

ภาคผนวก

Routine Mayer's hematoxylin and eosin stain

Mayer's hematoxylin

Hematoxylin crystals	1.0	กรัม
น้ำกลั่น	1000.0	มิลลิลิตร
Sodium iodate	0.2	กรัม
Ammonium หรือ Potassium alum	50.0	กรัม
Citric acid	1.0	กรัม
Choral hydrate	50.0	กรัม

ละลาย alum ในน้ำโดยไม่ต้องใช้ความร้อน เติม Hematoxylin crystals ลงไป และละลายให้เข้ากัน จากนั้นเติม Sodium iodate, Citric acid และ Choral hydrate ลงไป คนจนสารละลายกลายเป็นเนื้อเดียวกัน สารละลายที่ได้จะเป็นสีม่วงแดง

1% stock alcoholic eosin

Eosin Y, water soluble	1.0	กรัม
น้ำกลั่น	20.0	กรัม
ละลายและเติม		
Alcohol, 95%	80.0	มิลลิลิตร

Working eosin solution

Eosin stock solution	1	ส่วน
Alcohol, 50%	3	ส่วน

ก่อนใช้เติม glacial acetic acid 0.5 มิลลิลิตร ต่อสารละลาย 100 มิลลิลิตร แล้ว

คนให้เข้ากัน

วิธีการย้อม

1. Deparaffinize and hydrate to water
2. Mayer's hematoxylin 15 นาที
3. ล้างในน้ำประปา 20 นาที
4. Eosin 15 วินาที – 2 นาที (ขึ้นอยู่กับอายุของ eosin)
5. Dehydrate ใน alcohol 95% และ 100 % 2 ครั้งๆละ 2 นาที
6. clear ใน xylene 2 ครั้งๆละ 2 นาที
7. mount ด้วย น้ำยา permount

ผลการย้อม

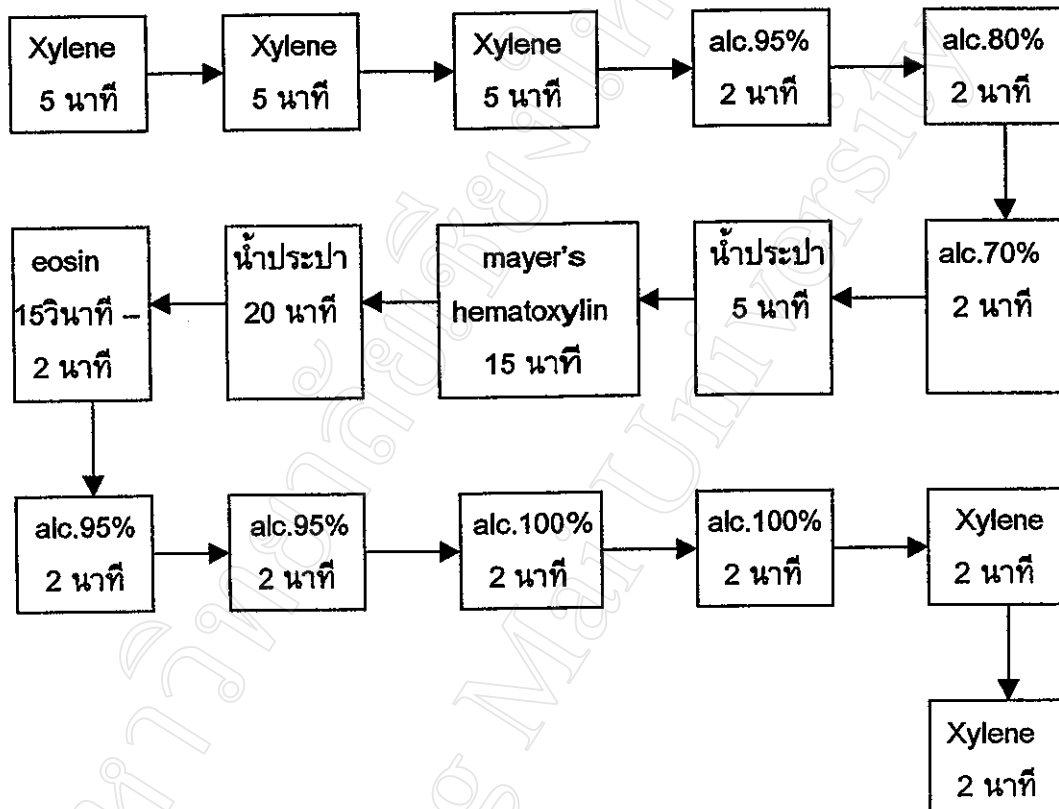
nuclei

ติดสีฟ้า

Cytoplasm

ติดสีชมพู

สรุปขั้นตอนการย้อมสี Mayer's hematoxylin และ eosin



Fontana – Masson silver nitrate solution

Stock 10% silver nitrate

Silver nitrate	10.0	กรัม
Distilled water	100.0	กรัม

ผสม silver nitrate และน้ำกลั่นให้เข้ากัน ควรเก็บสารละลายไว้ในขวดทึบแสง หรือเก็บให้พ้นจากแสงสว่าง

Fontana – Masson silver nitrate solution

1. นำ 10% silver nitrate(stock) มาหยดด้วย 28% ammonium hydroxide จะพบว่าหยดที่ 1-2 สารละลายจะมีตะกอนสีเข้ม (dark brown) จากนั้น

หยดต่อไปที่ละหยดพร้อมทั้งเขย่าสารละลายเบาๆ จนกว่าสารละลายที่ได้จะใส

2. นำสารละลายที่ใส มาหยดด้วย 10% silver nitrate (stock) ที่ละหยดจนสารละลายเริ่มขุ่น จากนั้นให้ทิ้งไว้ค้างคืน โดยเก็บไว้ในขวดทึบแสง หรือเก็บให้พ้นจากแสง
3. ก่อนนำสารละลายมาใช้ให้กรองทุกครั้ง แล้วเติมน้ำกลั่นเท่าตัว สารละลายที่ใช้แล้วให้ทิ้งไม่นำกลับมาใช้อีก

1% Gold chloride solution

Gold chloride	1.0	กรัม
Distilled water	100.0	กรัม
(Gold chloride in vial of 15 grains = 1 gram)		

Working gold chloride solution

Gold chloride 1%, aqueous	10.0	มิลลิลิตร
Distilled water	100.0	มิลลิลิตร

5% sodium thiosulfate solution (Hypo)

Sodium thiosulfate	5.0	กรัม
Distilled water	100.0	กรัม

Nuclear fast red

ละลาย 0.1 กรัม nuclear fast red ใน 5% aqueous aluminum sulfate 100 มิลลิลิตร โดยใช้ความร้อนช่วย ทิ้งให้เย็นและกรอง ผสม crystal of thymol เล็กน้อย เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง เมื่อใช้แล้วสามารถนำกลับมาใช้ได้

วิธีย้อม

1. Deparaffinize and hydrate to water
2. แช่สไลด์ใน Fontana – Masson silver nitrate solution ที่อุณหภูมิ 56-58 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 1 ชั่วโมงหรือเก็บในที่มืดที่อุณหภูมิห้องนาน 12-48 ชั่วโมง
3. จุ่มล้างในน้ำกลั่น
4. แช่สไลด์ใน Working gold chloride solution 5 นาที หรือนานกว่า
5. จุ่มล้างในน้ำกลั่น
6. แช่สไลด์ใน 5% Sodium thiosulfate solution 2 นาที
7. ล้างในน้ำประปาหลาย ๆ ครั้งแล้วตามด้วยจุ่มล้างในน้ำกลั่น
8. counterstain ใน nuclear fast red 5 นาที
9. จุ่มล้างในน้ำกลั่น

10. Dehydrate ใน alcohol 95% และ 100 % 2 ครั้งๆละ 2 นาที
11. clear ใน xylene 2 ครั้งๆละ 2 นาที
12. mount ด้วย น้ำยา permount

ผลการย้อม

การย้อมด้วยวิธีนี้ จะเห็นลักษณะ granules ติดสีดำ ส่วนองค์ประกอบอื่นของเซลล์ ติดสี ขึ้นอยู่กับสารที่ใช้ในการ counterstain

Churukian – Schenk method for argyrophil granules

0.3% Citric acid solution

Citric acid	0.3	กรัม
Distilled water	100.0	มิลลิลิตร

Acidified water solution

Distilled water, irrigation	500.0	มิลลิลิตร
-----------------------------	-------	-----------

ปรับสภาพ distilled water ให้มี pH 4 โดยการเติม 0.3% citric acid solution

0.5% Silver nitrate solution

Silver nitrate	0.5	กรัม
Acidified water solution	100.0	มิลลิลิตร

Developer solution

Sodium sulfate, anhydrous	5.0	กรัม
Hydroquinone	1.0	กรัม
Distilled water	100.0	มิลลิลิตร

Nuclear fast red

ละลาย 0.1 กรัม nuclear fast red ใน 5% aqueous aluminum sulfate 100 มิลลิลิตร โดยใช้ความร้อนช่วย ทิ้งให้เย็นและกรอง ผสม crystal of thymol เล็กน้อย เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง เมื่อใช้แล้วสามารถนำกลับมาใช้ได้อีก

วิธีย้อม

1. Deparaffinize and hydrate to water
2. แช่สไลด์ใน acidified water solution 3 นาที หรือนานกว่า

3. แช่สไลด์ใน 0.5% silver nitrate solution ที่อุณหภูมิ 43 องศาเซลเซียส 2 นาที และนำไปไว้ที่อุณหภูมิ 56 องศาเซลเซียสนาน 2 ชั่วโมง สารละลายที่ใช้แล้วสามารถเก็บไว้ได้
4. จุ่มล้างในน้ำกลั่น
5. แช่สไลด์ใน developer solution ที่อุณหภูมิ 56 องศาเซลเซียส 10 นาที สารละลายที่ใช้เก็บไว้ใช้ได้
6. จุ่มล้างในน้ำกลั่น 3 ครั้ง เปลี่ยนน้ำกลั่นทุกครั้ง
7. ล้างในน้ำประปา 3 นาที
8. จุ่มล้างในน้ำกลั่น 3 ครั้ง เปลี่ยนน้ำกลั่นทุกครั้ง
9. นำสไลด์กลับไปแช่ใน 0.5% silver nitrate solution 10 นาทีที่อุณหภูมิห้อง
10. จุ่มล้างในน้ำกลั่น 3 ครั้ง เปลี่ยนน้ำกลั่นทุกครั้ง
11. นำสไลด์กลับไปแช่ใน developer solution ที่อุณหภูมิ 56 องศาเซลเซียส 10 นาที
12. จุ่มล้างในน้ำกลั่น 3 ครั้ง เปลี่ยนน้ำกลั่นทุกครั้ง
13. counterstain ใน nuclear fast red 3 นาที
14. จุ่มล้างในน้ำกลั่นหลาย ๆ ครั้งเปลี่ยนน้ำกลั่นทุกครั้ง
15. Dehydrate ใน alcohol 95% และ 100 % 2 ครั้ง ๆละ 2 นาที
16. clear ใน xylene 2 ครั้ง ๆละ 2 นาที
17. mount ด้วย น้ำยา permount

ผลการย้อม

การย้อมด้วยวิธีนี้ จะเห็นลักษณะ granules ติดสีดำ ส่วนองค์ประกอบอื่นของเซลล์ ติดสีชมพูหรือ ขึ้นอยู่กับสารที่ใช้ในการ counterstain

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ	นางสาวธีรารัตน์ พลวัง
วัน เดือน ปี เกิด	19 ตุลาคม 2514
ประวัติการศึกษา	สำเร็จการศึกษาชั้นมัธยมศึกษาปีที่ 3 ที่โรงเรียนบัว อำเภอบัว จังหวัดน่าน เมื่อปีการศึกษา 2528 สำเร็จการศึกษาชั้นมัธยมศึกษาปีที่ 6 ที่โรงเรียนบัว อำเภอบัว จังหวัดน่าน เมื่อปีการศึกษา 2531 สำเร็จการศึกษาลัทธิสูตรประกาศนียบัตรพยาบาลศาสตร์ จากวิทยาลัยพยาบาลบรมราชชนนี อุตรดิตถ์ ปีการศึกษา 2535 พยาบาลวิชาชีพ 4
ตำแหน่ง	
สถานที่ทำงาน	วิทยาลัยพยาบาลบรมราชชนนี ลำปาง อำเภอเมือง จังหวัดลำปาง 52000 โทรศัพท์ 054-226254, โทรสาร 054-225020