

1 день

В первый день прохождения практики мы ознакомились с правилами работы в ККПАБ. Изучили нормативные документы, регламентирующие санитарно – противоэпидемиологический режим в ККПАБ. Непосредственно ознакомились с правилами работы в гистологических лабораториях.

1. К работе в патологоанатомических отделениях и моргах допускаются лица в возрасте не моложе 18 лет, имеющих медицинское образование, прошедших специальную подготовку по охране труда и не имеющих противопоказания по здоровью.

2. Персонал отделения должен надеть санитарную одежду (халаты и шапочки), сменную обувь.

3. Персонал должен до начала работы проверять исправность оборудования и вести учет в журнале технического обслуживания.

4. Вырезка биопсийного материала должна производиться в специальной комнате, оборудованной вытяжным шкафом. Для вырезки должен быть оборудован специальный стол из нержавеющей стали и специальный набор инструментов предназначенный для этих целей.

5. Фиксация биоматериала должна производиться в вытяжном шкафу, а хранение его в специальной фиксационной комнате, оборудованной эффективной вентиляцией.

6. Кислоты и реактивы должны храниться в стеклянной посуде с притертыми пробками на нижних полках шкафов, отдельно от реактивов и красок.

7. После работы с микротомом необходимо вынимать нож и помещать в специальный футляр для постоянного хранения. Оставлять нож в микротоме или переносить без футляра в лаборатории строго запрещается.

2 день

Во второй день практики мы изучили подготовку материала к гистологическим исследованиям:

1. Прием
2. Маркировку
3. Регистрацию биоматериала

Также мы были ознакомлены с техникой приготовления гистологического препарата, и нам была показана экскурсия по гистологической лаборатории.

Основные этапы приготовления гистологических препаратов:

1. взятие материала;
2. фиксация;
3. промывка в воде;
4. обезвоживание и уплотнение;
5. заливка;
6. приготовление срезов;
7. окрашивание;
8. заключение срезов.

3 день

Мы познакомились с устройством санного микротомы и микротомных ножей. Серийные и отдельные срезы различной толщины и площади для световой микроскопии готовят при помощи специального устройства — микротомы. Различают санные и ротационные микротомы с ручной и электромеханической системой подачи ножа. Стальной нож микротомы позволяет получить срезы толщиной 0,5–100 мкм из залитых в парафин, целлоидин или полиэтиленгликоль кусочков ткани. Приготовленные для последующей световой микроскопии срезы монтируют на предметное стекло.

Замораживающие микротомы, содержащие основание с направляющими для передвижения ножа и механизм микроподачи, известны. В предлагаемом микротоме в отличие от известных, основание выполнено в виде полого прямоугольного тела, которое помещается непосредственно на исследуемый участок ткани, причем внутрь тела подается хладагент. Нож расположен так, что при своем движении он отсекает примороженный к основанию слой ткани. Такое выполнение микротомы дает возможность получать срезы с поверхности замороженных тканей не только растительных, но и живых. Охлаждение может также достигаться струей углекислоты, подаваемой в полость бруска через шланг со штуцером от баллона с жидкой углекислотой. Замораживающий микротом, состоящий из основания с направляющими для передвижения ножа и механизма микроподачи, отличающийся тем, что, с целью обеспечения возможности получения срезов с поверхности живых замороженных тканей, его основание выполнено в виде помещаемого непосредственно на исследуемый участок полого прямоугольного тела, внутрь которого подается хладагент, а нож расположен так, что при движении он отсекает примороженный к основанию слой ткани.

4 день

Мы ознакомились с организацией рабочего места:

1. Рабочий стол. При отсутствии специального стола может быть приспособлен любой стол (желательно с ящиками) с площадью рабочей поверхности не менее 60 *120 см. Если крышка стола не имеет специального покрытия, то его следует сделать из какого - либо влагоустойчивого материала. Однако участок стола, предназначенный для непосредственной работы по приготовлению препаратов, в любом случае необходимо накрыть стеклом и расположить под ним небольшие (9*12 см) листы белой или черной бумаги. Для того, чтобы удобнее расположить необходимое оборудование, следует иметь двухъярусную полку, для реактивов, растворов и посуды, которая устанавливается либо перед работающим (вдоль заднего края стола), либо сбоку в зависимости от расположения стола относительно источника света.

2. Инструменты, используемые в гистологической лаборатории, включает пинцеты, скальпели, кровоостанавливающие зажимы, корцанги, шпатели, препаровальные иглы - прямые и изогнутые, металлические и стеклянные. Стеклянные иглы необходимы при импрегнации серебром, когда металлическими иглами пользоваться нельзя, также необходимо иметь спиртовку, волосяную кисточку для снятия срезов с микротомного ножа, фильтровальную бумагу, иголки, нитки, плотную бумагу для этикетирования материала, лейкопластырь и карандаш по стеклу.

5 день

Мы были ознакомлены с техникой взятия материала. При микроскопическом исследовании тканей и органов большое значение имеет техника взятия материала. Соблюдение приведенных правил взятия материала позволит уменьшить количество артефактов и ошибок при гистологическом исследовании.

1. Кусочки органов следует вырезать острым ножом или бритвой. Пользоваться ножницами во избежание размятия тканей не рекомендуется. Нельзя сдавливать кусочки, скоблить или протирать их поверхность, особенно слизистую и серозную оболочки. Материал желательно получать как можно раньше после смерти людей (метод исследования материала трупа человека — аутопсия). С диагностической целью материал для гистологического исследования может забираться у людей прижизненно с помощью специальных инструментов или во время операций. Этот способ получения материала носит название биопсии.

2. Кусочки вырезают толщиной 0,5 – 1 см, длина и ширина может быть различной (обычно 1 x 1,5 см) с таким расчетом, чтобы получаемый срез поместился под стандартное покровное стекло. Ввиду медленного проникновения фиксатора в глубину ткани взятие на исследование более толстых кусочков не рекомендуется.

3. Кусочки сразу же помещают в фиксирующую жидкость. Недопустимо обмывание кусочков водой перед фиксацией.

6 день

Мы изучили технику фиксации, она обеспечивает стабилизацию тканевых структур и их уплотнение. Выбор фиксирующей среды зависит от задач исследования. Взятый для гистологического исследования материал сразу же должен подвергаться фиксации. Фиксация — метод обработки ткани с целью закрепления ее прижизненной структуры. Это достигается путем воздействия на ткань специальных растворов. Наиболее существенным изменением, происходящим в тканях под воздействием фиксатора - является процесс коагуляции белков. Количество фиксатора следует брать в 20-100 раз больше объема кусочка фиксируемого материала. Существуют фиксаторы простые и сложные. К простым относятся 10-20% раствор формалина, 96° спирт, 100° спирт, 1-2% раствор осмиевой кислоты и др. Сложные фиксаторы: спирт — формол, жидкость Ценкера и др. Продолжительность фиксации — от нескольких часов до 1 суток и более в зависимости от свойств фиксатора и характера исследуемого материала.

Практически все фиксаторы относятся к токсичным веществам (альдегиды, ацетоны» спирты), некоторые ядовиты (сулема, тетраоксид осмия, метанол), поэтому необходимо соблюдать правила техники безопасности при работе с реактивами, которые используют в гистологической практике. Фиксацию и вырезку материала необходимо производить в вытяжном шкафу. Материал, извлеченный из фиксатора, содержащего формалин, желательно в течение нескольких минут промыть в проточной воде, так как пары формалина оказывают раздражающее действие на слизистые оболочки глаз и органов дыхания. После фиксации материал промывают с тем, чтобы избавить его от избытка фиксатора и различных осадков фиксирующих жидкостей.

7 день

Мы изучили технику обезвоживания объектов. Обезвоживание фиксированных объектов обязательно предшествует их заливке в парафин. Из фиксированных объектов можно готовить срезы без заливки при помощи замораживающего микротом.

Для обезвоживания материала обычно используют несколько порций этилового спирта восходящей крепости. Кроме этанола для обезвоживания может быть применен безводный ацетон (ЧДА), изопропанол, диоксан, глицерин. Обезвоживание ускоряется при постоянном перемешивании жидкости, которое обеспечивает автоматизированные системы проводки (АТ – 6, Leica TP1020, Microm STP 120). С помощью микроскопа можно изучать только прозрачные срезы, следовательно, они должны быть тонкими (толщиной в сотые или тысячные доли миллиметра). Существуют специальные аппараты — микротомы, позволяющие разрезать материал на пластинки требуемой толщины, но для этого необходимо предварительно кусочек уплотнить. Это делают путем замораживания и резки на замораживающем микротоме или пропитыванием застывающими жидкостями и последующей резки на обычном микротоме. После фиксации кусочки промывают, обезвоживают, заливают в парафин и затем режут.

Промывка позволяет очистить материал от фиксатора. После фиксации в формалине, хромовых и сулемовых жидкостях материал промывают в проточной воде в течение 1—2 суток. После фиксации в смеси с пикриновой кислотой для промывки используют 70% спирт. От качества обезвоживания зависит качество заливки. Обезвоживание проводят в "батареи" со спиртами, крепость которых постепенно повышается. Обезвоживание ткани производится постепенно путем проведения ее через спирты возрастающей крепости: 50°, 60*, 70°, 80°, 90°, 96°, 100°: В каждом спирте кусочки находятся от нескольких часов до 1 суток в зависимости от величины кусочка.

8 день

Мы изучили технику заливки объектов в парафин. Пропитанные парафином кусочки ткани выкладывают в специальные формочки и заливают расплавленным в термостате или на водяной бане при 60 °С парафином, в который добавлено 1 — 3 % воска. Для получения парафиновых блоков нужной формы используют различные приспособления.

Применяют различные пластмассовые коробочки и формы, специальные импортные аппараты для заливки в парафин снабжены набором различных формочек (кассет) и пинцетов. В них обеспечивается автоматическая подача дробных доз парафина оптимальной температуры.

Раскладывание кусочков в формочки и их ориентирование нужно проводить быстро теплым пинцетом. Если материала для заливки много и он быстро остывает, то можно использовать парафин, подогретый на водяной бане до 60 °С. Для охлаждения формочки с материалом рекомендуют помещать в воду при 10— 18 °С, но не погружать в нее. При застывании парафина поверхность блока стягивается, и в нем образуется кратерообразное углубление. Это нужно учитывать при заливке кусочков и в дальнейшей работе с блоками. Парафин должен на 3—4 мм выступать над поверхностью блока, если предстоит монтировать его на деревянную колодку. В большинстве руководств рекомендуют после подравнивания и удаления лишнего парафина наклеивать блоки на деревянные бруски с помощью подогретого на спиртовке металлического шпателя или скальпеля. Затем для обеспечения более прочного приклеивания основания блок оплавливают с четырех боковых сторон тем же горячим шпателем или скальпелем. К изготовлению срезов можно приступить после охлаждения блока.

9 день

Мы изучили технику изготовления среза на микротоме. Блок фиксируют в объектодержателе так, чтобы длинная ось блока располагалась вдоль длинной оси микротомы, а поверхность блока горизонтальной. Очень важна правильная установка ножа. Оптимальным углом наклона ножа считается такой, когда плоскость фасетки совпадает с плоскостью среза. На практике угол наклона ножа обычно несколько больше оптимального. Если угол наклона ножа слишком велик, материал будет крошиться, если слишком мал, нож будет 1 – 2 раза проскальзывать над блоком, а потом срезать толстый срез. Парафиновые блоки режут прямым ножом. При резке парафиновых блоков нож устанавливают перпендикулярно оси микротомы или слегка под углом. В последнем случае нельзя получить серийных срезов, но зато очень плотные и трудно режущиеся объекты режутся легче. Когда нож установлен, к нему осторожно подводят блокодержатель с блоком и одновременно придвигают нож к блоку. Подачу объектодержателя осуществляют с помощью кремальеры, расположенной в основании объектодержателя, либо рукой, толкая санки объектодержателя вдоль наклонных рельсов. Когда блок и нож сближены, проверяют горизонтальность верхней поверхности блока, которая не должна доходить до лезвия ножа на 0,5-1 мм. После этого устанавливают микрометрическую шкалу на получение толстых срезов (30 мкм) и движением салазок ножа начинают подавать блок вверх до тех пор, пока не начинают получаться первые полные срезы, затем микрометрическую шкалу следует установить на необходимую толщину срезов. Парафиновые срезы делают толщиной 7-10 мкм. При очень хорошо залитом материале и хорошо наточенном ноже можно получить срезы толщиной 3-5 мкм. Парафиновые срезы режут сухим ножом.

Полученные парафиновые срезы осторожно, не прикасаясь к режущему краю ножа, снимают влажной кисточкой или препаровальной иглой и

помещают в чашку с теплой водой или сразу наклеивают на предметное стекло. Если блоки небольшие и прямоугольные, при поперечном положении ножа при резке из срезов получают ленточки (серии). Отдельные срезы не снимают с ножа. Края их прикреплены друг к другу, и они располагаются полоской друг к другу. Эту полоску снимают целиком для дальнейшей обработки. Парафиновые срезы всегда сморщены и имеют складки. Эти морщинки и складки необходимо расправить, либо поместив срезы на поверхность теплой (не горячей, чтобы не расплавился парафин!) дистиллированной воды, либо в процесс наклеивания на предметное стекло. Наклеивают парафиновые срезы на чистые обезжиренные предметные стекла, смазанные белком с глицерином. Для приготовления последнего свежий яичный белок взбивают шпателем и фильтруют через смоченный дистиллированной водой бумажный фильтр. К профильтрованному белку добавляют равный объем глицерина, смешивают и кладут для предупреждения загнивания 2-3 кусочка тимолой величиной с зернышко пшеницы. В зарытой склянке белок с глицерином наносят на предметное стекло и пальцем размазывают тонким слоем по стеклу. Если срезы были помещены в чашку с дистиллированной водой, белок на стекле коагулирует, подержав стекло над спиртовкой белком вверх. Затем расплавленный срез при помощи кисточки выливают из воды и переносят на стекло. Осторожно наклоняя предметное стекло, дают воде стечь и затем на 12-24 ч стекло переносят в термостат с температурой 37°C.

Если залитый материал отделяется от парафина или выпадает из него, причина может заключаться в недостаточном удалении из материала спирта или в использовании при заливке слегка охлажденного парафина. В любом случае материал нужно поместить обратно в промежуточную среду (ксилол, хлороформ) и затем повторить заливку. Если срезы разрываются и покрываются бороздками, это означает, что на ноже есть зазубрины. Можно попробовать слегка подвинуть нож, так чтобы на блок приходился другой его участок. Если это не поможет, необходимо точить нож заново.

Закручивание срезов и их прилипание к ножу встречаются при очень мягком парафине и высокой температуре окружающей среды. В этом случае перед резкой можно положить блок в холодильник, а во время резки время от времени класть на него кусочек льда, завернутый в марлю.

Причиной того, что не каждый срез, а лишь каждый второй годен для исследования, может быть неправильный угол наклона ножа. Возможно также, что срезы слишком тонки на несколько микрон и увеличить толщину среза.

Если блок плохо режется, нож подскакивает на поверхности блока и толщина срезов неровная, это объясняется чрезмерным уплотнением материала при фиксации. Исправить этот недостаток нельзя, но можно попробовать подышать на блок и поставить микротомный нож не перпендикулярно, а под углом. Серии срезов при этом получить нельзя, но отдельные срезы режутся лучше.

В сухую погоду срезы электризуются и сильно прилипают к ножу. Это можно предотвратить, подышав на нож перед резанием.

Маркировка стекол обычно следует за резанием блоков. Для этого при наклеивании срезов на блок один конец стекла оставляют свободным. Надпись на стекло можно наносить с помощью алмазного отметчика, но чаще это делается тушью. Так как тушь размазывается или стирается, следует ее наносить на смазанный белком и высушенный конец стекла. Затем этот конец нагревают над спиртовкой. Надпись при этом фиксируется и в дальнейшем не стирается.

10 день

Мы изучили метод подготовки срезов к окрашиванию. Поскольку большинство красителей не проникают в срезы, пропитанные парафином и являются водо - или спирторастворимыми веществами, парафин перед окраской препаратов должен быть удален. Этого достигают в ходе процедуры депарафинирования и регидратации. В качестве растворителя парафина обычно используют орто – ксилол. Для регидратации применяют спирты (этанол) нисходящей крепости. При постановке иммуноцитохимических реакций некоторые фирмы (например Sigma) в своих протоколах рекомендуют перед депарафинированием прогреть предметные стекла в термостате (56 °C). Проводить депарафинирование и регидратацию срезов, наливая ксилол и спирт непосредственно на предметное стекло, как это рекомендует Г.А.Меркулов, не следует, чтобы избежать токсического воздействия паров ксилола. Целесообразно использовать высокие цилиндрические стаканчики с притертыми крышками. Для депарафинирования и регидратации достаточно пяти стаканчиков. В первые два наливают орто - ксилол. Затем следуют две порции 96%-го этанола и 80%-го этанол. В каждой порции ксилола предметные стекла следует оставить на 3-5 минут. В спирты стекла следует помещать на 2-3 минуты. При перекладывании стекол следует аккуратно промокать их торцевую часть о фильтровальную бумагу, чтобы не загрязнять последующие растворы. Депарафинировать и регидратировать предметные стекла, сложенные по два (срезами наружу) не следует из-за опасности занесения ксилола, который может остаться между стеклами, в спирты и воду. Из 80%-го спирта предметные стекла переносят в дистиллированную воду на 5 (или более) минут. На этом регидратация срезов завершается и можно приступать к окраске.

11 день

Мы изучили общие принципы и методы окрашивания гистологических препаратов. В основе окрашивания клеток и тканей лежат физико-химические процессы, происходящие как в красителе, так и в микроструктурах. Большое значение имеют плотность ткани и дисперсность красителя, которые определяют последовательность и скорость окрашивания.

Целью окрашивания является более отчетливое выявление различных компонентов клеток и тканей. Некоторые красители обеспечивают этот эффект, растворяясь в выявляемых компонентах, например нейтральных жирах. Другие красители вызывают химическую реакцию, например выявление железа с образованием берлинской лазури в кислой среде. Во многих случаях процесс окрашивания возможен только при наличии протравы, например, гематоксилин окрашивает ткань в присутствии солей металлов.

В гистологической практике применяют основные, кислотные и нейтральные красители. Основные, или ядерные, красители — это основания или их соли, которые окрашивают структуры кислой природы (хроматин ядер, ядрышко и др.) и называются базофильными. К ним относятся гематоксилин, тионин, кармин, метиловый зеленый и др. Кислотные красители — это кислоты или их соли, с помощью которых выявляют вещества и структуры основной природы (цитоплазматические структуры клеток, эритроциты и т.д.). Таковыми являются эозин, кислый фуксин, Конго красный (конгорот), эритрозин. Нейтральные красители: судан - III, судан - IV, метиленовый синий.

Процесс гистологического окрашивания условно подразделяют на прогрессивный и регрессивный, прямой и непрямой, простой и сложный. При прогрессивном типе окрашивания процесс идет до тех пор, пока не достигается интенсивное проникновение красителя в ткань. Регрессивный

тип основан на первоначальном переокрашивании структур с последующей дифференцировкой до нужного уровня. Если раствор красителя непосредственно действует на ткань, то говорят о прямом окрашивании. Окрашивание после предварительной подготовки ткани (протравливания) называется непрямым. Окрашивание одним красителем - простое, а при использовании нескольких красителей — сложное.

Для окрашивания ядер используются гематоксилин, кармин, сафранин и другие основные красители. Существует несколько способов приготовления гематоксилина. Наиболее распространенным является гематоксилин Эрлиха. Для его приготовления 2гр гематоксилина растворяют в 100 мл 96% спирта и к полученному раствору добавляют 100 мл дистиллированной воды, 100 мл глицерина, 3гр.калийных квасцов и 10 мл ледяной уксусной кислоты. Все ингредиенты нужно добавлять в указанной последовательности. Полученный раствор необходимо поставить на свету и при доступе воздуха не менее чем на 15 дней с тем, что гематоксилин успел окислиться в гематоидин, который и является красящим веществом. Банку с раствором при этом накрывают бумажным колпачком или сложенной в несколько раз марлей. Гематоксилин Эрлиха окрашивает ядра в синий цвет. Его используют при окрашивании срезов гематоксилин эозином.

Кислые красители. Эти красители не являются избирательно цитоплазматическими. Красители для цитоплазмы подбирают таким образом, чтобы их цвет хорошо контрастировал с окраской ядер. Для докрасивания цитоплазмы после окраски ядер гематоксилином чаще всего используется 1% водный раствор эозина. Для срезов, окрашенных кармином, используют раствор пикриновой кислоты, полученный путем разведения водой насыщенного раствора пикриновой кислоты в отношении 1:3. Время окрашивания 2-5 минут. Цитоплазма клеток и эритроциты красятся в желтый цвет.

12 день

Мы изучили технику дегидратации, просветления и заключения срезов после окраски. После завершения окраски необходимо получить препарат, пригодный для микроскопического исследования. С этой целью используют застывающие прозрачные среды, которые помещают на окрашенный срез и накрывают чистым покровным стеклом. Приготовленный таким образом препарат после микроскопирования может длительно сохраняться в архиве. Если заключающая среда растворима в воде, то на окрашенные препараты наносят такую среду сразу после промывки и осторожно накрывают покровным стеклом. Когда заключающая среда застывает, препарат можно исследовать под микроскопом. Примером простой водорастворимой заключающей среды является глицерин – желатина. Ее и другие водорастворимые среды используют чаще при работе с криостатами и замороженными и вибраторными срезами, а также при окраске красителями, экстрагирующимся в этаноле. Для заключения парафиновых срезов чаще всего используют природные смолы (канадский или пихтовый бальзамы, DPX, пермаунт), которые нерастворимы в воде, не растворяются в ксилоле. Наиболее распространенными заключающими средами являются канадский бальзам и полистирол. Перед заключением в такие среды срезы необходимо обезводить в спиртах восходящей крепости и просветлить в двух порциях орто – ксилола (1 – 3 мин). Ксилолы и спирты рекомендуется менять после проводки каждые 40 – 50 препаратов. Канадский бальзам можно приобретать готовым к применению или в сухом виде. В последнем случае его растворяют в орто – ксилоле до получения густой сиропообразной жидкости. Для заключения постоянных препаратов, окрашенных гематоксилином и эозином, которые предполагается длительно сохранять в архиве, следует предпочесть канадский бальзам. При работе с препаратами, окрашенными основными анилиновыми красителями, следует использовать полистирол или другую нейтральную заключающую среду.

13 день

Мы изучили метод обработки биопсийного материала. Материал, подлежащий патологоанатомическому исследованию, доставляет в патологоанатомическое отделение в фиксирующей жидкости (10% раствор формалина) персонал клинических отделений. Крупные объекты (легкое, матка с придатками) могут быть направлены без фиксирующей жидкости при условии немедленной доставки их после операции в патологоанатомическое отделение. На банке, содержащей материал для исследования, должна быть наклейка с указанием фамилии и инициалов больного, лечебного отделения, а также номера истории болезни. Если в одну банку помещают несколько объектов исследования от разных больных, то каждый из них необходимо завязывать в марлю вместе с биркой, на которой указывают фамилию, инициалы и возраст больного. Вместе с каждым материалом в патологоанатомическое отделение доставляют заполненный врачом-клиницистом бланк направления на исследование.

Принятый материал регистрирует лаборант в книге записи биопсийного и операционного материала. Присланный на исследование материал врач-патологоанатом (но не лаборант) изучает макроскопически и затем вырезает кусочки для гистологического исследования. Данные, касающиеся макроскопического изучения, лаборант под диктовку врача вносит в бланк направления на исследование. Гистологические срезы с некоторых объектов (например, червеобразные отростки) получают на замораживающем микротоме, другой материал предварительно ускоренно заливают в целлоидин, парафин, иногда желатин, а затем делают срезы на соответствующем микротоме. Срезы окрашивают гематоксилин-эозином, а в случае необходимости применяют другие методы окрашивания. На гистологических препаратах тушью надписывают номер исследования и две последние цифры года исследования. Результаты микроскопического исследования врач-патологоанатом записывает на бланке направления на

исследование. Исследование биопсийного и операционного материала рекомендуется проводить в течение 3—4 дней, за исключением костной ткани и обызвествленных объектов, когда срок обработки может быть продлен до 6—7 сут, ибо в таких случаях требуется декальцинация присланного материала.

Ткани и органы, оставшиеся после гистологического исследования, также сохраняют в патологоанатомическом отделении в 10% растворе формалина в банках (баках). Надо следить, чтобы они не высыхали. Каждый объект завязывают в марлю вместе с биркой, на которой указан номер исследования. Бирку с аналогичным номером прикрепляют к марле. На банках (баках), где хранится материал, указывают год и номер исследования объекта. Этот материал хранится в патологоанатомическом отделении на протяжении 3 мес, после чего может быть уничтожен. Однако объекты, относящиеся к опухолям или подозрительные в отношении новообразований, сохраняют в течение 1 года. Книги записи биопсийного и операционного материала находятся в патологоанатомическом отделении, и их запрещено выносить из отделения.

14 день

Мы были ознакомлены с подготовкой тканей для электронно-микроскопического исследования. Необходимо сосредоточить максимум внимания на том, чтобы избежать (или предельно уменьшить) изменений живых микроструктур, вызываемых кислородным голоданием и процессами распада, наступающими при прекращении жизнедеятельности объекта.

Ввиду того что биологические мембраны, участвующие в образовании большинства живых микроструктур, имеют липоидно-белковый состав, возможно применение лишь тех фиксаторов, которые не растворяют липоиды и белки. Такие фиксаторы, как спирт, ацетон, дихлорид ртути (сулема), разрушая субмикроскопические структуры, делают невозможным электронно-микроскопическое исследование объекта.

Толщина исследуемых срезов не должна превышать 0,3 мкм (300 нм), т. е. они должны быть сверхтонкими. Изображение объекта в электронном микроскопе возникает в силу различной степени отклонения (рассеивания) электронов при прохождении их через различные по плотности участки среза, поэтому при большей толщине срезов на основное изображение будут накладываться изображения отдельных участков, расположенных выше (в направлении электронного пучка), что всегда повлечет за собой потерю четкости.

Для получения ультратонких срезов необходимо, чтобы материал для заливки обладал определенными свойствами (эластичность, плотность, прозрачность и пр.). Обычно для электронно-микроскопических исследований объект заливают в синтетические (полимерные) среды: эпоксидные и полиэфирные смолы, а в некоторых случаях и в желатин.

1). Нм (нанометр)—1/1000микрона.