

De wereld onder de microscoop

[Home](#)
[Histologie](#)
[Materialen](#)
[Preparaten](#)
[Fotogaleri](#)
[Downloads](#)
[Links](#)
[Sitemap](#)
[Contact](#)

Coupes hydrateren en kleuren

7. Hydrateren

Om het preparaat te kunnen kleuren zal eerst alle paraffine moeten worden verwijderd. Het preparaat wordt in een dalende alcoholreeks naar een waterige omgeving gebracht. Om spaarzaam vloeistoffen te gebruiken is het praktisch om kleine kunststof of glazen potjes te gebruiken. Plak er een sticker op zodat zeker is wat er in zit. Omdat het voorwerpglas rechtop in de vloeistof komt te staan is het raadzaam om de coupes aan het eind van het voorwerpglas te plakken. De dalende reeks bestaat uit 2x xyleen, 100% isopropanol, 96% ethanol, 85% ethanol, 70% ethanol, 50% ethanol, gedemineraliseerd water (de 50% stap mag maar is niet strikt noodzakelijk). De preparaten blijven telkens 4 minuten in elk bad. Voor een goede doordringing van elke stof moet het preparaat geregeld in de vloeistof bewogen worden. Wanneer de xyleen koud is lost de paraffine slechte op. Opwarmen tot ongeveer 25°C zorgt voor een betere verwijdering van de paraffine. Na ongeveer 50 preparaten moet de xyleen worden verversd daar deze verzadigd raakt, dat geldt ook voor de ethanol en isopropanol stappen. Bij het wisselen van bad zo weinig mogelijk oude vloeistof meenemen (aan de rand laten afleken en kort op een tissue drukken). Nadat de preparaten in water zijn aangekomen mogen ze hier langer in blijven liggen (een paar uur is geen probleem). Nu kan er gekleurd worden. Onderstaande afbeeldingen geven de reeks weer.



8. Kleuren

Het kleuren van de coupes is het moeilijkste deel van de histologie. Het microtoomsnijden was al niet makkelijk, nu begint het meesterwerk. Ik vergelijk het welleens met het braden van een steak. Dat kan in principe iedereen maar alleen een meesterkok krijgt hem smakelijk en sappig. Zo gaat met kleuren ook. In het boek 'Mikroskopische Technik' van Romeis zijn vele recepten te vinden. Dit boek is voor iedere histoloog een aanrader. Het groene exemplaar toont de oudere uitgave, 17e druk, die naar mijn mening het beste is. De nieuwste 18e uitgave, rode exemplaar, gaat voor de amateur veelal te ver. Hier zijn meestal instrumenten en kleurstoffen benodigd die voor erg duur zijn en kleurmethoden die te moeilijk zijn. Te denken valt aan immunohistochemische kleuringen.



Het gaat te ver om hier alle details van kleuringen te benoemen, daarvoor is de kleurtechniek te gecompliceerd. Benoemenswaardig is echter:

- Progressief kleuren is een techniek waarbij de coupes zolang in de kleurstof verblijven totdat ze genoeg gekleurd zijn.
- Regressief kleuren is een techniek waarbij eerst overkleurd wordt en daarna door middel van differentiëren (uitwassen met een geschikte vloeistof) het juiste kleurniveau bereikt wordt.
- Men kan een coupe kleuren met één kleurstof maar ook dubbel-, drie-, en meervoudige kleuringen zijn mogelijk.
- De kleuring is o.a. afhankelijk van:
 - kleurtijd
 - concentratie van de kleuroplossing
 - temperatuur, coupedikte, fixatie.

Vier opnames van verschillende kleuringen.

Fig 1, Tand in aanleg gekleurd met PTAH.

(PTAH=Fosforwolframhaematoxyline)

Fig 2, Zelfde tand in een Trichroomkleuring volgens

Mallory.

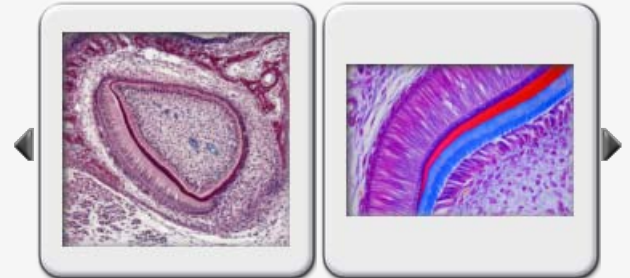
Fig 3, Wervelkolom in een AZAN kleuring volgens

Heidenhain.

Fig 4, Orgaan van Jacobson van een muis in de klassieke

HE kleuring.

De HE (Haematoxyline/Eosine) kleuring is routinekleuring in histologische- en pathologische Laboratoria.



Kleurstoffen dienen te worden aangeschaft. Kant en klare kleurstofoplossingen kunnen bij b.v. Chroma in Münster (Duitsland) worden aangeschaft. Het nadeel daarvan is dat de oplossingen met het vergaan van tijd hun kleurkracht verliezen. Een betere methode is om kleurstoffen in vaste vorm aan te schaffen. Het Anilineblauw/Orange G is een kant en klaar mengsel, het zure fuchsine echter is een kleurpoeder. Hoe het tot een kleuroplossing moet worden verwerkt staat in 'Romeis' beschreven.



De kleuring, die ik wil laten.....

[Back](#) [Top](#) [Next](#)