı bilmiyorum) tüm boyama işlemi eş zamanlı yapılır, bu solüsyonlardan ve zamandan tasarruf sağlardı. Ancak sadece belli antikorlar çalıştırılabildiği için bir olgunun İHK boyamalarının tamamlanması daha fazla zaman alırdı.

Cihazların kapasitesi 30-84 civarında değişiyor. Ancak sürekli yükleme yapılabiliyorsa bu sayı artıyor. Çoğu cihaz immünohistokimya yanısıra immünfloresan ve in situ hibridizasyon da yapılabiliyor.

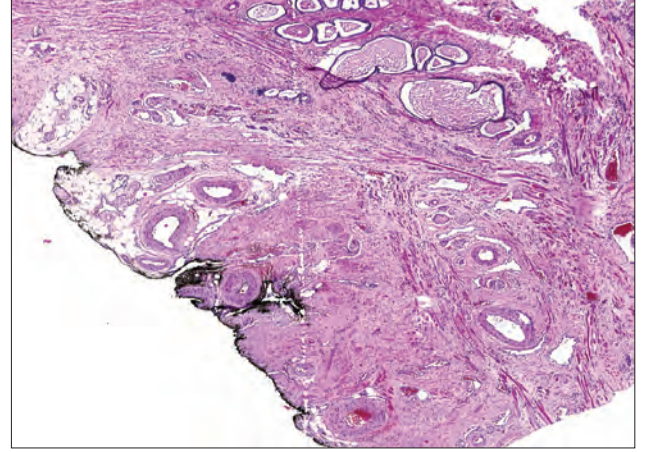
Çok farklı, çok sayıda cihaz var. Hangisi diye bir karara varmak çok zor. Bu bölümü yazmak için araştırdığımda kendime sordum hangisini seçerdim diye, cevap veremedim. En önemli kriterin cihazı kullananların referansdır diye düşünüyorum. Laboratuvarımızda bugüne kadar yaşadıklarımız ve 3 firma/marka ile sınırlı tecrübemize dayanarak, en önemli unsurun firmanın yaklaşımı ve servis hizmeti olduğunu görüyorum. Bir sorun olduğunda ne kadar zamanda cevap veriyor ve ne kadar zamanda çözüyor? İnternette bulduğum bir teknik şartnameyi koyarak bitirmek istiyorum. Bu şartname ve yukarıda yazdıklarım yol gösterici olacaktır diye umuyorum.

İmmünohistokimya boyama cihazı teknik şartname örneği

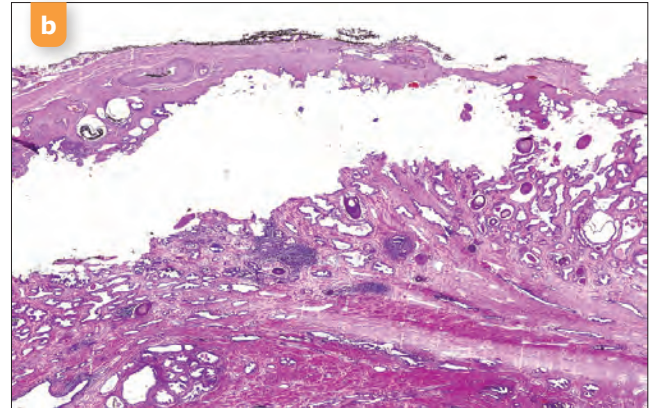
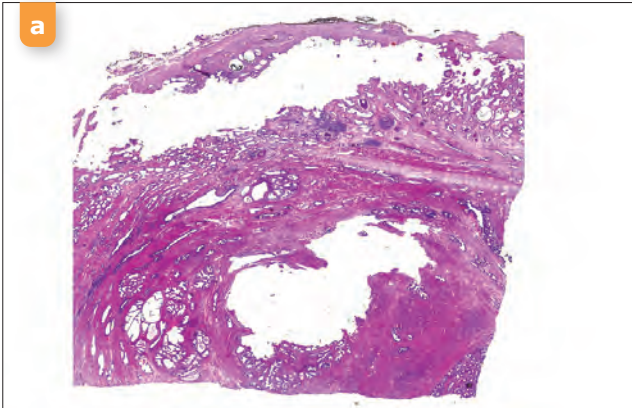
1. Sistem tam otomatik olmalı, immünohistokimya, immünfloresan boyama ve in situ hibridizasyon yapmalıdır.
2. Cihazın başlaması geciktirilebilmelidir.
3. Parafin kesitlerde, sitolojik yaymalarda ve frozen kesitlerde çalışabilmelidir.
4. Sistem tüm antikorlar ile çalışabilecek açık sistem olmalıdır.
5. Cihazda aynı anda 4 boyama programı çalıştırılabilmelidir.
6. Deparafinizasyon, boyama ve zıt boyama işlemlerini tam otomatik gerçekleştirmelidir.
7. En az 30 lam kapasitede olmalıdır.
8. İmmünohistokimyasal boyama süresi 3.5 saati geçmemelidir.
9. Antikor ve solüsyon sarfı lam başına en fazla 100 ml olmalıdır.
10. Standart protokollerle çalışabildiği gibi yeni bir boyama protokolü de oluşturulabilmelidir.
11. Her lam için ısıtma fonksiyonu ve dereceyi ayarlama fonksiyonu olmalıdır.
12. Barkod sistemi ile çalışmalı ve barkod yazıcı birlikte verilmelidir.



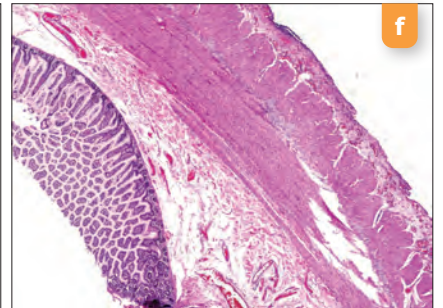
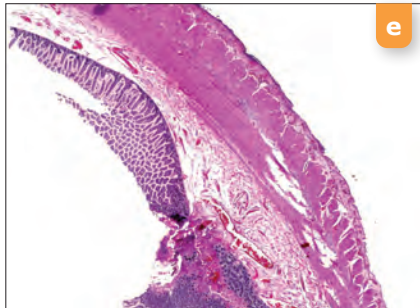
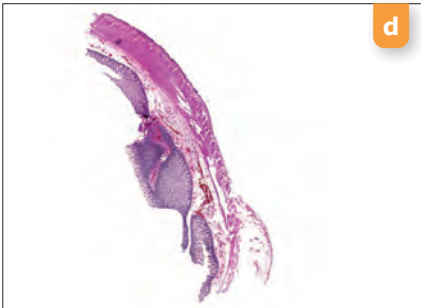
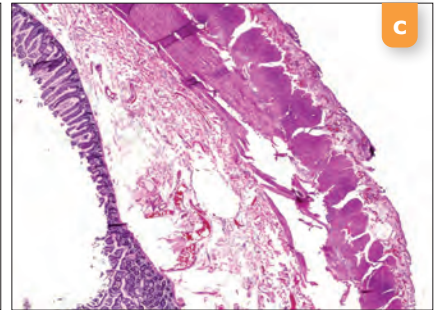
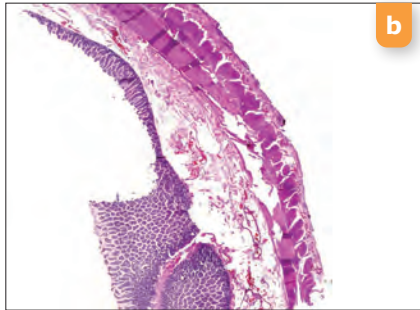
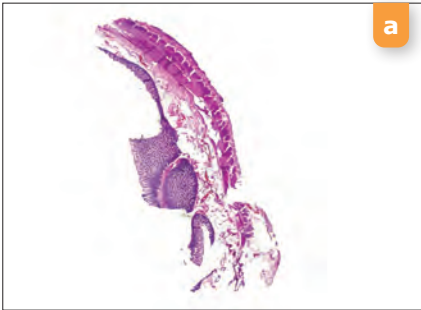
Resim 23-15: Kesitin farklı yerlerinde kesit kalınlığında fark var. Nedenleri resim 14 gibi.



Resim 23-16: Kesitte çizik var. Ya bıçakta çapak veya parafin kalıntısı var, ya parafin sert değil ya da dokuda kalsifikasyon/sütür gibi sert bir materyal var.



Resim 23-17: Güve yeniğinin ötesinde yırtık/çatlak var. Ya tespit veya doku takibi sorunu var. Ama hücreler bakınca tespit veya takip sorunu yokmuş gibi duruyor; o halde ya su banyosunun ısısı çok yüksek veya su banyosunda kırışıklıkları açmaya çalışırken doku aşırı gerilmiş.



Resim 23-18: Yanlış bıçak. İlk 3 resimde yanlış bıçakla kesilmiş kesiti değişik büyütmelelerde görüyorsunuz. Aslında tespit, doku takibi, kesit, boyama sorunu yok ve çok güzel bir kesit gibi duruyor. Sonraki 3 resime bakınca doğru bıçakla kesilince farkın bu kadar olabileceğine inanmak zor.

Patolojide Toplam Kalite

1. Laboratuvarın misyonu
2. Yöntem ve testlerin seçimi
3. Cihaz seçimi
4. Hasta hazırlığı
5. Materyal alımı, korunması, iletimi
6. Rapor şekli
7. Çalışan yönetimi
8. Yöntemlerin doğruluğunun ölçülmesi
9. Bütçe kontrolü
10. Önleyici tedbirler
11. Süreç kontrolü
12. Çıktı kontrolü
13. Dış denetim ve akreditasyon

Tanı raporu kalitesi ise klinik bilgi, yazım-sekreter yeterliliği, zamanlama, tanımlama yeterliliği ve kalitesi ile tanısal bilgi yeterliliği ile saptanabilir.

Nereden başlayalım?

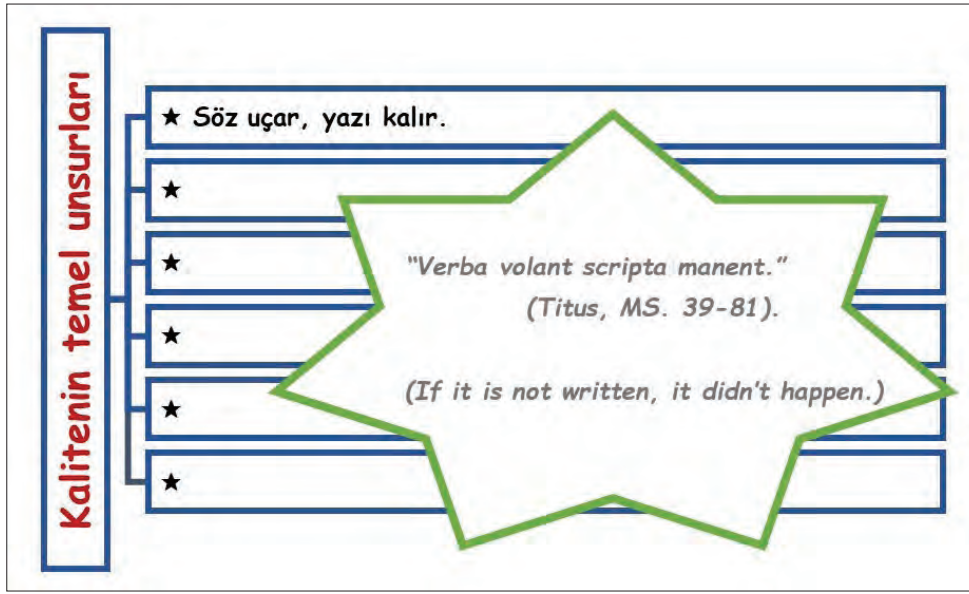
Hedef belirlendikten sonra, ilk yapılması gereken bir kalite kontrolü komisyonu kurulması olmalıdır. Bu komisyonda bir başkan bulunmalı, ideal olarak her çalışma grubundan (teknisyen, sekreter, vb.) en az birer kişi komisyonda yer almalıdır. Bu komisyon laboratuvar sorumlusunun denetimi altında çalışmalı, eğer bir kurum laboratuvarı ise, çalışmalar bir üst yöneticinin onayı ve bilgisi dahilinde yürütülmelidir.

Komisyon önce iş bölümü yapmalı, bir takvim oluşturmali ve yapılacaklar, takvim ve hedeflerin anlatıldığı bir toplantı ile tüm çalışanlar bilgilendirilmelidir. Unutmayın, kalite kontrol sistemi ancak tüm çalışanların aktif katılımı ile uygulanabilir. Kuracağınız sisteme herkes gönüllü olarak katkı sağlamalıdır. Örneğin; bu bölümün ilk “geyik bit-ti” işaretindeki hatayı gördüyseniz ‘bana ne’ demeyip hemen bildirmelisiniz.

Kalitenin temel kurallarından birisi ile başlıyoruz. Birincisi demek de yanlış olmaz herhalde. Ne yapıyorsak yazılı hâle getirmeliyiz. Zaten, kalite programı oluşturmanın en zor tarafı da bu; yorucu, zaman zaman bıkkınlık verici ve en zaman alıcı bölümü aynı zamanda. İyi bir planlama ile işe

Hızlı gitmek istiyorsan tek başına git,
daha ileri gitmek istiyorsan beraber git.

Afrika atasözü



Resim 24-1

başlarsanız, işlerin daha kolay yürüdüğünü görürsünüz. Baştan planlama yapmazsanız, tam her şey bitti derken bir şeyleri unuttuğunuzu fark edersiniz ve bu da sizi yıldıracaktır. O nedenle baştan iyi bir planlama şart ama en iyi planlama ile bile, sonlara yaklaştıkça kaçınılmaz olarak/işin doğası gereği eksikler çıkacaktır. Çıkabilecek eksiklikleri en aza indirmek, başlamak ve devam etmek için yol gösterici olması amacı ile her aşamada yapılacakların listesini **Tablo 1**'de görebilirsiniz. Bu listede yer alanların hepsinin yeterli ve/veya şart olduğu anlamına gelmeyeceğini baştan vurgulamak isterim. Bu listenin, laboratuvarın koşullarına göre ele alınarak güncellenmesi gerekir. Ayrıca, bir iş ya yapılır veya yapılmıyormuş gibi yapılır. Kalite programı oluştururken harcanan emeğin karşılığını almanın daha iyi olacağını düşünüyorum. Onca

emek sonrası, yaptıklarınızın sizin işinizi kolaylaştırdığını gördüğünüzde mutlu olacak ve bana hak vereceksiniz.

Bu yazacaklarınız Standart Uygulamalar Kılavuzu ("Standard Operating Procedure", SOP, SUK) şeklinde tanımlanır. SUK içerisinde **Tablo 1**'de yer alanlar dışında; denetimlerin nasıl yapılacağı, değişikliklerin nasıl yapıp kayıt altına alınacağı, sorunların nasıl belirlenip çözümleneceği, verilerin nasıl tutulacağı, hedeflerin neler olduğu ve nasıl değerlendirileceği, sarf malzemesi ve cihazların asgari özellikleri, çalışma alanları ile ilgili asgari standartların ne olduğu bilgileri de yer almalıdır. Bunların nasıl oluşturulacağını da ileride tanımlamaya çalışacağım.

İnsan tek başınayken çözülmesi olanaksız bir yapboz gibidir, toplum hâlindeyken matematiksel bir kesinlik kazanır.

Winwood Reade

İş Yüğü

PubMed’de René J Buesa’nın 15 makalesi gözü-
küyor. Bunların dışında değişik platformlarda
kaleme aldığı yazıları da var. Bu yazıların hepsine
ulaşmaya çalıştım ve okudum. Çok değerli çalış-
malar olduğunu düşünüyorum. Bu çalışmaları Pa-
toloji Dernekleri Federasyonu bünyesinde yaparak
ülkemizin profilini çıkarmaya anlamaya çalıştık.
Bu bölümde yazdığım iş yükü verileri ve hesap-
ları genelde René J Buesa’nın çalışmalarına ve Pa-
toloji Dernekleri Federasyonu Standardizasyon
Komisyonu’nun önerilerine dayanmaktadır. Daha
kapsamlı bilgi isterseniz bu kaynaklara bakmanızı
öneririm. Bunlar dışında CAP’in anket çalışmaları,
The Royal College of Pathologists ve CAP belgele-
rinden de yararlanabilirsiniz.

Her patolog için optimum iş yükünün yıllık 4000
biyopsi veya 6000 sitoloji olduğu, eğitim hasta-
nelerinde bu sayının yarısının (2000 biyopsi veya
3000 sitoloji) geçerli olduğu kabul edilmektedir.
Buradan yola çıkarak asistan eğitimi olan kurum-
larda çalışan patoloğların yılda 1.750–2.250 arasın-
da “B+S” incelemesi gerçekleştirebileceği kabul
edilmiştir. Yılda patolog başına 1.750’den daha az
“B+S” incelemesi yapılan laboratuvarların verim-
siz çalıştığı ve 2.250’den daha fazla “B+S” incele-
mesi yapılan laboratuvarlarda ise patoloğlara aşırı
yüklenildiği ve kalitenin olumsuz etkileneceği dü-
şünülmüştür.

Patoloji Dernekleri Federasyonu Standardizasyon
Komisyonu’nun önerdiği patolog ve teknisyenle-
rin verimlilik sınırı olan sayılar;

- Eğitim yükü olmayan birimlerde 3.000-4.000
biyopsi için 1 patolog,
- Eğitim hastanelerinde 2.000 biyopsi için 1 pato-
log,
- Patolog sayısı kadar teknisyen,
- Otopsi, immünohistokimya, moleküler teknik-
ler, sitoloji uygulanan birimlerde +1 teknisyen,
- Eğitim kurumlarında +2 teknisyen,
- 2 patolog için 1 sekreter,
- 3 patolog için 1 makroskopi teknisyeni
şeklindedir.

Hesaplamalarda yıllık izin günleri de hesaba ka-
tılarak 2080 saat çalıştığı üzerinden yola çıkılır.
Günlük çalışma saati 6.56 saattir ve “Full time
equivalents” olarak tabir edilir. Mesainin %82’si-
nin kullanıldığı belirtilir ve izinler de çıkartılınca
48 hafta ve 1920 saat çalışma süresi çıkar. Bir tek-
nisyenin analitik işlere harcadığı süre değişik la-
boratuvarlarda ölçülüp ortalamasına bakıldığında
aşağıdaki veriler ortaya çıkmaktadır:

Makroskopi	4.3 dk/blok
Kasetleme	1.1 dk/blok
Bloklama	1.2 dk/blok
Lam yazma	20 sn/blok
Kesit hazırlığı	23 sn/blok
Tıraşlama	25 sn/blok
Kesit	2.5 dk/blok
Boyama	1.2 dk/lam
Kapama	45 sn/lam
Frozen	15 dk/olgu
Histokimya	6 dk/lam
İmmünohistokimya	14 dk/lam (manuel boyamada)
İmmünohistokimya	6 dk/lam (otomatik boyamada)

Otomasyon kararına da hizmet edebilecek bazı ve-
rilere bakalım:

- Manuel gömme ile saatte 52 blok, otomatik
bloklama cihazı ile 120 blok gömülebilir (oto-
matik gömme cihazı 2.4 kat hızlıdır).
- En verimli kesit alma yöntemi 10-20 bloğu tı-
raşlayıp, buza yatırıp kesite geçmek.
- 1 teknisyen saatte 23-24 blok kesebilir.
- Manuel İHK boyamada günde 110 lam boyama
için 2 teknisyen, otomatik boyama cihazı
ile boyamak için 1 teknisyen gereklidir.
- Lam kapatma cihazı manuel kapamadan 3 kat
hızlıdır. Film kapama cihazı ise manuel kapama-
dan 11 kat hızlıdır.
- Lam ve blok arşivinde 25.000 olgu için 1 arşiv
memuru yeterlidir.
- Tüm biyopsilerin %80’i 48 saatte, tüm rezeksi-
yon materyallerinin %80’i 72 saatte değerlendirilebilir
aşamaya getirilmelidir.

2019 yılında bir yazı yayınlayarak patolojide kullanımına izin verdi ancak eşik değerleri TLV-TWA: 0.3 ppm, TLV-STEL: 0.6 ppm olmak üzere revize etti.

Formolle karşılaşmada konsantrasyon 1 ppm üzerine çıktığında iritasyon etki başlamaktadır. Temas ortadan kalkarsa bu etki geri dönüşümlüdür. Formolün etkileri doz bağımlıdır (**Tablo 1**).



Bir gün makroskobide koku çok yoğundu ve zor dayanıyorduk. Sonunda kaçtık ama alımdan sorumlu Neriman Gökden kaldı. Birkaç dakika sonra o da geldi. Ağlıyordu! Yanlış hatırlamıyorsam bu 30-60 dk kadar sürdü. Bu şu anlama geliyor: Formol konsantrasyonu 5-20 ppm düzeyinde imiş ve etkisi geçmiş. Ama bu etkinin geçmesi sözü sizi yanıltmasın, kastedilen göz yaşarması etkisi karşılaşmanın bitmesi ile geçti. Başka neler oldu?



Toksik etkisini hangi mekanizma ile gösterdiği bilinmemektedir ancak amino asitlerdeki amino grubuna bağlanarak hidroksimetil aminoasit ve proton (H^+ veya asit) oluşturur ve bu yolla mikrop öldürücü etkisini gösterir. Yüksek konsantrasyonlarda, bildiğimiz gibi, proteinleri çökertmektedir. DNA-protein çapraz bağlanması, inhalasyon yoluyla karşılaşmadan sonra da oluşmaktadır. Bu etkilerin iritasyona neden olabileceği düşünülmektedir.

Formolün toksik etkilerini muköz membran iritasyonu, kontakt dermatit ve mutajen-karsinogen etki olarak özetleyebiliriz. Morg odasını %37 formol + %10 methanolle paspaslayan bir temizlikçi felç, pulmoner ödem, serebral anoksi ve kalıcı mental gerilik gelişmiştir. Göz iritasyonu 0.24 ppm'de başlar, 6 ppm'de ortamda kalabilmek olanaksız hâle gelir. Ancak hem koku, hem de göz iritasyonu için bu eşik değerler kişinin adaptasyonu ile zamanla daha yüksek düzeylere çıkabilir. Göze sıçraması durumunda kalıcı hasar yapabilir, derhal suyla yıkanmalıdır. Dermatit sık gözlenen yan etkisidir. Formole bağlı astım seyrek ama gerçek bir olgudur. Nöropsişik etkileri ise hafıza, uyku ve davranış dengesi üzerinedir.

Bir çalışmada histoloji teknisyenlerinde pulmoner fonksiyonlarda azalma ve davranış bozukluğu bulguları saptanmış ama bu bulgular daha sonra pek kabul görmemiştir. Pulmoner fonksiyonlardaki azalma fiziki kapasiteyi etkilememektedir ve bu etki kısa sürelidir. Bulgular, formolün alt solunum yollarına ulaşmadığı yönündedir. Kronik karşılaşmada solunum fonksiyonlarını etkilemektedir ve irritatif etki göstermektedir. Bir çalışmada 10 yıldan az maruz kalmanın bazal akciğer fonksiyonlarını etkilemediği gözlenmiştir. Astım olgularında ise bronkospazma neden olmadığı saptanmıştır ama formole bağlı semptomların çıkışı daha erken olmaktadır. Sigara içenlerde ise iritasyon etkiye duyarlılık daha azdır.

Formolün diğer etkileri ile ilgili çok sayıda çalışma vardır ve bunlardan bazılarında çelişkili sonuçlar karşımıza çıkmaktadır. Kısa bir özet vermek gerekirse formol inhalasyonu ile gastrointestinal sistem ile ilgili intestinal kramp, flatüs, kanlı feçes gibi bulgulara neden olabilmektedir. Deneysel hayvan

Tablo 1: Formolün doza bağlı yan etkileri.

Konsantrasyon (ppm)	Yan etki
0.05-1.0	Kötü koku
0.05-2.0	Göz iritasyonu, nöropsişik etki
0.1-25	Burun, boğaz iritasyonu
5-20	Göz yaşarması, dispne, öksürük, burun, göz ve farinkste yanma
+20	Pulmoner ödem, pnömoni
+100	Ölüm

Havalandırma

Formol buharı, havadan çok az ağırdır ($d=1.07$), bu nedenle de tezgâh düzeyinde kalır. Havalandırma, bu özelliğe göre planlanmalıdır. Genel havalandırma sistemlerinde kirli hava tavandan çekilir ve içeriye yine tavandan temiz hava üflenir. Formol kullanılan alanlarda böyle bir havalandırma sistemi, tezgâh düzeyindeki formolün solunum düzeyine çıkartılmasına neden olur. Dolayısı ile makroskobi odasında havalandırma bu odaya özel olmalıdır. Kirli hava (yani formol gazı) tezgâh seviyesinin altından çekilmeli, temiz hava tavandan üflenmelidir (**Resim 31-5**). Ayrıca, çalışma tezgâhı yüzeyinde biriken formol buharının aspirasyonu, tezgâh yüzeyinden ve çalışma alanından geriye

doğru olacak şekilde yapılmalıdır. Sadece bu planlamanın yapılması yeterli değildir. Tezgâh düzeyinde yapılan aspirasyonda kullanılan motorların sessiz olması, buharın motora temasının engellenmesi gerekir. Gürültü eşiği, konuşmaların olduğu alanlarda 55 dB olarak tanımlanmaktadır. Çeker ocak önünde 65 dB kabul edilebilir denmektedir. Bu alanda aspirasyon hızı 2-3 m/sn. olacak şekilde ayarlanmalıdır. Genel havalandırmada ise 100 m³ oda için 0.2 m³/sn. hızda veya daha genel bir anlatımla saatte 2-3 defa hava değişimi olacak şekilde ayarlama yapılmalı, bu oranın 4-6 defa hava değişiminin üzerine çıkmaması sağlanmalıdır. Yukarıdan temiz havanın çok kuvvetli üflenmemesi önemlidir. Çok kuvvetli üfleme olduğu takdirde, tezgâh düzeyinde kalmış olan formolün hareket-

Makroskobi Salonu-2

Tespit
Formol hazırlama
Tamponlama
Musluk sistemi
Materyal alma birimlerine iletme

Makroskobi Salonu-3

Örnekleme
Standart protokoller
Renkli kaset
Magazin/kaset takip sistemi

Inverted: İçe doğru gelişmiş

İrregüler: Düzensiz

İrritan: Tahriş edici

İskemi: Dokuya giden kan miktarının azalması

Kalkülüs: Taş (çoğulu kalkuli)

Kangren: Gangren

Karusel: Atlı karınca

Kast: Ceza hukukunda failin gerçekleştirdiği hareketi ve bunun sonuçlarını bilmesi ve istemesi

Katyon: Pozitif yüklü iyon

Kavite: Boşluk

Kaviter: Kaviteli

Kazeöz: Peynirimsi, peynir gibi

Kist: (Kistik) Zar ile kaplı, içi sıvı veya akışkan madde ile dolu kese

Koagülasyon: Pıhtılaşma

Koagülatif: Pıhtılaşmaya neden olan

Kolektomi: Kalın bağırsağın hepsinin/bir bölümünün ameliyatla alınması

Kompound: (compound) Birleşik

Kolonoskopi: Kalın bağırsak endoskopisi

Kondansör: Yoğunlaştırıcı; mikroskopta ışığı yoğunlaştırarak objektife yönlendiren mercek

Konjesyon: Dokudaki kan miktarının artması. Hipermiden farkı, kan miktarındaki artışın venöz dönüşün azalmasına bağlı olarak göllenme olması

Konsantre: Kullanımdan önce sulandırılması gereken

Kontaminant: Bulaş

Kontrast: Bir nesnenin çevresi ile renk ve parlaklık farklılığı

Koronal: Ön ve arka parçalara ayıran düzlem

Kriyostat: Frozen kesme mikrotomu

Kromafin: Adrenalin ve noradrenalin üreten, dikromat ile kahverengi görünen adrenal medulolasi ve paraganglialarda bulunan endokrin hücreler

Kromatik aberasyon: Mikroskobik görüntüde renklerin sapması

Küret: Dokuların biyopsi, eksizyon veya temizleme amacı ile kazınması için tasarlanmış bir cerrahi alet

Küretaj: Küret ile temizleme, biyopsi alma işlemi

Laserasyon: Yırtılma, kesik (lasere)

Lateral: Yan, orta hattan uzakta

Lens: Mercek

Lezyon (lésion, Fr.): Hastalığın dokunun görünümünde neden olduğu değişiklik

Lineer: Çizgisel

Lobektomi: Akciğerin bir bölümünün ameliyatla alınması

Lobüle: Çok sayıda yuvarlak çıkıntılı yapılar

Lokelize: Odaksal (fokal)

Loküle: Küçük boşluklardan oluşan (multiloküle)

Longitudinal: Uzunlamasına

Lümen: İçi boş organların boş olan bölümü

Maksimum: En çok

Mape: Lamaların taşınması için dizildiği levha

Masere olmak: Sert bir cismin su içinde kalışı nedeniyle yumuşaması

Medial: Orta hatta yakın

Melanin: Deriye rengini veren siyah pigment

Membran: Zar

Metakromazi: Boyadan farklı bir renge boyanma

Mezür: Sıvıların hacimlerini ölçmekte kullanılan silindirik şeklinde ve dereceli cam kap

Mikrometre: Metrenin milyonda biri, milimetrenin binde biri, 1×10^{-6} m

Mikron: Mikrometre

Mikzoid: Yüksek oranda mukopolisakkarit içerdiği için makroskopik olarak jelatinimsi, mikroskobik olarak soluk mavi görünen doku

Miliyer: Küçük çaplı, tüm dokuya yayılmış ve çok sayıda

Minimum: En az

Modifiye: Değiştirmek ve kişiselleştirmek. Bir şeyin üzerinde yapılan bir değişiklik ile orijinalliyi bozmak

Monoküler: Tek okülerli

Mordant: Bir boyayı doku veya kumaş üzerine sabitlemek için kullanılan madde, renk sabitleştirici

Morfoloji: Dokuların yapı, biçim ve fiziksel özellikleri

Mukus: Sümüksü salgı maddesi

Multifokal: Farklı yerlerde birden fazla sayıda

Multikistik: Çok sayıda kist içeren

Multilobüle: Çok sayıda lobül içeren

Multiloküle: Çok sayıda küçük boşluklardan oluşan

1. derece akraba 332
5S 396
9-amino-3-ethylcarbozole 137
18-gauge 252

A

Abbè 266
Absolü alkol 41, **45**, 88, 148
Absorpsiyon 119, 235
Ackerman's Surgical Pathology 63
Adenoid vejetasyon 68
Adenokarsinom 172
Adheziv 109, 222
Adrenalin 199
Adrenolökodistrofi 283
Adsorbsiyon 119
AEC 137, 217
Aerosol 158
Aerosolizasyon 422
Aetius 9
AFA 40, 41
Afinite 119, **217**
Agar 87
Ajitasyon 48
Akciğerin küçük hücreli dışı kanserleri 251
Akılcı Laboratuvar Uygulamaları 367, 374, **382**, 383, 449
Akım sitometrisi **247**
Akış çizelgesi **528**
Akreditasyon 359, 360, 365, 367, 369, **392**, 395, 398, 402, 403, 482
Akrilik boya 70, 79
Akromat objektif 269
Akson 209
Aktinomiçes 194, 196
Alcian blue 172, **174**, 178, 194
Aldehid 46
Alifatik hidrokarbon 89
Alkalın fosfataz 217
Alkol 18, 19, 20, 30-34, **42**, 44, 46, 47, 60, 80, 88, 137, 148, 156, 157, 219, 220, 257, 293, 415, 424
Alkol-eter karışımı 276
Alkolik çinko formol 28
Alkolik formol 28, **42**, 43, 157
Alkolometre 90
ALK-TKI 250, 251
Allel 258
Alport sendromu 283
Altın klorür 185, 186, 193, 200
Aluminyum amonyum sülfat 120
Aluminyum potasyum sülfat 120
Aluminyum sodyum sülfat 121
Aluminyum sülfat 174, 200, 206, 207
Amfoterik 120
Amilaz 175
Amiloid 29, 175, **201**, **203**, 283
Aminoalkylsilane 109
Aminoasit 37, 120
Aminoetilkarbazol 217
Amip 196
Amonyak 210
Amonyaklı gümüş 185, 199
Amonyaklı su 121, **126**, **205**, 210
Amonyum hidroksit 80, 120, 126, 211
Amonyum oksalat 80

Amonyum sülfat 30, 45, 236
Amplifikasyon 242, 245, **260**, 252
Amputasyon 290, 494
Analitik 19, 222, 243, 254, 259, 260, 320, **397**, 402, 409
Analitik süreç 56
Analiz öncesi süreç 369, 371
Anatomi 12
Anilin blue 181
Anöploidi 244
Antigen retrieval 219
Anti-HBs 424
Antijen 217, 219, 224, 235
Antijen maskelenmesi 219
Antikor 217, 224, 227, 235, 320, 321, 322
Antikor inkübasyon 219
Anti-roll plaka 146, 147, 316, 317
Anton von Leeuwenhoek 10
Antrakozis 58
Anyonik boya 120
Apathy kapama maddesi 203
Apokromat objektif 269
Apoptozis 243
Araldit 99
Arap zımkı 137, 203
Arıza 298, **309**, 310, 315, 377
Aristo 9
Arjentaflin 193, 199, 200
Arjirofil 185, 199
Aromatik amin 419
Arşiv 248, 249, 258, 259, **329**, 333, 360, 368, 373, 378, 385, 387, **393**, 409, 442, 467, 470
Arşiv odası 330, 489, 501
Arşiv takip yazılımı 331
Artefakt 19, 138, **146**, 222, **337**
Asbestozis 281
Asetik asit 35, **42**, 121, 198
Aseton 34, 36, **42**, 88, 109, **148**, **162**, 196, 219, 220
Asit alkol 125, 127, **165**, **175**, 188, 348
Asit fast 188
Asit fuksin 179
Asit müsin 177, 178
Aspergillus 194, 196
Aspirasyon 305, 494, 496, 498
Aspiratör 304, 306, 421, 502
Astım 417
Aşılama 420, 422
Atık 61, **287**, 304, 390, 425, 489
Atıkların Kontrolü Yönetmeliği 288
Atık yönetimi **287**, 393
Atrofi 57
Aureli Babes 155
Avenzoar 9
Avidin-biotin 217, 221
Aydınlatılmış onam **434**
Aydınlatma sistemi 304
Aydoğan Özcan 470
Ayırım gücü 17

B

B-5 29, **35**, **36**, **43**, 79, 219, 255
Bağ doku 119, 181, 197
Bağıl su 46, 87
Bakım 315, 376
Bakım kartı 364

Bakır 121
Bakır asetat 44
Bakır sülfat 88
Bakkam ağacı 11, 120
Bakteri 188, 190, 191, **196**, 235, 422
Balgam 156, 158, 291
Barkod 249, 306, **307**, **313**, 320, 322, 333, 371, 386, 473, 505
Barkod okuyucu 387
Barrett özefagus 174
Basit çözünürlük 119
Basit difüzyon 255
Baz 246
Bazal membran 186, 187
Bazik fuksin 175, 188, 196
BCG 422, 424
belirteç 224
Belmont raporu 434
Bensen burner 108
Benzen 419
Benzidin 420
Beyin omurilik sıvısı 156
Bıçak 79, 108, **145**, 305, 317, 342
Bıçak açısı 315
Bıçak tutucu 63, 146, 314, 317
Bidistile su 193
Biebrich scarlet 181
Bielschowsky **209**
Bileşik tespit solüsyonları 42
Bilgi ve Belge Yönetimi 330
Bilirkişi 440, **443**, 444
Bilirubin 58
Bilişim **472**
Binoküler 270
Birefrijans 201
Bis-klorometileter 501
Bistüri 68, 79, 162, 220, 253, 291, 288, 304, 305, 422
Biyobanka **248**, 253, 329
Biyoeetik **433**
Biyogüvenlik kabini 502
Biyogüvenlik sınıfları **521**
Biyojenik amin 33, 199
Biyolojik atık 287
Biyolojik mikroskop 265
Biyolojik risk 367, **422**
Biyolojik tehlike sınıflaması **522**
Biyomolekül 254
Biyopolimer matriks 30
Biyopsi 56, **67**, 68, 381, 409
Blastomiçes 194, 196
Blok 99, 107, **108**, 246, 253, 281, 312, 316, 329, 330, 385
Bloklama 70, 99, 217, 247, 409, 410, 500
Blok tutucu 314
Board sınavı 12
Bohmer mordant 11
BOS 156
Bouin 29, 35, 36, **44**, 70, 71, 79, 181, 219
Boyama 17, 20, 30, 32, **119**, **162**, 318-322, 343, 376, 409
Boyama cihazı **318**, 320
BRAF 250-252
Bronkoskopi 158
Brown-Hopps 196
Bulaş 158, 343, 372, 376, 422