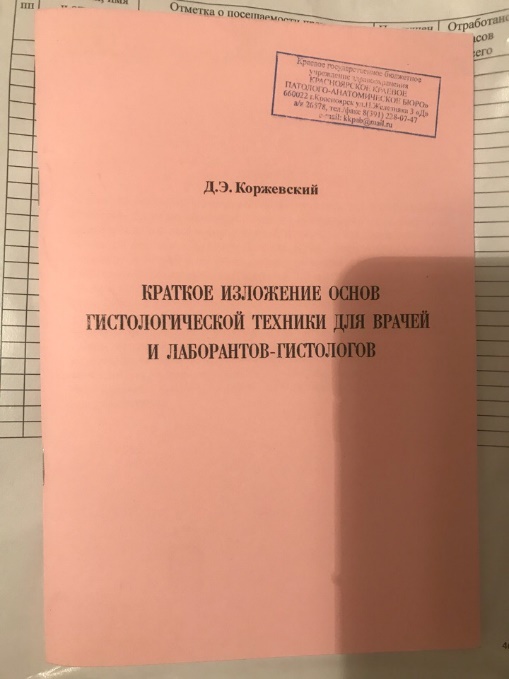
День 1

В первый день практики, я ознакомилась с техникой безопасности при работе в патогистологической лаборатории.

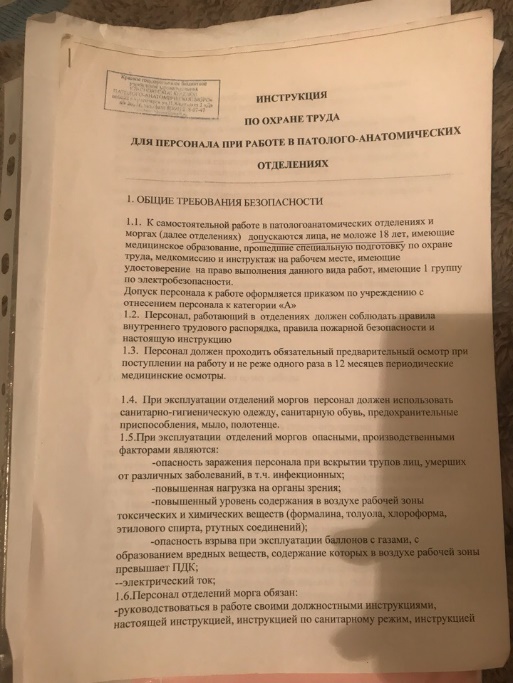
К работе в патологоанатомической и патогистологической лаборатории допускаются врачи, средний и младший медицинский персонал в возрасте не моложе 18 лет, прошедшие специальную подготовку по охране труда, в том числе на II квалификационную группу по электробезопасности, и не имеющие противопоказаний по состоянию здоровья.

Каждый, вновь принятый на работу в лабораторию должен пройти первичный инструктаж по охране труда на рабочем месте. Повторный инструктаж должен проводиться не реже одного раза в 6 месяцев с регистрацией в журнале инструктажа на рабочем месте.

В процессе работы персонал лаборатории обязан:

* соблюдать требования охраны труда;
* правильно применять средства индивидуальной и коллективной выполнять правила личной гигиены;
* проходить обучение безопасным методам и приемам выполнения работ, инструктаж по охране труда, стажировку на рабочем месте и проверку знаний требований охраны труда;
* проходить периодические медицинские осмотры (обследования);
* соблюдать правила пожарной безопасности, знать места расположения средств пожаротушения;
* владеть навыками оказания первой медицинской помощи при ожогах, отравлениях, поражении электрическим током и других травмах, знать местонахождение аптечки первой помощи, средств нейтрализации химических веществ.

Требования безопасности перед началом работы:

* Перед началом работы во всех помещениях включается вентиляция.
* Персонал лаборатории должен надеть санитарную одежду, сменить обувь, приготовить средства индивидуальной защиты.
* Персонал отделения должен проверить готовность к работе оборудования, приборов. Персонал отделения должен проверить исправность систем вентиляции, водоснабжения, канализации и электроосвещения, о замеченных неисправностях сообщить заведующему подразделением и принять меры к осуществлению ремонтных работ.
* Для персонала отделения рядом с умывальниками должно находиться мыло и щетка для мытья рук, полотенце (злектрополотенце). Тканевое полотенце заменяется ежедневно. 

Требования безопасности во время работы:

* Вырезка биопсийного и секционного материала должна производиться в специальной комнате, оборудованной вытяжным шкафом, либо при отсутствии таковой в предсекционной. Для вырезки должен иметься специальный стол с покрытием из нержавеющей стали, мрамора или толстого стекла и специальный набор инструментов, предназначенных только для этих целей.
* Фиксация материала должна производиться в вытяжном шкафу, а хранение его в специальной фиксационной комнате, оборудованной приточно — вытяжной вентиляцией. Оставшийся после вырезки материал в качестве архива должен храниться в 10-процентном растворе формалина в хорошо закрытой маркированной посуде.

Требования безопасности во время работы:

* Вырезка биопсийного и секционного материала должна производиться в специальной комнате, оборудованной вытяжным шкафом, либо при отсутствии таковой в предсекционной. Для вырезки должен иметься специальный стол с покрытием из нержавеющей стали, мрамора или толстого стекла и специальный набор инструментов, предназначенных только для этих целей.
* Фиксация материала должна производиться в вытяжном шкафу, а хранение его в специальной фиксационной комнате, оборудованной приточно — вытяжной вентиляцией. Оставшийся после вырезки материал в качестве архива должен храниться в 10-процентном растворе формалина в хорошо закрытой маркированной посуде.

Архивные материалы, срок хранения которых истек, подлежат захоронению.

* Работу с токсическими веществами следует проводить в резиновых перчатках, защитных очках, при необходимости в противогазе. Наполнение сосудов ядовитыми веществами, концентрированными
* кислотами и щелочами следует проводить сифоном или специальными пипетками с резиновой грушей
* Ключи и пломбир от этого помещения должны храниться у лица, ответственного за хранение и выдачу ядовитых веществ.
* Расфасовка, измельчение, отвешивание и отмеривание токсических веществ производится в вытяжных шкафах в специально выделенных для этой цели приборах и посуде. Мытье и обработка посуды, которая использовалась в работе с ядовитыми веществами, должны производиться отдельно от другой посуды.
* Разливка формалина, крепких кислот и приготовление растворов из них должны производиться в вытяжном шкафу.
* Летучие вещества должны храниться в банках, закрытых притертыми пробками, и открываться лишь в момент непосредственного использования в работе.
* Кислоты должны храниться в стеклянной посуде с притертыми пробками на нижних полках шкафов, отдельно от других реактивов и красок.
* При разбавлении концентрированных кислот, во избежание разбрызгивания, следует кислоту вливать в воду, а не наоборот.
* После работы с микротомом нож необходимо сразу же вынимать из микротома и помещать его в футляр для постоянного хранения. Оставлять нож в микротоме или переносить его без футляра по лаборатории запрещается.
* Нагревательные приборы должны находиться в отдалении от взрывоопасных и горючих веществ, на подставках из огнеупорного материала.

День 2-4

В эти дни практики, я провела в кабинете взятия материала.

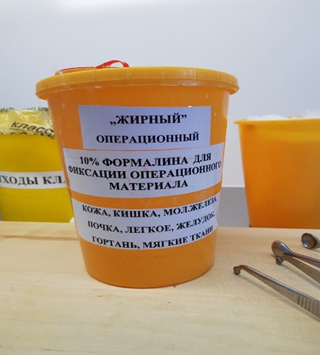
Материалом для гистологического исследования могут служить кусочки органов экспериментальных животных, материал, полученный путем прижизненного иссечения у человека кусочков тканей(биопсии), трупный материал, мазки жидких исследуемых материалов(крови, костного мозга). Хороший гистологический препарат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

Например: кусочки из почки и надпочечника вырезают с таким расчетом, чтобы в них попали корковое, и мозговое вещество, для чего разрезы ведут перпендикулярно к поверхности указанных органов. Из органов, имеющих во всех своих частях одинаковое строение (печень, селезенка, щитовидная железа и др.) Объекты можно иссекать как угодно, но желательно захватывать с капсулой. Стенки полых органов (мочевой пузырь, кишечник и др.) Исследуют на поперечных сечениях.

1. [](https://vk.com/photo305070933_456240643)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
2. Из наиболее пораженных отделов, другие - по границе с нормальной тканью.
3. Иссечение необходимо производить острыми инструментами, чтобы не травмировать ткани.
4. Недопустимо никакое сдавливание кусочков, а также очистка поверхности органа (например: слизистой оболочки, серозного покрова) пальцами, инструментами, тряпками.
5. Кусочки переносят в фиксирующую жидкость на лезвии ножа или пользуются анатомическими пинцетами.

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, электронных)

Необходимо проводить фиксацию при 4°С. Материал срочных биопсий фиксируют при повышенной температуре фиксатора.

Промывка в воде.

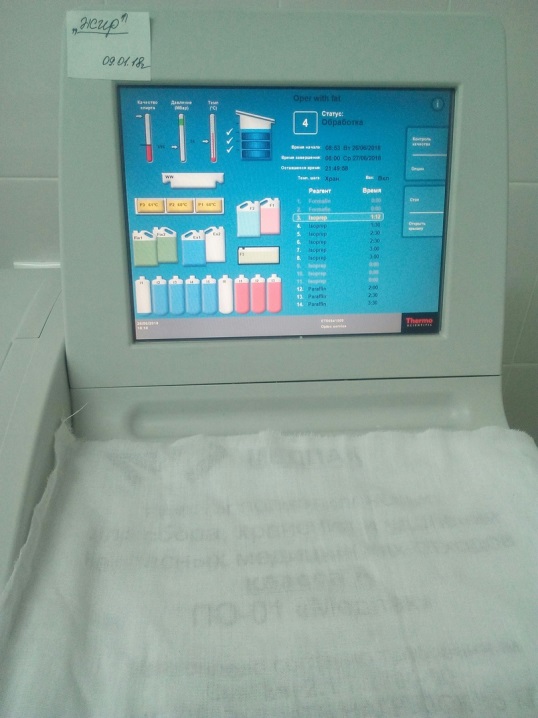
После фиксации материал промывают (чаще всего в течение нескольких часов в проточной воде) с тем, чтобы избавить его от избытка фиксатора и различных осадков фиксирующих жидкостей.

[](https://vk.com/photo268675531_456243674)

Обезвоживание.

Обезвоживание ткани производятся постепенно (чтобы не произошло сморщивания) путем проведения ее через спирты возрастающей крепости: 50º, 60º, 70º, 80º, 90º, 96º, 100º. В каждом спирте кусочки находятся от нескольких часов до 1 суток в зависимости от величины кусочка.

[](https://vk.com/photo268675531_456243670)Мы работали на автоматическом оборудовании Excelsior AS. В него уже встроены бутыли со спиртами возрастающей концентрации, помещаем кусочек и прибор сам перемещает его по спиртам

[](https://vk.com/photo268675531_456243671)

День 5-8

В эти дни практики, я провела в станции заливки биоматериала в парафин.

Станция заливки в парафин histostar обеспечивает быстрое изготовление высококачественных парафиновых блоков, что в свою очередь облегчает изготовление качественного информативного среза, свободного от артефактов.

#### Станция для заливки состоит из двух модулей:

#### Модуль для заливки:

* Парафиновый бак на 5л;
* Диспенсер парафина с регулировкой скорости подачи;
* Подогреваемые рабочие поверхности;
* Подогреваемые ячейки для пинцетов;
* Охлаждаемая площадка;
* Подогреваемый лоток для кассет, вмещающий не менее 6ти корзин автомата для проводки Exelsior;
* Подогреваемая полка для заливочных форм;
* Светодиодная подсветка с регулировкой яркости;
* Устройство для удаления с кассеты излишков парафина
* Окружающая рабочую зону не нагреваемая поверхность служит удобной опорой для рук

#### Модуль охлаждения парафиновых блоков:

* Охлаждение до -12°C;
* Большая охлаждающая плата позволяет размещать большое количество образцов
* Станция для заливки в парафин histostar оснащена функцией "программируемые рабочие часы", включая автоматический старт. Температура всех поверхностей независимо регулируется, программируется по времени; информация о параметрах прибора отражается на сенсорном жидкокристаллическом дисплее.

#### Дополнительные принадлежности:

* Пинцеты с электрическим подогревом для ориентации кусочков при заливке блоков, с возможностью работы как правой, так и левой рукой; Широкопольный увеличитель;
* Педаль дозирования парафина;
* Заливочные формы для формирования блока разных размеров.

Ход работы:

Пропитанные парафином кусочки ткани аккуратно, с помощью пинцета, выкладывают в специ­альные металлические формочки на дно и заливают расплавленным парафином. Парафин начинает застывать и сверху на блок выкладывается номерок этого кусочка, который был прикреплен ранее. Затем вытаскиваем парафиновые блоки из металлических формочек и расставляем согласно нумерации.

День 9-11

В эти дни практики, я готовила парафиновые срезы.

Приготовление парафиновых срезов на микротоме НМ 325

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.

День 12-13

В эти дни практики я окрашивала гистологические срезы.

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, тетерабрампроизводноефлуоресцина.

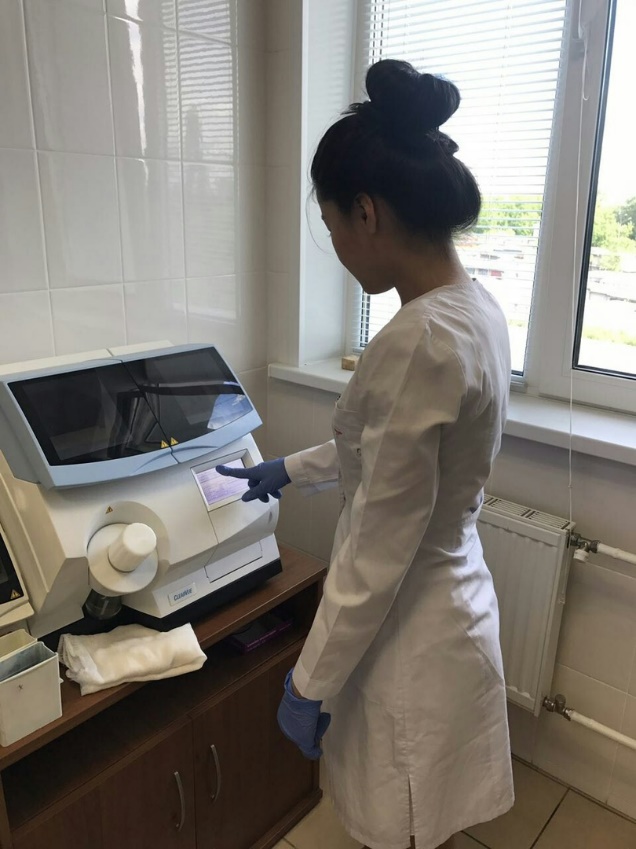
Выделяется в виде натриевой, калиевой или аммониевой соли. Различают много сортов эозина, из них наибольшее распространение имеют: эозин желтый (растворимый вводе), голубоватый (растворимый в спирте), эритрозин (растворимый только в спирте). Употребляются эозины в 0,25-

0,5% водных 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.

Varistain Gemini - это высокопроизводительный мультистейнер для цитологического и гистологического окрашивания стекол. Двухуровневая организация прибора обеспечивает оптимально компактное расположение на рабочем столе.

Окрашивание срезов обычно требует предварительной подготовки. Для парафиновых срезов такой подготовкой является удаление парафина – депарафинирование.

Автомат для заключения препаратов под покровные стекла ClearVue – это высокопроизводительный прибор для заключения гистологических и цитологических препаратов под покровные стекла

День 14-16

В этот день практики, я провела в кб. для срочных гистологических исследований.

Материал приходит в лабораторию из специальной трубы в контейнере, после лаборант его открывает и ставит в вытяжной шкаф и уже врач вырезает нужный кусок для дальнейшего исследования. На картине доля лёгкого с лимфоузлами.



Далее замораживаем биопсионный материал и делаем гистологический срез на микротоме Cryosta, ход работы такой же как на микротоме НМ 325, только без водяной бани.



Покрасочная батарея срочных гистологических исследований.

1. Опускаем в формалин 10% (фиксирует)
2. Спирт этиловый 96% (обезвоживает)
3. Гематоксилин-эозин (окрашивает ядра)
4. Вода проточная (смываем)
5. Вода проточная с 10 к. нашатырного спирта
6. Вода проточная
7. Гематоксилин-эозин (окрашиваем цитоплазму)
8. Этиловый спирт (смываем)
9. Карбоксилол (просветление)
10. 2 ксилол
11. Капаем полистирол и накрываем покровным стеклом, препарат готов

[](https://vk.com/photo268675531_456243679)