Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение

высшего образования «Красноярский государственный медицинский

университет имени профессора В.Ф. Войно - Ясенецкого»

Министерства здравоохранения Российской Федерации

Фармацевтический колледж

**Дневник производственной практики**

ПМ 05 «Проведение лабораторных гистологических исследований»

Киселева Ольга Николаевна

ФИО

Место прохождения практики: «КГБУЗ Красноярский краевой клинический центр охраны материнства и детства, перинатальный центр»

(медицинская организация, отделение)

с «9» Мая 2022 г. по «28» Мая 2022 г.

Руководители практики:

Общий – Ф.И.О. (заведующий) Соколов Д. В.

Непосредственный – Ф.И.О. (старший лаборант) Токарева И. П.

Методический – Ф.И.О. (преподаватель) Догадаева Е. Г.

Красноярск, 2022

**Содержание**

1. Цели и задачи практики;

2. Знания, умения, практический опыт, которыми должен овладеть студент;

после прохождения практики;

3. Тематический план;

4. График прохождения практики;

5. Инструктаж по технике безопасности;

6. Содержание и объем проведенной работы;

7. Манипуляционный лист (Лист лабораторных / химических исследований);

8. Отчет (цифровой, текстовой).

**Цели и задачи практики:**

Закрепление в производственных условиях профессиональных умений и навыков по методам гистологических исследований.

1. Расширение и углубление теоретических знаний и практических умений по методам гистологических исследований.
2. Повышение профессиональной компетенции студентов и адаптации их на рабочем месте, проверка возможностей самостоятельной работы.
3. Воспитание трудовой дисциплины и профессиональной ответственности.
4. Изучение основных форм и методов работы в гистологических лабораториях.

**Программа практики.**

В результате прохождения практики студенты должны уметь самостоятельно:

1. Организовать рабочее место для проведения лабораторных гистологических исследований.
2. Подготовить лабораторную посуду, инструментарий и оборудование для анализов.
3. Приготовить растворы, реактивы, дезинфицирующие растворы.
4. Провести дезинфекцию биоматериала, отработанной посуды, стерилизацию инструментария и лабораторной посуды.
5. Провести прием, маркировку, регистрацию и хранение поступившего биоматериала.
6. Регистрировать проведенные исследования.
7. Вести учетно-отчетную документацию.
8. Пользоваться приборами в лаборатории.
9. Выполнять гистологические манипуляции по соответствующим методикам.

**По окончании практики студент должен** **представить в колледж следующие документы:**

1. Дневник с оценкой за практику, заверенный подписью общего руководителя и печатью ККПАБ.
2. Характеристику, заверенную подписью руководителя практики и печатью ККПАБ.
3. Текстовый отчет по практике (положительные и отрицательные стороны практики, предложения по улучшению подготовки в колледже, организации и проведению практики).
4. Выполненную самостоятельную работу.

**В результате производственной практики обучающийся должен:**

**Приобрести практический опыт:**

- приготовления гистологических препаратов

**Освоить умения:**

- готовить материал, реактивы, лабораторную посуду и аппаратуру для гистологического исследования;

- проводить гистологическую обработку тканей и готовить микропрепараты для исследований;

- оценивать качество приготовленных гистологических препаратов;

- архивировать оставшийся от исследования материал;

- оформлять учетно-отчетную документацию;

- проводить утилизацию отработанного материала, дезинфекцию и стерилизацию использованной лабораторной посуды, инструментария, средств защиты.

**Знать:**

- задачи, структуру, оборудование, правила работы и техники безопасности в патогистологической лаборатории;

- правила взятия, обработки и архивирования материала для гистологического исследования;

- критерии качества гистологических препаратов;

- морфофункциональную характеристику органов и тканей человека.

**Тематический план**

**4/6 семестр**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| № | Наименование разделов и тем практики | | Всего часов |
| **4/6 семестр** | | | **108** |
| 1 | Ознакомление с правилами работы в ККПАБ:  -изучение нормативных документов, регламентирующих санитарно -противоэпидемический режим в ККПАБ.  -ознакомление с правилами работы в гистологических лабораториях. | | 6 |
| 2 | Подготовка материала к гистологическим исследованиям:  - прием, маркировка, регистрация биоматериала.  - устройство микроскопов и техника микроскопирования.  -устройство санного микротома и микротомных ножей. | | 12 |
| 3 | Организация рабочего места:  - приготовление реактивов, подготовка оборудования, посуды для исследования | | 6 |
| 4 | Техника приготовления гистологических препаратов:  - приготовление гистологических срезов;  - уплотнение материала;  - обезвоживание;  - фиксация;  - техника окрашивания срезов:  а) предварительная подготовка парафиновых срезов перед окраской.  -предварительная подготовка целлоидиновых срезов перед окраской.  б) проведение окрашивания срезов, наклеенных на предметные стекла и  свободноплавающих срезов.  в) просветление и заключение срезов в специальные среды (смолы) ;  - обработка биопсийного материала;  - приготовление препаратов для электронно – микроскопического  исследования | | 66 |
| 5 | Регистрация результатов исследования. | | 6 |
| 6 | Выполнение мер санитарно-эпидемиологического режима в ККПАБ :  - проведение мероприятий по стерилизации и дезинфекции лабораторной  посуды, инструментария, средств защиты;  - утилизация отработанного материала. | | 6 |
| **Вид промежуточной аттестации** | | Дифференцированный зачет | 6 |
| **Итого** | | | **108** |

**График прохождения практики.**

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| **№ п/п** | **Дата** | **Часы** | **оценка** | **Подпись**  **руководителя.** |
| 1 | 9.05.2022 г | 8:00 - 14:00 |  |  |
| 2 | 10.05.2022 г | 8:00 - 14:00 |  |  |
| 3 | 11.05.2022 г | 8:00 - 14:00 |  |  |
| 4 | 12.05.2022 г | 8:00 - 14:00 |  |  |
| 5 | 13.05.2022 г | 8:00 - 14:00 |  |  |
| 6 | 14.05.2022 г | 8:00 - 14:00 |  |  |
| 7 | 16.05.2022 г | 8:00 - 14:00 |  |  |
| 8 | 17.05.2022 г | 8:00 - 14:00 |  |  |
| 9 | 18.06.2022 г | 8:00 - 14:00 |  |  |
| 10 | 19.06.2022 г | 8:00 - 14:00 |  |  |
| 11 | 20.06.2022 г | 8:00 - 14:00 |  |  |
| 12 | 21.06.2022 г | 8:00 - 14:00 |  |  |
| 13 | 23.06.2022 г | 8:00 - 14:00 |  |  |
| 14 | 24.06.2022 г | 8:00 - 14:00 |  |  |
| 15 | 25.06.2022 г | 8:00 - 14:00 |  |  |
| 16 | 26.06.2022 г | 8:00 - 14:00 |  |  |
| 17 | 27.06.2022 г | 8:00 - 14:00 |  |  |
| 18 | 28.06.2022 г | 8:00 - 14:00 |  |  |

**Лист лабораторных исследований.**

**4/6 семестр**

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **Исследования** | **Количество исследований по дням практики** | | | | | | | | | | | | | | | | | | **итог** |
|  | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 | 16 | 17 | 18 |  |
| изучение нормативных  документов | 7 |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  | 7 |
| прием, маркировка,  регистрация  биоматериала. | 2 | 2 | 1 | 5 | 4 | 6 | 2 | 3 | 5 | 7 | 3 | 5 | 4 | 2 | 6 | 2 | 5 | 2 | 66 |
| организация рабочего  места | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 18 |
| приготовление срезов |  | 1 | 1 | 2 | 1 | 2 | 1 | 1 | 2 | 1 | 1 | 1 | 1 | 2 | 1 | 1 | 2 | 1 | 22 |
| уплотнение материала |  | 1 | 1 | 2 | 1 | 2 | 1 | 1 | 2 | 1 | 1 | 1 | 1 | 2 | 1 | 1 | 2 | 1 | 22 |
| обезвоживание |  | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 17 |
| фиксация |  | 1 | 2 | 2 | 1 | 3 | 2 | 2 | 1 | 1 | 2 | 1 | 1 | 2 | 3 | 2 | 1 | 3 | 30 |
| предварительная  подготовка парафиновых  срезов перед окраской |  | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 17 |
| предварительная  подготовка  целлоидиновых срезов  перед окраской |  |  |  |  | 1 |  |  |  |  |  | 1 |  |  | 1 |  | 1 |  |  | 4 |
| окрашивание срезов |  | 2 | 3 | 2 | 4 | 5 | 2 | 4 | 3 | 3 | 2 | 3 | 2 | 3 | 4 | 3 | 5 | 4 | 54 |
| просветление и  заключение срезов в  специальные среды  (смолы) |  | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 17 |
| Обработка биопсийного  материала |  |  |  | 1 |  |  |  |  |  | 1 |  | 1 |  | 1 |  | 1 |  |  | 5 |
| приготовление  препаратов для  электронно –  микроскопического  исследования |  | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 17 |
| микроскопия |  | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 17 |
| регистрация результатов  исследования |  | 1 | 3 | 2 | 3 | 3 | 2 | 3 | 2 | 2 | 2 | 3 | 2 | 3 | 3 | 3 | 3 | 2 | 42 |
| утилизация  отработанного материала |  | 2 | 3 | 3 | 4 | 3 | 5 | 7 | 7 | 7 | 2 | 3 | 3 | 4 | 5 | 2 | 3 | 5 | 68 |

**ОТЧЕТ ПО ПРОИЗВОДСТВЕННОЙ ПРАКТИКЕ**

Ф.И.О. обучающегося Киселева Ольга Николаевна

Группы **305-1** специальности **31.02.03 -Лабораторная диагностика**

Проходившего (ей) производственную практику с

**«9» Мая 2022** г по «**28» Мая 2022 г**

За время прохождения практики мною выполнены следующие объемы работ:

1. **Цифровой отчет**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **№** | **Виды работ** | **Количество** |
| 1 | -изучение нормативных документов, регламентирующих санитарно-противоэпидемический режим в ККПАБ. - ознакомление с правилами работы в гистологических лабораториях | 7 |
| 2 | - прием, маркировка, регистрация биоматериала.  -устройство микроскопов и техника микроскопирования.  -устройство санного микротома и микротомных ножей. | 66 |
| 3 | - приготовление реактивов, подготовка оборудования, посуды  для исследования | 18 |
| 4 | - приготовление гистологических срезов;  - уплотнение материала;  - обезвоживание;  - фиксация;  - техника окрашивания срезов:  а) предварительная подготовка парафиновых срезов перед  окраской.  -предварительная подготовка целлоидиновых срезов перед  окраской.  б) проведение окрашивания срезов, наклеенных на  предметные стекла и свободноплавающих срезов.  в) просветление и заключение срезов в специальные среды  (смолы);  - обработка биопсийного материала;  - приготовление препаратов для электронно –  микроскопического исследования | 205 |
| 5 | Регистрация результатов исследования. | 42 |
| 6 | проведение мероприятий по стерилизации и дезинфекции  лабораторной посуды, инструментария, средств защиты;  - утилизация отработанного материала. | 68 |

**Текстовой отчет**

**1. Умения, которыми хорошо овладел в ходе практики:** регистрация биоматериала, подготовка рабочего места, приготовление срезов, уплотнение и обезвоживания материала, фиксация, предварительная подготовка парафиновых и целлоидиновых срезов перед окраской, окрашивание срезов, заключение срезов в полистирол, регистрация результатов исследования и утилизация отработанного материала.

**2. Самостоятельная работа:** я самостоятельно приготовила 2 гистологических препарата.

**3.Помощь оказана со стороны методических и непосредственных руководителей:** в оформлении дневника практики и ответы на интересующие вопросы.

**4. Замечания и предложения по прохождению практики:** никаких замечаний в ходе практики нет.

Общий руководитель практики \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_ Соколов В. Д.

(подпись) (ФИО)

М.П.организации

**Аттестационный лист производственной практики**

Студент (Фамилия И.О.)  \_Киселева Ольга Николаевна\_\_\_\_\_\_\_

**Обучающийся на 3 курсе по специальности 31.02.03.**

Лабораторная диагностика

при прохождении производственной практики по

 ПМ 05. Проведение лабораторных гистологических исследований

С 9 мая 2022г. по 28 мая 2022г. в объеме 108 часов

в организации ПАО №3 КГБУЗ Красноярский краевой клинический центр материнства и детства

освоил общие компетенции:

**ОК1, ОК2, ОК 4, ОК 6, ОК 7, ОК 9, ОК 10, ОК 11.**

 освоил профессиональные компетенции:

**ПК 5.1, ПК 5.2, ПК 5.3, ПК 5.4, ПК 5.5.**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| № п/п | Этапы аттестации производственной практики | Оценка |
|  | Оценка общего руководителя производственной практики |  |
|  | Дневник практики |  |
|  | История болезни/ индивидуальное задание |  |
|  | Дифференцированный зачет |  |
|  | Итоговая оценка по производственной практике |  |

Дата                 \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_                                      В.Д. Соколов

                              (подпись)     (общего руководителя  производственной практики  от  организации)

МП организации

Дата                методический руководитель  \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_  Е.Г.Догадаева

                                                                                   (подпись)

МП учебного отдела

ХАРАКТЕРИСТИКА

Киселева Ольга Николаевна

обучающийся (ая) на 3 курсе по специальности 31.02.03 Лабораторная диагностика

успешно прошел (ла) производственную практику по разделу МДК 05.01 Теория и практика лабораторных гистологических исследований

профессионального модуля ПМ 05. Проведение лабораторных гистологических исследований в объеме 108 часов

с «9» мая 2022г.  по «28» мая 2022г.

в организации ПАО №3 КГБУЗ Красноярский краевой клинический центр материнства и детства

За время прохождения практики:

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| № ОК/ПК | Критерии оценки | Баллы  (0-2) |
| ОК.1. Понимать сущность и социальную значимость своей будущей профессии, проявлять к ней устойчивый интерес. | Демонстрирует заинтересованность профессией, исполняет трудовую дисциплину. |  |
| ОК 2. Организовывать собственную деятельность, определять методы и способы выполнения профессиональных задач, оценивать их эффективность и качество.  **ПК 5.1.**Готовить рабочее место для проведения лабораторных гистологических исследований. | Регулярно ведет дневник и выполняет все виды работ, предусмотренные программой практики.  Готовить материал, реактивы, лабораторную посуду и аппаратуру для гистологического исследования.  Демонстрирует организацию собственной деятельности с учетом требований санитарного режима, охраны труда, техники безопасности.  Соблюдает правила инструктажа, по ТБ, при работе в патогистологической  и цитологической лабораториях. Отсутствуют несчастные случаи, связанные с нарушением правил ТБ по вине студента. |  |
| ОК 3. Решать проблемы, оценивать риски и принимать решения   в нестандартных ситуациях.  ОК 5. Использовать информационно – коммуникационные технологии для совершенствования профессиональной деятельности.  ОК 13. Организовывать рабочее место с соблюдением требований охраны труда, производственной санитарии, инфекционной и противопожарной безопасности. |
| ОК 4. Осуществлять поиск, анализ и оценку  информации, необходимой для постановки и решения  профессиональных задач, профессионального личностного развития.  **ПК 5.3.**Регистрировать результаты гистологических исследований. | Пользуется нормативной документацией.  Демонстрирует использование компьютерного метода для сбора, хранения и обработки информации, применяемой в профессиональной деятельности. |  |
| ОК 6. Работать в коллективе и  команде, эффективно общаться с коллегами, руководством, потребителями.  ОК 7. Ставить цели, мотивировать деятельность подчиненных, организовывать  и контролировать их работу   с принятием на себя ответственности за результат выполнения заданий.  **ПК 5.2.** Готовить препараты для лабораторных гистологических исследований биологических материалов и оценивать их качество.  ОК 9.   Быть готовым к смене  технологий в профессиональной деятельности. | Проявляет корректность и уважение, умеет эффективно общаться   с сотрудниками лаборатории, руководством.  Ответственно и правильно выполняет порученные задания.  Демонстрирует взятие, обработку и подготовку к архивированию материала для гистологического   исследования.  Проводить и оценивать  качество гистологической  обработки тканей и приготовленных микропрепаратов для исследований.  Владеет современными методами работы на микротомах разного уровня. |  |
| ОК 10. Бережно относится к историческому наследию и культурным традициям народа, уважать социальные, культурные и религиозные различия. | Демонстрирует толерантное (уважительное) отношения к представителям социальных, культурных и религиозных общностей. |  |
| ОК 8. Самостоятельно определять задачи профессионального и личностного развития, заниматься самообразованием, осознанно планировать повышение  квалификации.  ОК 11. Быть готовым брать на себя нравственные обязательства по отношению к природе, обществу и человеку. | Соблюдает инструкцию по  сбору отходов.  Демонстрирует знания о строении и функции органов и тканей человека. |  |
| **ПК 5.5.**Архивировать оставшийся после исследования материал. | Качественно проводит подготовку к архивации оставшихся от исследования материалов. |  |
| **ПК  5.4.**Проводить утилизацию отработанного материала, дезинфекцию и стерилизацию использованной лабораторной посуды, инструментария, средств защиты.  ОК 12. Оказывать первую медицинскую помощь при неотложных состояниях.  ОК 14. Вести здоровый образ жизни, заниматься физической культурой и спортом для укрепления здоровья, достижения жизненных и профессиональных целей. | Соблюдает правила санитарно-гигиенического режима, охраны труда, техники безопасности и противопожарной безопасности.  Качественно проводит утилизацию отработанного материала, дезинфекцию и стерилизацию использованной лабораторной посуды, инструментария, средств защиты с соблюдением  техники безопасности.  Отсутствие вредных привычек. Участвовал в мероприятиях по профилактике профессиональных заболеваний. |  |

«\_\_28\_\_»\_\_\_\_мая\_\_\_\_\_\_2022\_\_ г.

Подпись непосредственного руководителя практики \_\_\_\_\_\_\_\_/Токарева И.П.

Подпись общего руководителя практики \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_/Соколов В.Д.

 М.П.

**День 1 (9.05.2022)**

**Изучение нормативных документов**

В первый день нам дали изучить основную нормативную документацию и рассказали о правилах техники безопасности. Лаборант провел нас по всей лаборатории и рассказал, что и где располагается, рассказал про имеющие оборудование и как оно работает. Также подробнее ознакомили с мокрым и сухим запасом. После выполнения патоморфологического исследования врач-патологоанатом передает гистологические препараты лаборанту, расписывается в регистрационном журнале, с указанием даты и количества микропрепаратов. Лаборант является ответственным за дальнейшую сохранность микроскопических препаратов и влажного материала. Архивные гистологические (цитологические) препараты и медицинская документация (регистрационные журналы, алфавитные каталоги и иные формы) хранятся постоянно. При ликвидации или реорганизации учреждения (подразделения) архивные материалы передаются вновь созданному учреждению (подразделению), которое становится его правопреемником. В самом конце нам рассказали, как мы будем проходить в дальнейшем практику.

Основные документы:

* 1. Инструкция по охране труда для персонала при работе в патолого-анатомических отделениях.
  2. Приказ МЗ РФ №354 «О порядке проведения патолого-анатомических вскрытий».
  3. Федеральный закон №323 «О здоровье граждан».
  4. Федеральный закон «О погребенье и похоронном деле».
  5. ПРИКАЗ от 24 марта 2016 года 179н «О Правилах проведения патолого-анатомических исследований».
  6. ПРИКАЗ №352 N «Об утверждении учетных форм документации, удостоверяющей случаи смерти, и порядка их выдачи».

Основные правила работы в лаборатории:

1. Перед работой в лаборатории нужно надевать халат, чепчик и сменную обувь.
2. Работать в лаборатории следует только при присутствии лаборанта.
3. Организовать рабочее место и держать его в чистоте.
4. При работе с биоматериалом всегда нужно надевать перчатки, после окончания работы их правильно снять и помыть руки с мылом.
5. При повреждениях на коже под перчатки следует заклеить пластырем.
6. При работе с оборудование нужно следовать четким инструкциям.
7. При окончании работы следует привести в порядок свое рабочее место: утилизировать посуду, протереть поверхность рабочего лабораторного стола, выключить электрические приборы, утилизировать отработанный материал.



Рисунок 1 – сухой и мокрый запас

**День 2 (10.05.2022)**

**Организация рабочего места лаборанта**

В этот день лаборант ознакомил нас с организацией рабочего места лаборанта-гистолога.

Отдельный рабочий стол для каждого лаборанта. Площадью рабочей поверхности не менее 60 \*120 см. Крышка стола имеет специального покрытия. 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. Рабочий стол должен быть достаточно устойчивым, чтобы на нем можно было работать на микротоме, и хорошо освещенным.

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.

На столе лаборанта находится во время работы санный микротом, скальпель и пинцет, водяная баня, предметные (перед наклеиванием срезов предметные стекла должны быть подготовлены для того, чтобы в ходе дальнейшей обработки срезы не отклеивались) и покровные стекла, марля, кровоостанавливающие зажимы, корнцанги, шпатели, препаровальные иглы - прямые и изогнутые, металлические и стеклянные, волосяную кисточку для снятия срезов с микротома, фильтровальную бумагу, иголки» нитки, плотную бумагу для этикетирования материала, лейкопластырь и карандаш по стеклу.

**День 3 (11.05.2022)**

**Прием, маркировка, регистрация биоматериала**

Приём материала происходит на 1 этаже с 8:00 до 15:00. Каждый регистратор и с одной и, с другой стороны, сравнивает штрихкода в система QMS, а также свой внутренний номер. У материала присутствует своё направление, в котором указано что было взято на исследование.

Для нанесения маркировки используется стандартное поле для записи унифицированной этикетки, в которое печатными буквами вписываются следующие данные: Фамилия и инициалы пациента. Внутренний номер направления. Краткое наименование лечебно-профилактического учреждения. Номер флакона. Количество кусочков во флаконе.

Материал бывает разный – Биопсия, аутопсия, т.д. Материал просматривают и составляют по алфавиту. Всю информацию с направления переносят в две программы: программа «ОМС» и программа «Регистратура», а также всё записывается в журнал учёта. Один журнал для биопсионного материала, а другой для операционного. Затем материал отправляют в работу, операционные материалы ставят в один вытяжной шкаф, а биопсионные в другой.

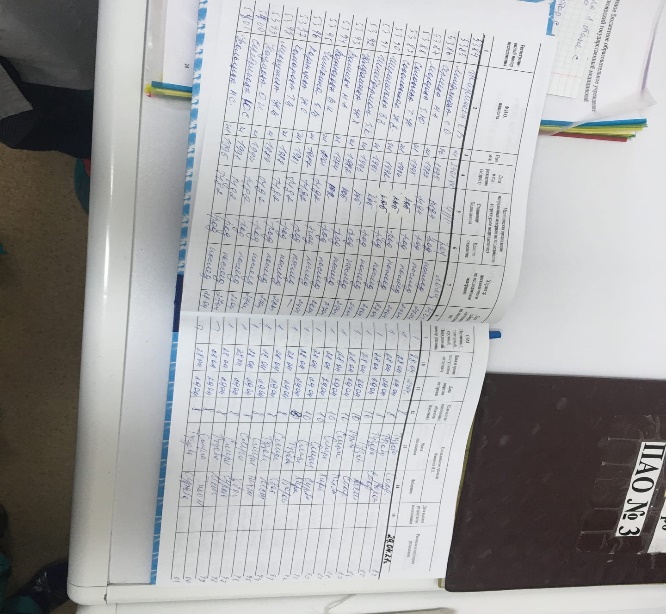
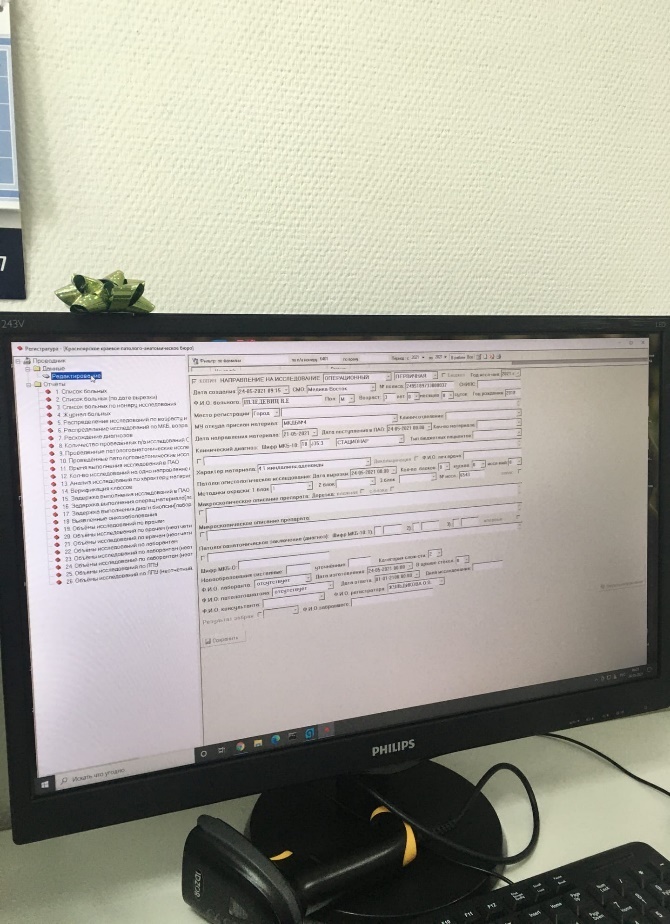


Рисунок 2 – Регистратура и журнал

**День 4 (12.05.2022)**

**Вырезка материала и фиксация**

В этот день нас отвели на вырезку и показали, как происходит фиксация. Из соответствующего органа вырезают небольшие кусочки (0,5 x 1 x 1 см) и погружают их в фиксатор 10% формалин.

Фиксация — метод обработки ткани с целью закрепления ее прижизненной структуры. Это достигается путем воздействия на ткань фиксаторов. Количество фиксатора следует брать в 20-100 раз больше объема кусочка фиксируемого материала. Продолжительность фиксации —от нескольких часов до 1 суток и более. После фиксации материал промывают (чаще всею в течение нескольких часов в проточной воде) с тем, чтобы избавить его от избытка фиксатора и различных осадков фиксирующих жидкостей.

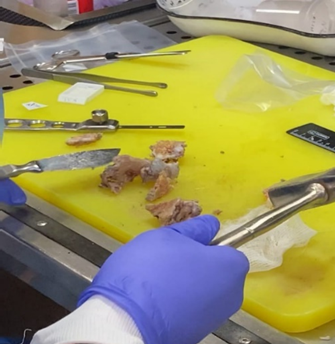


Рисунок 3 – Вырезка материала



Рисунок 4 – Фиксация материала

**День 5 (13.05.2022)**

**Обезвоживание и уплотнение материала**

Основные этапы приготовления гистологических препаратов: взятие материала, фиксация, промывка в воде, обезвоживание и уплотнение, заливка, приготовление срезов, окрашивание и заключение срезов.

После фиксации и промывки в воде проводят обезвоживание изопрепе и уплотнение материала.

Обезвоживание и уплотнение

Материал проводят по батарее спиртов возрастающей концентрации. Батарея может начинаться с различной концентрации, в зависимости от ткани. Затем образцы уплотняют - чтобы в последующем их можно было резать на микротоме. В качестве уплотнителя используют парафин или целлоидин. В нашей лаборатории используют Гистопроцессор замкнутого типа Epredia Excelsior AS (автомат для гистологической проводки). В приборе имеется несколько (две или четыре) реторты, корзина с образцами ткани перемещается из одной в другую автоматически, последовательно проходя стадии дегидратации и пропитки парафином.



Рисунок 5 – Гистопроцессор замкнутого типа Epredia Excelsior AS

**День 6 (14.05.2022)**

**Методический день**

**Особенности заливки в парафин крупных объектов.**

Заливка в парафин позволяет получать гистологические срезы больших размеров (гистотопографические срезы), например срезы всего органа (матка, почка) или его значительной части (доля легкого). Заливку проводят вручную, и для нее требуется дополнительное время на всех этапах. Для приготовления таких срезов из ткани головного мозга с помощью мозгового ножа де­лают срез свежей ткани толщиной около 1 см и закладывают в ванну с фиксатором. Для того чтобы сохранить плоскую конфи­гурацию среза, его кладут между двумя проволочными сетками, которые притягивают друг к другу резиновыми кольцами. Про­должительность фиксации 48 ч. После промывки в проточной воде (3—4 ч) следует обезвоживание в 70 %, 96 % и 100 % спир­те (по 2 смены) в течение 48 ч. Для обезвоживания можно при­менить изопропиловый спирт, обеспечивая частую его смену и температуру 45 °С  (в термостате). Это позволяет избежать по­лучения чрезмерно жестких препаратов. В качестве промежу­точной среды используют метилбензоат или хлороформ — 3 смены по 3 дня. Объекты заливают в парафин или парапласт, имеющие температуру плавления 56—58 °С.

**День 7 (16.05.2022)**

**Заливка в парафин**

В этот день нам показали, как происходит заливка в парафин, и мы сделали самостоятельно по несколько блоков.

В нашей лаборатории используют станцию для заливки парафином EC-350 (Двухмодульная система заливки тканей в парафин: заливочный модуль, охлаждающий модуль).

Кусочек ткани, находящий на кассете, мы пинцетов перекладываем на середину заливочной формы и поливаем парафином, после кладем кассету и еще раз поливаем парафином и хорошо прижимаем, кладем на 30-60 минут на охлаждающую площадку. После этого времени кладем на теплую площадку на пару минут и снимаем кассету, лишний парафин срезаем скальпелем. Поверх кассеты кладут номерок, который присвоен направлению.

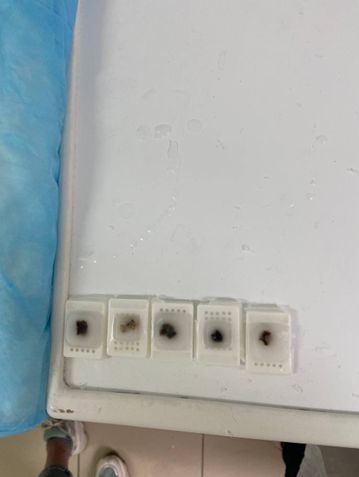


Рисунок 6 – заливка в парафин

**День 8 (17.05.2022)**

**Приготовление парафиновых срезов**

После заливки в парафин нам показали устройство и работу на микротоме. Серийные и отдельные срезы различной толщины и площади для световой микроскопии готовят при помощи специального устройства — микротома. Различают санные и ротационные микротомы с ручной и электромеханической системой подачи ножа. Стальной нож микротома 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.

В нашей лаборатории используют санный микротом. Блок фиксируют в объектодержателе и устанавливают нож под углом. Опускают столик и медленными движениями водят ножом вперёд-назад и одновременно поднимают столик до того момента, пока блок не будет немного касаться ножа.

После резки аккуратно при помощи препаровальной иглы снимаем срез, и кладем в водяную баню глянцевой стороной, где аккуратно распрямляем также при помощи препаровальной иглы и дальше срез наклеиваем на стекло. Уголок стекла обмакиваем об марлю, чтобы не оставалось воды и кладем стекла со срезом на специальный столик.



Рисунок 7 – Приготовление парафиновых срезов

**День 9 (18.05.2022)**

**Окрашивание и заключение парафиновых срезов**

Техника окрашивания срезов

Перед окрашиванием образцы освобождают от парафина, проводя по батарее растворителей: ксилол, дальше срез проводят через спирты сниженной концентрации, дистиллированная вода (по 2-5 мин). Этот ряд кончается водой в том случае, если затем используется водорастворимый краситель; обводненный препарат легко воспринимает водный краситель. Теперь срезы готовы к окрашиванию.

**Методика окрашивания.**Для окрашивания предметные стёкла со срезами ставят в маленькие чашки с раствором красителя попарно, срезами наружу, чтобы каждая пара стеком не соприкасалась. Затем их промывают водой, обрабатывают раствором другого красителя (если таковой используется) и вновь промывают водой.

**Обезвоживание и просветление окрашенных срезов**

После окрашивания препарат опять обезвоживают (проводя по батарее спиртов с возрастающей концентрацией – 70%, 96%, 100% по 2-3 мин в каждом).

Затем просветляют в карбоксилоле (несколько кристаллов карболовой кислоты в ксилоле) и ксилоле по 3-5 мин для удаления лишней краски. Карбоксилол, ксилол можно заменить карботолуолом, толуолом.

**Заключение срезов**

Наконец, на препарат наносят каплю канадского бальзама или полистирола и накрывают покровным стеклом. Бальзам должен полностью покрыть срез. Следят, чтобы не было пузырей воздуха. Через 1-2 дня бальзам застывает.

**Дополнительное окрашивание**

Берут стекла со срезами, также проводят по ксилолу, для Депарафинирование, а затем по батарее спиртов. После этого окрашивают препараты в зависимости от того, что нужно выявить, мы окрашивали по Ван-Гизону и для выявления слизи альциановым синим.

По Ван-Гизону:

Окрашивали в пикрофуксине в течение 5 минут, затем промыли водой и окрасили гематоксилином также в течение 5 минут. Снова промыли препарат и провели по ксилолу и батарее спиртов, заключили стекла в полистирол.

Альциановым синим:

Окрашивали в альциановом синем в течение 15 минут, промыли водой, далее окрасили гематоксилином в течение 5 минут, промыли водой. И также как по Ван-Гизону провели по ксилолу и батарее спиртов, заключили стекла в полистирол.



Рисунок 8 – Окрашивание срезов

**День 10 (19.05.2022)**

**Обработка биопсионного материала**

Обработка делится на несколько этапов:

1.Вырезка кусочков материала;

2.Фиксация материала в 10% формалин;

3.Заливка в парафин.

Вырезка производится в специальных вытяжных шкафах. Биопсийный материал отдельно от операционного. Берут органы, описывают их внешний вид и затем отрезают несколько маленьких кусочков с разных участков. Врач нарезает кусочки, один лаборант записывает описание материала, а другой складывает материал в кассеты и нумерует. Также учитывается количество кусочков, взятых на исследование. Все остатки материала складывают в специальный пакет с формалином и отправляют в мокрый запас (архив).

Например, берут плаценту, описывают: вес, размеры самой плаценты и её пуповины, как выражена материнская доля. Отрезают кусочки губчатой ткани, слизистой ткани и пуповины.

Далее материал кладут в пластмассовые кассеты и отправляют материал фиксироваться сначала в одну ёмкость с 10% формалином на сутки, затем в другую ёмкость с 10% формалином, но уже на несколько часов. После этого материал обезвоживают, проводя его по батарее спиртов возрастающей концентрации и производят пропитку материала в парафин. Как материал пропитается его отправляют на заливку в парафин.

**День 11 (20.05.2022)**

**Приготовление препаратов для электронно-микроскопического исследования**

Основным методом гистологического исследования клеток, тканей и органов является световая микроскопия. В световом микроскопе для освещения объекта используются лучи видимого спектра. Современные световые микроскопы позволяют получать разрешение порядка 0,2 мкм (разрешающая способность микроскопа — это то наименьшее расстояние, при котором две рядом расположенные точки видны как отдельные). Разновидности световой микроскопии — фазово-контрастная, интерференционная, поляризационная, темнопольная и др.

Для исследования препаратов в электронном микроскопе вместо предметных стекол применяются специальные пленки, незначительно поглощающие электроны. Они крепятся на опорные сетки. Материалом для приготовления пленок служат коллодий, окись алюминия и кварц. Тщательно очищенный от различных примесей и нанесенный на пленку исследуемый материал после испарения жидкости оставляет на ней тончайший слой, который и подлежит микроскопии. В электронном микроскопе можно также исследовать срезы тканей, клеток, микроорганизмов, полученные с помощью ультрамикротома. Препараты контрастируют с помощью электронно-плотных (задерживающих электроны) веществ, используя разные методы напыление тяжелых металлов, обработка фосфорно-вольфрамовой кислотой, уранилацетатом, солями осмиевой кислоты и др.

**День 12 (21.05.2022)**

**Методический день**

**Подготовка предметных стекол**

         Перед наклеиванием срезов предметные стекла должны быть подготовлены для того, чтобы в ходе дальнейшей обработки срезы не отклеивались. Не требуют специальной подготовки только предметные стекла, обработанные в заводских условиях специальными адгезивами — поли - L-лизином и аминоалкилсиланом. Такие стекла выпускаются рядом зарубежных фирм (Sigma, Dako, Shandon, [Menze](http://catalog/stekla_dlya_mikroskopii/)l и др.). О наличии адгезивного покрытия можно судить по надписи, имеющейся на упаковке предметных стекол.  Подготовка предметных стекол к работе состоит из двух этапов — очистки (обезжиривания) и нанесения адгезивного покрытия. В настоящее время российскими производителями предметные стекла, не нуждающиеся в обезжиривании, не выпускаются. На упаковках стекол импортного производства, не нуждающихся в очистке и обезжиривании.   
Очистка и обезжиривание обычных предметных стекол. Сначала предметные стекла тщательно промывают в теплой мыльной воде, прополаскивают в чистой водопроводной (а лучше дистиллированной) воде и насухо протирают неворсистой тканью (лучше льняной). Такие стекла можно завернуть в чистую бумагу и использовать по мере необходимости. Перед работой необходимое количество предметных стекол погружают в эксикатор (или банку с притертой пробкой) с жидкостью Никифорова (этанол-эфир 1:1) или 96% этанолом. В жидкости Никифорова происходит окончательное обезжиривание стекол. Если предметные стекла, поступающие в лабораторию достаточно чистые, можно ограничиться только обезжириванием их в жидкости Никифорова или этаноле.Для проверки качества очистки и обезжиривания на извлеченное из жидкости Никифорова и тщательно протертое сухой тканью предметное стекло нужно поместить каплю дистиллированной воды. Если вода растекается по поверхности стекла, то такие стекла можно использовать.

**День 13 (23.05.2022)**

**Микроскопия**

**Оценка качества приготовленных гистологических препаратов**

Качественно приготовленный гистологический препарат должен:

1. иметь толщину не более 10 мкм,
2. быть хорошо расправленными без образования складок и разрывов;
3. при невозможности получить качественный срез допускается изготовление срезов и их фрагментов различной толщины;
4. окраска срезов должна быть равномерной с четким дифференцированием различных структур;
5. срезы должны быть хорошо просветлены;
6. не допустимо загрязнение срезов инородными частицами, кристаллами красителя, а также попадание пузырьков воздуха под покровное стекло;
7. из одного объекта изготавливают 1 - 2 среза для одной методики окраски;
8. при необходимости число срезов может быть большим, вплоть до серии последовательных срезов;
9. после изготовления препаратов на предметном стекле тушью или восковым карандашом обозначают номер экспертного исследования и год изготовления гистологических препаратов.

**Интерпретация результатов исследования**

Врач–гистолог получает материал и начинает описание макроскопической картины – описание внешнего вида (цвет, плотность, видимые изменения поступившего к нему органа или кусочка ткани). Затем препарат готовится и изучается уже непосредственно под микроскопом. Изучается микроскопическая картина, которой врач-гистолог даёт описание и в конце ставит диагноз. В направлении на гистологию лечащим врачом часто указывается предварительный диагноз или диагноз под вопросом, который, собственно, может подтвердиться или нет.

**День 14 (24.05.2022)**

В этот день проводила прием, маркировку и регистрацию биоматериала, делала заливку в парафин, затем на микротоме делала парафиновые срезы. Перед окрашиванием образцы освобождала от парафина, проводя по батареи растворителей и в дистиллированную воду. Предметные стекла ставила в чашки (с друг-другом они не должны соприкасаться) с раствором красителя, затем же опять промываю в воде. После окрашивания я опять обезвоживала по батареи спиртов возрастающей концентрацией и далее просветляла в ксилоле для удаления лишней краски. В самом конце заключение срезов. Таких стекл я сделала около 8. В конце помогала лаборантам регистрировать результаты исследования. Утилизировала отработанный материал и убрала рабочее место за собой.



Рисунок 9 – Заливка в парафин и окрашивание

**День 15 (25.05.2022)**

**Автоматическое окрашивание**

С утра помогала с работой в регистратуре, я записывала направления в журналы, раскладывала по направлениям выведенные стекла, далее сходила на вырезку и помогала с фиксацией. Отмечала их в регистратуре и в ФОМС. Позже работала с микротомом, резала парафиновые блоки, снимала их с помощью препаровальной иглы и клала в водяную баню глянцевой стороной, распрямляла и далее клеила срезы на предметные стекла. После работала с автоматическим прибором для окраски.

 HMS 70 — это автоматический программируемый прибор линейного типа для проведения окраски гистологических и цитологических препаратов. Это надежный, производительный в то же время легко управляемый прибор, обеспечивающий последовательное выполнение протоколов окраски. Общая вместимость прибора до 70 стекол с препаратами. Панель управления с жидкокристаллическим дисплеем. 16 станция для реагентов. 1 станция промывки. 1 станция для сушки. Возможность хранения в памяти до 20 различных протоколов окрашивания. Каждый протокол содержит до 50 шагов. Функция автоматического перемешивания с регулировкой интенсивности. Система вентиляции на основе угольного фильтра для устранения запахов растворителей. Нет специальных требований к красителям – открытая система.

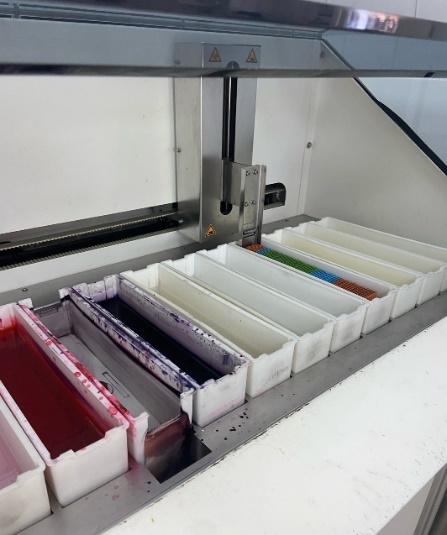
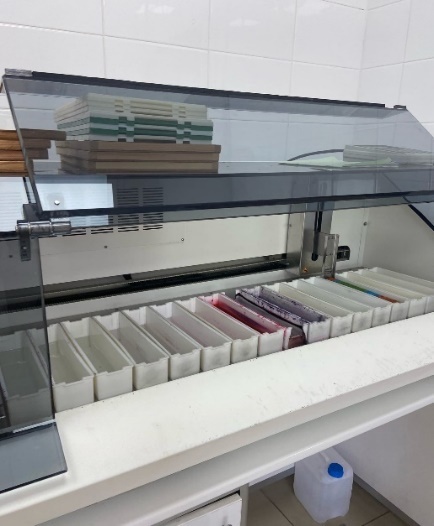


Рисунок 10 – Автоматическое окрашивание

**День 16 (26.05.2022)**

**Заливка ткани в целлоидин**

В этот день помогали нашему лаборанту в работе с приготовлением парафиновых блоков, потом нас отправили помочь в регистратуре. Потом мы сходили на вырезку и помогли с фиксацией. Самостоятельно работала на микротоме. Дальше окрасила несколько препаратов.

Заливка ткани в целлоидин

Целлоидин — хорошо растворяющаяся в эфире нитроклетчатка. В гистологической практике применяют 2 %, 4 % и 8 % растворы целлоидина, которые готовят из целлоидиновых пластин или отмытой от эмульсии и высушенной рентгеновской пленки. Для приготовления 500 мл 2 % раствора целлоидина 10 г сухого целлоидина заливают 250 мл 100 % спирта и оставляют на 1 сутки, затем добавляют 250 мл. безводного эфира, который растворяет набухший в спирте целлоидин. Для приготовления 4 % и 8 % растворов количество целлоидина увеличивают соответственно в 2 и 4 раза. Растворы хранят в плотно закрытой посуде. Заливка ткани в целлоидин стала в настоящее время менее популярной, чем парафиновая, и ее применяют главным образом для обработки труднорежущихся тканей и объектов больших размеров, с которых трудно получить хорошие парафиновые срезы. Целлоидиновую заливку используют также в тех случаях, когда необходимо избежать воздействия на исследуемый материал высоких температур. Кроме того, заливка материалов в целлоидин позволяет получить лучшие результаты при наличии в объектах больших полостей, лакун и слоев различной консистенции. Обезвоженный материал помещают в смесь 100 % спирта с эфиром (1:1) на 4—6ч, переносят в 2 % раствор целлоидина на 2—3 дня, затем в 4 % и 8 % растворы на 5—7 дней в каждый. Пропитанный кусочек заливают свежим 8 % целлоидином и уплотняют в парах хлороформа (в эксикаторе). Уплотненный таким образом материал заливают 70 % спиртом для хранения. Вырезанные блоки наклеивают густым целлоидином на деревянные колодки на 1 суток перед резкой.

**День 17 (26.05.2022)**

**Утилизация отработанного материала**

В соответствии с п. 37 приказа МЗ РФ от 6 июня 2013 г. № 354н "О порядке проведения патолого-анатомических вскрытий" медицинские отходы, образовавшиеся в результате проведения патолого-анатомического вскрытия, включая гистологические препараты и биологические материалы, утилизируются в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.7.2790-10. Согласно классификации медицинских отходов (п. 2.1 СанПиН 2.1.7.2790-10), паталого-анатомические отходы относятся к отходам класса Б. Патологоанатомические отходы класса Б (в том числе гистологические препараты), согласно п 4.18 СанПиН 2.1.7.2790-10, подлежат кремации (сжиганию) или захоронению на кладбищах в специальных могилах на специально отведенном участке кладбища в соответствии с требованиями законодательства РФ.

Отходы класса Б подлежат обязательному обеззараживанию (дезинфекции)/обезвреживанию.

Выбор метода обеззараживания/обезвреживания определяется возможностями организации, осуществляющей медицинскую и/или фармацевтическую деятельность, и выполняется при разработке схемы обращения с медицинскими отходами.

Отходы класса Б собираются в одноразовую мягкую (пакеты) или твердую (непрокалываемую) упаковку (контейнеры) желтого цвета или имеющие желтую маркировку. Выбор упаковки зависит от морфологического состава отходов. Для сбора острых отходов класса Б должны использоваться одноразовые непрокалываемые влагостойкие емкости (контейнеры). Емкость

должна иметь плотно прилегающую крышку, исключающую возможность самопроизвольного вскрытия. Для сбора органических, жидких отходов класса Б должны использоваться одноразовые непрокалываемые влагостойкие емкости с крышками (контейнеры), обеспечивающими их герметизацию и исключающими возможность самопроизвольного вскрытия. В случае применения аппаратных методов обеззараживания в организации, осуществляющей медицинскую и/или фармацевтическую деятельность, на рабочих местах допускается сбор отходов класса Б в общие емкости (контейнеры, пакеты), использованных шприцев в неразобранном виде с предварительным отделением игл (для отделения игл необходимо использовать иглосъемники, иглодеструкторы, иглоотсекатели), перчаток, перевязочного материала и так далее.

Патолога-анатомические и органические операционные отходы класса Б (органы, ткани и так далее) подлежат кремации (сжиганию) или захоронению на кладбищах в специальных могилах на специально отведенном участке кладбища в соответствии с требованиями законодательства Российской Федерации. Обеззараживание таких отходов не требуется.

Допускается перемещение необеззараженных медицинских отходов класса Б, упакованных в специальные одноразовые емкости (контейнеры), из удаленных структурных подразделений (здравпункты, кабинеты, фельдшерско-акушерские пункты) и других мест оказания медицинской помощи в медицинскую организацию для обеспечения их последующего обеззараживания/обезвреживания.



Рисунок 11 – Классы опасности

**День 18 (22.05.2022)**

**Методический день**

Изучение гистохимических методов исследования.

Длительное время для изучения химического состава клеток и тканей пользовались исключительно классическими биохимическими методами, в основе которых лежит суммарное определение химических веществ в размельченной ткани (гомогенате). Однако, несмотря на свои положительные качества, эти методы не обеспечивали полного представления о локализации тех или иных химических веществ в различных структурных компонентах клеток и тканей. Поиски методов, с помощью которых можно было бы определять локализацию химических веществ в целостных микроструктурах органов и тканей, привели к созданию гистохимического метода, объединяющего в себе гистологический и биохимический методы.  
При гистохимических реакциях неорганические и органические вещества, входящие в состав клеток, вступают в химическую реакцию с различными реактивами (красителями) и образуют окрашенные продукты реакции. По степени интенсивности этих продуктов можно до некоторой степени судить и о количественном содержании химического вещества в той или иной структуре.