

## **PREPARAT TEKNİĞİNDE ÇİFT KALIBA ALMA METODU**

### **LA MÉTHODE DE LA DOUBLE INCLUSION POUR LA PRÉPARATION TECHNIQUE**

Dr. Betül TUTEL

İstanbul Üniversitesi, Farmakobotanik ve Genetik Kürsüsü Asistanı

Parafin tekniği ile uzun zaman saklanması istenilen preparat yapılırken, çok nazik organların bilhassa genç köklerin sıvı parafin içinde paralel bir tarzda dizilmesi oldukça el oyalayan bir iştir. Eğer bu organlar bir haftalık tütün kökleri gibi çok ince, hemen hemen iplik kalınlığında iseler bu iş daha zorlaşır. Çünkü sıcak iken sıvı halde olan parafin, çok kısa bir zaman zarfında ve normal oda ısısında donup, yüzeyinde bir kabuk teşkil etme ve sertleşme istidadındadır. Aynı zamanda, köklerin parafin içinde bir müddet kaldıklarından, tefrik edilmeleri de güçtür. Paralel dizim esnasında parafinin katı hale geçisi, hernekadar lâmba sıcaklığından veya su buharından faydalananrsa da, çalışanı gariumen eder.

Bu vaziyetin önüne geçmek için Bordeaux'da tütün köklerine tatbik ettiğimiz agar kalibi içine alma usulünden bahsetmek istiyorum.

Nawaschin eriyiklerinde fikse edilen materyel, su trompu veya özel hava çıkışma aleti ile havası alındıktan sonra akar suda 2 saat müdetle yıkanır (Küçük cam borunun açık uçlarına ince tûlbent bağlanıp, bir beher içine konarak musluk altına bırakılırsa, materyelin yıkanması daha iyi olur).

#### **Agarın hazırlanması:**

% 1,2 lik agar bir erlenmayerde kaynatılıp, içine az miktarda fenol ilâve edilerek hazırlanır. Temiz bir petri kutusu dahilinde dökülp, düz bir yüzeyde ve soğukta donmaya ve soğumaya terkedilir. Tamamen soğuduktan sonra, agardan aşağı yukarı 1 sm<sup>3</sup> lük bir blok kesilir. Bino-

küler lup altında, iğne ve ince uçlu skalpel yardımıyle, agar blokunun orta kısmında dikdörtgenler prizması şeklinde çok ufak bir çukur açılır. Bu oyuk kısmın içine, yukarıda anlatılan tarzda suda yıkanan materyel, paralel ve üstüste gelmek üzere birkaç dizi halinde (parafin içinde dizilirken olduğu gibi telâşa lüzum kalmadan) sıralanır. Çukurun kapatılmasında çok dikkatli olmak gereklidir. Çünkü kapatma esnasında köklerin paralelliginin bozulmaması lâzımdır.

Kapatma işi şöyle olur: Çukurun her iki yanına ufak agar parçaları konur, skalpel alevde ısıtılp hemen küçük agar parçalarına değerlendirip çekilir. Bu esnada sıcaklığın etkisiyle küçük agar parçaları eriyerek çukura akmağa ve onu doldurmağa başlar. Bu olay birkaç defa tekrarlanarak oyuk kısmın kapanması temin edilir. Çukurun yüzeyi bir kaç dakika sonra soğuk bir skalpel veya jiletle düzeltildir. Keskin bir jiletle 1 sm<sup>2</sup> lük olan bu agar bloku kenarlarından kesilerek daha küçük bir küp veya prizma haline getirilir.

Agar şeffaf olduğundan çıplak gözle dahi çukurun içinde kökler tefrik edilebilir; fakat daha bariz olması istenirse Ver lümiyer (Vert lumière, light green veya lichtgrün) içinde, 2-15 dakika müddetle blokun bırakılması icap eder. Ver lümiyer %1 liktir ve 90° lik alkol ile hazırlanır.

Sonra 80° lik alkole alınarak tekrar havası çıkarılır. Bu alkolde istenilen müddetle kalabilir. Tedricen materyelin suyunu almak için 95° lik alkolde 5-10 dakika, 100° lik alkolde (I) 1 saat, 100° lik alkolde (II) 15 dakika bırakılır.

Sırasıyla aşağıdaki eriyiklerden geçirilir:

% 100 alkol + ksilen (1/1 oranında hazırlanır) 5 dakika,

ksilen I 10 dakika,

ksilen II 10 dakika,

ksilen + sıvı parafin (1/1 oranında hazırlanır) 5 dakika,

parafin I 10 dakika,

parafin II 10 dakika,

parafin III 15 dakika.

Ksilen II den sonra gelen eriyik serileri 56-58° deki etüv içinde bulunan parafinlerle yapılır.

Parafin III içinde agar bloku olduğu halde ya kâğıttan hazırllanmış parafin kalıbına veya saat camına daha iyisi metalden L harfi şeklinde

olan (jeu de barres de Leuckart) hususi kaliba dökülür. Bu suretle paraffin bloku içinde küçük agar kübü, onun da dahilinde kökler bulunduğundan bu usule çift kalive alma (la double inclusion) denilmektedir.

Muhtelif sivilarda kalma müddeti materyelin cinsine, yapısına ve hacmine göre değişir. Yukarda yazılı zamanlar, deneyerek tesbit ettiğimiz, tütün köklerine en uygun olanlarıdır. Diğer materyellerde, mahküllerde kalma müddeti daha uzundur. En iyisi tecrübe ederek uygun müddeti tesbit etmelidir.

#### RÉSUMÉ

Au cours de notre séjour à Bordeaux, la méthode de la double inclusion des racines de tabac turc, nous a donné de bons résultats. Cette méthode est beaucoup plus facile que la méthode de l'inclusion seulement avec paraffine, parce que le résultat de l'orientation des racines dans le gélose devient plus satisfaisant. Dans ce procédé les deux blocs (la paraffine et agar-agar) sont l'un dans l'autre d'où le nom de "la double inclusion".

---