



İÜ
ONKOLOJİ ENSTİTÜSÜ
PATOLOJİ LABORATUVARI
SERT DOKU DEKALSİFİKASYONU
TALİMATI

Doküman No : OE-PAT-PR-002/TL-005
İlk Yayın Tarihi : 03.10.2017
Revizyon No : 00
Revizyon Tarihi :
Sayfa No : 1 / 3

1. Amaç

Patoloji Laboratuvarına gelen cerrahi işlemler ya da invazif girişimler ile hastadan elde edilmiş sert doku örneklerinin mikroskopta incelenebilir hale gelebilmesi için içindeki kalsiyumun uzaklaştırılmasını (dekalsifikasyon = kalsiyumsuzlaştırma = demineralizasyon) sağlamak

2. Kapsam

Patoloji Laboratuvarı

3. Sorumlular

Laborant, Patolog/Patoloji Asistanı

4. Tanımlar

Onkoloji Enstitüsü Patoloji Laboratuvarı'nda sık kullanılan dekalsifikasyon sıvıları:

- **%8'lik stok Formik asit solüsyonu:** En sık kullanılan formüldür.
- **%20'lik formik asit formalin:** 4 birim formalin, 1 birim formik asit konur. Rutin kemik materyallerinin takibi için uygundur.
- **% 10'luk EDTA (pH7.4):** EDTA distile su ile hazırlanır. pH 7.4'e ayarlanır. Dekalsifikasyon günler, haftalar sürebilir ama DNA'yı en iyi koruyan ajanlardan biridir. İmmunhistokimya ve ISH için de uygundur.
- **%5-%10 Nitrik Asit (Distile suda):** Çok hızlı sonuç verir. 0,5 mm'lik kesitler 0,5-2 saatte dekalsifiye olur. Ancak dekalsifikasyon sırasında dokuda büyük kabarcıklar oluşur, dokuyu bozar.
- **%7'lik Formol nitrik asit:** Aynı zamanda fiksasyon da yaptığı için dokuyu daha iyi korur.
- **Sodyum sitratlı dekalsifikasyon solüsyonu:** ½ volüm %20 Sodyum sitrat, ½ volüm %50'lik formik asit
- **Morse Çözeltisi (%10'luk Sodyum sitrat, % 20'lik Formik Asit):** Özellikle in situ hibridizasyon (ISH) ve immunhistokimya yapılacak dokular için önerilmektedir.

5. Uygulamalar

Dekalsifikasyona girecek materyal öncelikle sert doku fiksasyon talimatına uygun şekilde fikse edilmelidir.

5.1. Dekalsifikasyon sıvısının seçimi

HAZIRLAYAN:	GÖZDEN GEÇİREN:	ONAYLAYAN:
SÜREÇ SORUMLUSU	KALİTE TEMSİLCİSİ	BAŞHEKİM



İÜ
ONKOLOJİ ENSTİTÜSÜ
PATOLOJİ LABORATUVARI
SERT DOKU DEKALSİFİKASYONU
TALİMATI

Doküman No :OE-PAT-PR-002/TL-005
İlk Yayın Tarihi :03.10.2017
Revizyon No :00
Revizyon Tarihi :
Sayfa No : 2 / 3

Dekalsifikasyon sıvısı, incelenecek materyale, boyaya, ne kadar hızlı sonuç alınmak istendiğine göre seçilir.

5.1.1. Genel amaçlı dekalsifikasyon için %20'lik formik asit-formalin çözeltisi kullanılır.

5.1.2. Kemik iliği biyopsileri için daha zayıf bir asit olan Glasial asetik asit ya da %10'luk formik asit tercih edilebilir.

5.1.3. Hücre morfolojisinin ve antijenitesinin daha iyi korunması gereken lenfoma, Ewing sarkomu gibi ön tanılara sahip kemik trucut biyopsilerinde Glasial asetik asit ya da % 10'luk formik asit kullanılabilir.

5.1.4. Narin dokular, ince-kürete nitelikte kemik içeren dokular ve deneysel çalışmalar için EDTA kullanılabilir.

5.1.5. Kortikal kemik, sklerotik kemik, osteom, diş gibi çok sert materyallerin dekalsifikasyonunda, konvansiyonel yöntemle hızlı sonuç alınamadığında, çok sık kontrol edilmek koşulu ile %7'lik formol nitrik asit veya hidroklorik asit gibi hızlı dekalsifikasyon yapan kuvvetli asitler kullanılabilir.

5.1.6. Kemik çimentosu [Polimetil metakrilat (PMMA)] asitte erimez, ksilolde erir.

5.2. Dokuların özelliğine uygun dekalsifikasyon sıvısı Patolog/patoloji asistanı tarafından belirlenir.

5.3. Özel bir uygulama gerekmiyorsa günlük uygulamalar için Sodyum sitratlı dekalsifikasyon solüsyonu (½ volüm %20 Sodyum sitrat, ½ volüm %50'lik formik asit) laborant tarafından hazırlanır.

5.4. Dekalsifikasyon sıvısının koyulacağı taşıma kabı:

5.4.1. Sıvı içerisinde dekalsifikasyon ilk başladığında gözlenen kabarcıklar dekalsifikasyon tamamlandığında kaybolacaktır. Bu nedenle dekalsifikasyon sıvısı şeffaf bir taşıma kutusuna koyulur.

5.5. Dekalsifikasyon sıvısının miktarı:

5.5.1. Taşıma kutusunun içine materyalin 20 katı hacminde dekalsifikasyon sıvısı koyulur.

5.6. Materyalin taşıma kabı ve dekalsifikasyon sıvısına koyulması

5.6.1. Kırıntı şeklindeki sert doku örnekleri filtre kağıdına sarılıp, eozin ile boyanarak kasete yerleştirilir. Kaset taşıma kabı içindeki dekalsifikasyon sıvısı içine koyulur.

5.6.2. Kaset kenarlarında en az 1-2 mm boşluk kalacak şekilde kasete sığabilen sert doku örnekleri kasete yerleştirilir. Kaset taşıma kabı içindeki dekalsifikasyon sıvısı içine koyulur.

5.6.3. Kasetlere sığmayan büyük materyaller doğrudan içinde dekalsifikasyon sıvısı bulunan taşıma kabına koyulur.

5.7. Dekalsifikasyon süresinin belirlenmesi

5.7.1. Dekalsifikasyon süresi hemen her materyal ve her dekalsifikasyon ajanı için farklıdır.

5.7.2. Materyalin içerdiği kemiğin niteliği, beraberinde yumuşak doku bulundurup bulundurmadığı gibi faktörlerden etkilenir.

HAZIRLAYAN:	GÖZDEN GEÇİREN:	ONAYLAYAN:
SÜREÇ SORUMLUSU	KALİTE TEMSİLCİSİ	BAŞHEKİM



İÜ
ONKOLOJİ ENSTİTÜSÜ
PATOLOJİ LABORATUVARI
SERT DOKU DEKALSİFİKASYONU
TALİMATI

Doküman No :OE-PAT-PR-002/TL-005
İlk Yayın Tarihi :03.10.2017
Revizyon No :00
Revizyon Tarihi :
Sayfa No : 3 / 3

5.7.3. Dekalsifikasyon sıvısına konan materyalin tüm bileşenleri aynı zamanda dekalsifiye olmaz. Örneğin bir rezeksiyon materyalinde medülladaki yumuşak bir kemik dokusu ile kalın bir korteks aynı zamanda dekalsifiye olmaz. Dekalsifikasyonu sonlandırmak için korteksi beklemek dokuda geri dönüşsüz bozulmalara yol açar.

5.7.4. Dekalsifiye olan bölümlerin, dekalsifikasyonu henüz tamamlanmamış olan diğer dokular dekalsifiye olana kadar bekletilmeden, patolog gözetiminde ivedilikle rutin doku takibine alınmalıdır.

5.7.5. Az dekalsifiye edilmiş dokularda blok kesit yüzeyine asit uygulamak suretiyle “bloкта dekalsifikasyon” yapılabilir.

5.8. Dekalsifikasyon sürecinin hızlandırılması

5.8.1. Dekalsifikasyon süreci materyalin boyutuna bağlı olarak değişmekle birlikte kortikal kemik, diş gibi sert dokularda haftalar sürebilir.

5.8.2. Dekalsifikasyon süresi, çalkalama, hafif ısı artışı, mikrodalga uygulaması ve bu iş için özel olarak tasarlanmış dekalsifikasyon cihazları ile hızlandırılabilir.

5.8.3. Özel cihazlarda ve mikrodalgada yapılacak dekalsifikasyon için üretici firmaların önerdiği takip rehberlerine uyulmalıdır.

5.8.4. Isıtılmış asit ya da fiksatif kullanılması teorik olarak molekül hareketlerini artırarak süreci kısaltsa da kontrolsüz ve yüksek ısılarda yapıldığında dokulara geri dönüşsüz hasar vermesi nedeniyle önerilmemektedir

5.8.5. Süreci hızlandırmanın en iyi yolu her gün asitini değiştirmektir.

5.8.6. Dekalsifikasyon sıvısını çalkalamak hem az da olsa kimyasal tepkimeyi hızlandırması, hem de dekalsifikasyon sırasında ortaya çıkacak doku debrilerini kemiğin yüzeyinden uzaklaştırarak asitin kemiğe diffüzyonunu artırması açısından önerilir.

5.9. Dekalsifikasyon sürecinin bitiminin kontrolü

5.9.1. Patolog/ patoloji asistanı tarafından doku ellenerek ya da bir iğne batırılarak kontrol edilir.

5.9.2. Bu işlemler yapılırken dokuya fazla bastırılmamasına, dokuyu eğip bükmemeye ve sivri cisimlerle çoklu denemeler yapıp dokuya zarar vermemeye dikkat edilmelidir.

6. Referans Dökümanlar

6.1. Doç. Dr. Başak Doğanavşargil. Dekalsifikasyon.

http://www.turkpath.org.tr/files/3_dekalsifikasyon_BD_metin.pdf

HAZIRLAYAN:	GÖZDEN GEÇİREN:	ONAYLAYAN:
SÜREÇ SORUMLUSU	KALİTE TEMSİLCİSİ	BAŞHEKİM