**День 1.**

**Инструктаж по технике безопасности.**

Общие правила техники безопасности в гистологической лаборатории.

\* Работать только в спецодежде: халате, колпачке, маске, перчатках, сменной обуви.

\* Не покидать рабочее место во время анализа.

\* Пипетировать биологические материалы и химические реактивы только дозатором или резиновой грушей.

\* Запрещено утилизировать отработанный материал не в соответствии с классификационными группами отходов.

\* Запрещается пробовать на вкус все вещества, находящиеся в лаборатории.

\* Запрещается принимать пищу в лаборатории.

\* Запрещается курить в лаборатории.

\* После работы в лаборатории мыть руки на два раза со специальными дезинфицирующими средствами.

\* Выключать из сети все электрические приборы по окончанию работы.

\* Уметь оказывать первую медицинскую помощь.

Работать в лаборатории необходимо в халате, защищая одежду и кожу от попадания и разъедания реактивами. Каждый должен работать на закрепленном за ним рабочем месте. Переход на другое место без разрешения лаборанта не допускается. Рабочее место следует поддерживать в чистоте, не загромождать его посудой и побочными вещами.

Студентам запрещается работать в лаборатории без присутствия лаборанта, а также в неустановленное время без разрешения лаборанта.

До выполнения каждой лабораторной работы можно приступить только после получения инструктажа по технике безопасности и разрешения старшего лаборанта и заведующей лабораторией. Приступая к работе, необходимо: осознать методику работы, правила ее безопасного выполнения; проверить соответствие взятых веществ тем веществам, которые указаны в методике работы. Опыт необходимо проводить в точном соответствии с его описанием в методических указаниях, особенно придерживаться очередности добавления реактивов.

Для выполнения опыта пользоваться только чистой, сухой лабораторной посудой; для отмеривания каждого реактива нужно иметь мерную посуду (пипетки, бюретки, мензурку, мерный цилиндр или мерный стакан); не следует выливать избыток налитого в пробирку реактива обратно в емкость, чтобы не испортить реактив.

Пролитые на пол и стол биологические и химические вещества обезвреживают и убирают под руководством лаборанта в соответствии с правилами.

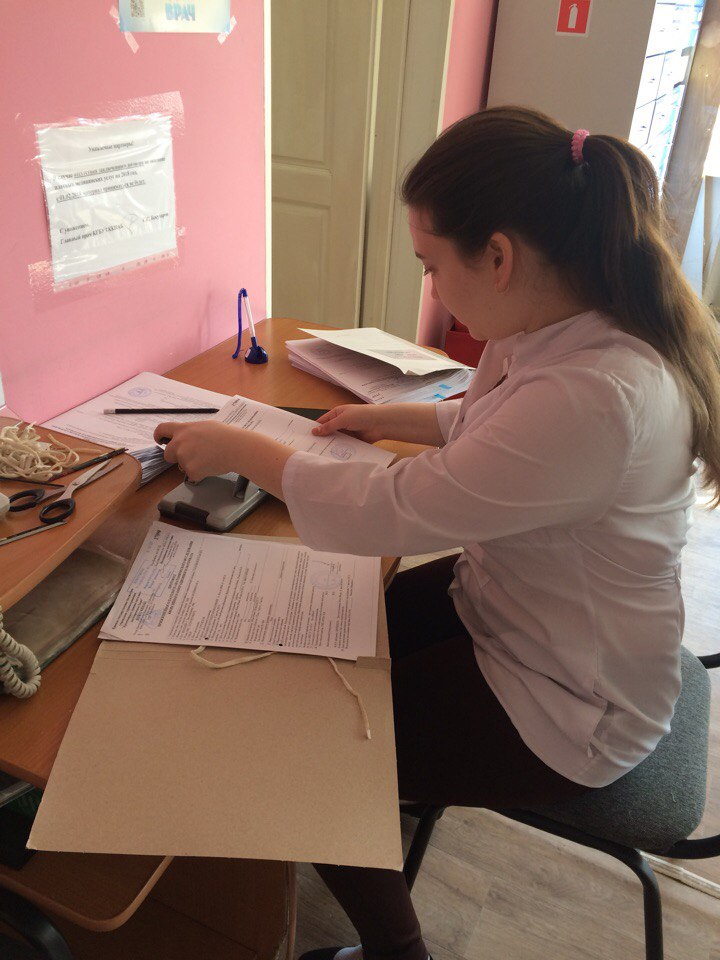
При работе в лаборатории следует соблюдать следующие требования: выполнять работу нужно аккуратно, добросовестно, внимательно, экономно, быть наблюдательным, рационально и правильно использовать время, отведенное для работы.

По окончании работы следует привести в порядок свое рабочее место: помыть посуду, протереть поверхность рабочего лабораторного стола, закрыть водопроводные краны, выключить электрические приборы.

**День 2.**

**Архивирование материала**

Во второй день я перебирала и прошивала направления прошедших месяцев. Архивные материалы, срок хранения которых истек, подлежат захоронению.



**День 3.**

**Взятие материала**

Материалом для гистологического исследования могут служить кусочки органов экспериментальных животных, материал, полученный путем прижизненного иссечения у человека кусочков тканей(биопсии), трупный материал, мазки жидких исследуемых материалов(крови, костного мозга).Хороший гистологический препарат должен отвечать таким требованиям:

- исследуемая ткань должна в максимальной степени сохранить свое прижизненное строение,

- срез должен быть тонким и прозрачным, чтобы через него проходил свет,

- изучаемые микроструктуры должны быть хорошо видны.

Для этого нужно обеспечить:

- своевременное взятие и надлежащую фиксацию исследуемого материала,

- качественное приготовление и обработку срезов,

- соответствующую окраску изучаемого препарата.

При микроскопическом исследовании тканей и органов большое значение имеет техника взятия материала. Поэтому при иссечении кусочков необходимо соблюдать следующие правила:

1. Объекты, подлежащие исследованию, должны быть свежими. Этому условию больше всего удовлетворяет материал, направленный прямо из операционной. Хуже обстоит дело с исследованием кусочков, взятых при вскрытии трупов, где приходится сталкиваться с посмертными изменениями.

2. Иссекая кусочки, нужно учитывать микроскопическое строение того или иного органа или ткани.

3. Объекты из патологических и измененных тканей (опухоли, язвы) вырезают на границе с нормальными частями таким образом, чтобы были захвачены нормальные и измененные участки. При распространенном патологическом процессе рекомендуется брать несколько кусочков: одни из наиболее пораженных отделов, другие - по границе с нормальной тканью.

4. Иссечение необходимо производить острыми инструментами, чтобы не травмировать ткани.

5. Недопустимо никакое сдавливание кусочков, а также очистка поверхности органа (например: слизистой оболочки, серозного покрова) пальцами, инструментами, тряпками.

6. Кусочки переносят в фиксирующую жидкость на лезвии ножа или пользуются анатомическими пинцета.

**Фиксация гистологического материала**

После взятия гистологического материала, помещаем кусочек материала в 10% формалин для фиксации на 30-90 минут.

**Требования к фиксации:**

1. После вырезки кусочка ткани его немедленно погружают в фиксатор.

2. Объем фиксатора должен превышать объем фиксируемого материала в 10—20 раз, так как тканевая жидкость может существенно изменить концентрацию фиксатора.

3. В том случае, если цвет фиксатора изменяется после погружения в него кусочков ткани, фиксатор необходимо немедленно сменить.

4. Недопустимо повторное использование фиксаторов.

5. Для каждого фиксатора следует соблюдать установленное время фиксации. Длительное пребывание материала возможно лишь в некоторых фиксаторах, например 10 % нейтральном формалине, жидкости Боуэна.

Для фиксации лучше использовать емкости с широким горлом, чтобы не возникло проблем с извлечением фиксированного материала. Равномерность фиксации некоторых рыхлых тканей, например легочной, достигается

помещением их на дно банки, а поверх них — прокладки из слоя марли или ваты.

Чаще материал фиксируют при комнатной температуре, но для некоторых видов исследования (гистохимических, электронно-микроскопических и др.) необходимо проводить фиксацию при 4°С.

**Заливка в парафин**

При заливке кусочки предварительно пропитываем теми жидкостями, которые служат растворителями для парафина (ксилол или толуол).

При заливке в парафин кусочки из абсолютного спирта переносим в смесь абсолютного спирта с хлороформом или ксилолом, взятых поровну, затем чистый ксилол и, наконец, в расплавленный насыщенный раствор парафина в хлороформе, где они находятся в термостате при температуре 37º до 1 суток и более. Дальнейшая заливка проводится в термостате при температуре 54º -56º в трех порциях парафина. Окончательная заливка проводится в парафин с добавлением воска, который наливаем в специальные коробочки, а затем эти коробочки после появления на поверхности парафина пленки, погружают в воду.

Происходит полное затвердение парафина. Кусочки с окружающим их парафином извлекают из коробочек и с помощью расплавленного парафина, наклеиваем на деревянные кубики, получаем парафиновые блоки.



**День 4.**

Ходила вместе с врачом патологоанатомом на вскрытие.

Вскры́тие (аутопси́я, некропси́я, се́кция) (лат. Sectio – разрезание) — патолого-анатомическая или судебно-медицинская процедура, посмертное вскрытие и исследование тела, в том числе внутренних органов. Обычно производится для того, чтобы установить причину смерти. Вскрытие — разговорный термин. В официальной речи и документации обычно используется термин «патологоанатомическое исследование» или «судебно-медицинская экспертиза трупа».

Также ходила на вырезку с лаборантом.



**День 5.**

**Архивирование материала**

В пятый день я перебирала и прошивала направления прошедших месяцев. Архивные материалы, срок хранения которых истек, подлежат захоронению.

**День 6,7**

**Снятие парафиновых блоков.**

Проводила снятие парафиновых боков. Скальпелем срезают образец, залитый в парафин с деревянного бруска. Образцы заворачиваются в бумагу и пишется его номер. Уносится в сухой архив.

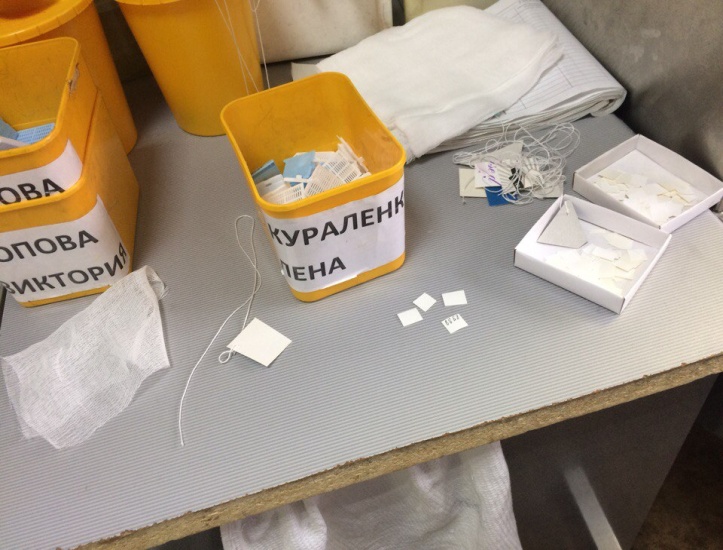


**День 8,9.**

**Вырезка и дорезка материала.**

Ходила с лаборантом на вырезку, видела внематочную беременность с эмбрионом. Писала номера пациентов на бумажке и ложила их в кассеты с кусочками.

Также была на дорезке, которая была произведена врачом, т.к была допущена ошибка в исследовании.





**День 10,11.**

**Приготовление парафиновых срезов.**

Блок фиксируют в объектодержателе так, чтобы длинная ось блока располагалась вдоль длинной оси микротома, 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.

Парафиновые блоки режут прямым ножом. При резке парафиновых блоков нож устанавливают перпендикулярно оси микротома или слегка под углом. И 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 диаметром 7-10 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.

**Окрашивание гистологических срезов.**

**Основные красители:**

В этой группе наибольшее значение имеют красители, приготовленные из гематоксилина.

Гематоксилин- является экстрактом кампешевого дерева, имеет вид бурого кристаллического порошка, хорошо растворимого в спирте и плохо в воде. Существует много способов приготовления гематоксилина, но суть их одна – его окисление.

Красящим веществом является не сам гематоксилин, а продукт его окисления – гематеин (C16H1406).

Гематоксилин Караци состав:

1. Вода дистиллированная – 400мл

2. Квасцы алюмо-калиевые – 25 г

3. Гематоксилин кристаллический – 0,5 г

4. Глицерин – 100 мл

5. Йодноватокислый калий – 0,03 г

Смесь готовят при комнатной температуре. Красящий раствор обладает большой устойчивостью, сохраняется около 10 лет; в первые недели после приготовления можно не фильтровать. Для предупреждения плесени в краску добавляют несколько кристалликов тимола.

Все гематоксилиновые красители окрашивают ядра в темно-синий (квасцевые) или черный (железный гематоксилин) цвет.

Кислые красители:

Из диффузных красок постоянное применение имеют эозин, кислый фуксин и пикриновая кислота.

Эозин – синтетический краситель, тетерабрампроизводное флуоресцина.

Выделяется в виде натриевой, калиевой или аммониевой соли. Различают много сортов эозина, из них наибольшее распространение имеют: эозин желтый (растворимый вводе), голубоватый (растворимый в спирте), эритрозин (растворимый только в

или спиртовых растворах. Для приготовления спиртовых растворов можно пользоваться любыми сортами эозина и брать спирт различной крепости (от 40° до 70°); они окрашивают сильнее водных. Растворы эозина розового цвета, в такой же цвет они окрашивают и ткани. Сроки окрашивания весьма различны (от 5-10 секунд до 3-5 минут) и зависят от сорта, способа приготовления и процентного содержания красителя.

Все краски для гистологических работ готовят обязательно на дистиллированной воде.

