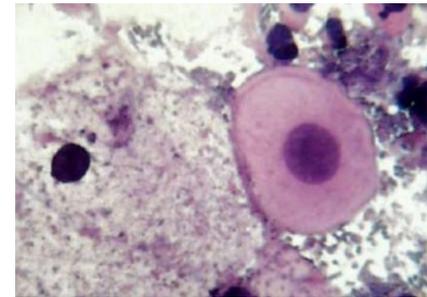
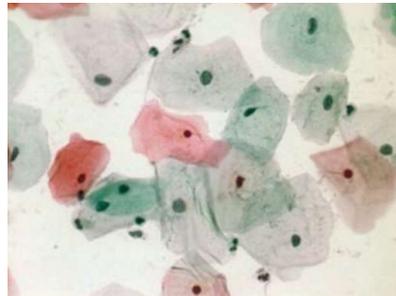
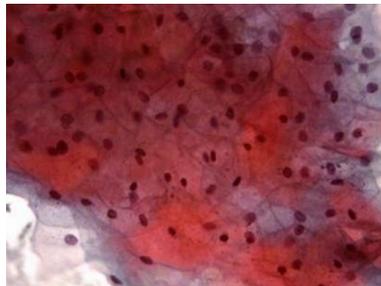


Лекция 12

Тема: Распространенные методы окраски цитологических препаратов.



- Наиболее распространенными и чаще применяемыми являются красители, используемые для гематологических исследований. Это краски Романовского-Гимза, Лейшмана, Май-Грюнвальд.

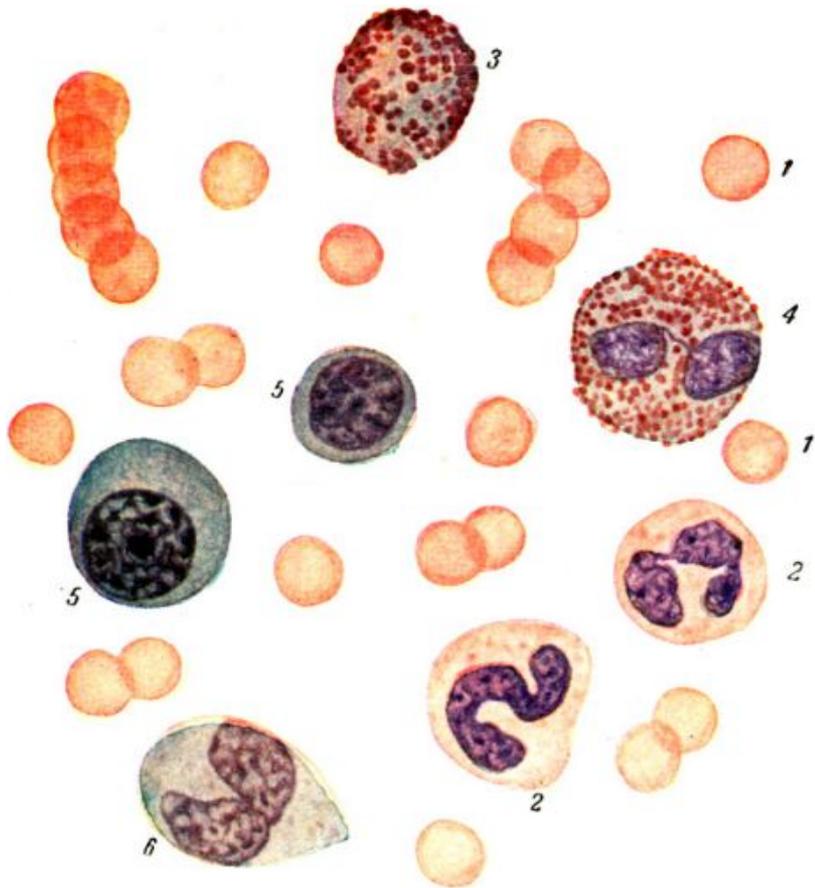
Качество окраски клеточных элементов зависит от:

- вида и состава красителя;
- его концентрации;
- продолжительности окраски;
- возраста окрашиваемого препарата (препараты от 6 ч до неск. дней давности теряют мелкие структурные особенности);
- рН среды (6.8 – 7.2).

ОКРАСКА ПО РОМАНОВСКОМУ-ГИМЗЕ

- Сухие мазки фиксируют в метиловом спирте (5 мин) или в смеси Никифорова (15 мин);
- Погружают в рабочий раствор (1:4) готовой краски Романовского-Гимза на 5-7 мин;
- Промывают дистиллированной водой, высушивают, исследуют при иммерсии.

Результат: Бактерии вследствие окрашивания приобретают фиолетово-красный оттенок, цитоплазма клеток — голубой цвет, ядра — красный. Вследствие окраски простейших их цитоплазма становится голубого цвета, а ядра — красно-фиолетового.



- 1 - эритроциты;
- 2 - нейтрофильные лейкоциты;
- 3 - базофильный лейкоцит;
- 4 - эозинофильный лейкоцит;
- 5 - лимфоцит;
- 6 – моноцит.

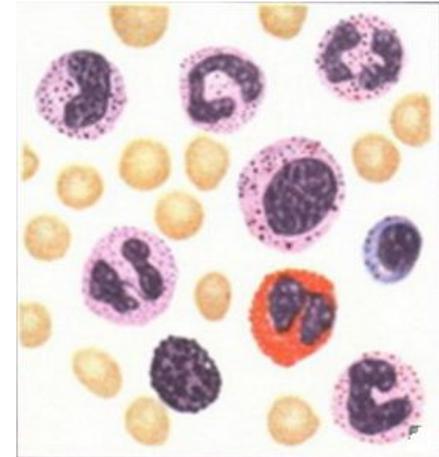
Кровь человека (мазок)
Окраска: по Романовскому-Гимзе

ОКРАСКА МАЗКОВ ПО ЛЕЙШМАНУ

▪ **Приготовление краски Лейшмана:** 2,5 г сухого красителя на 1 л метилового спирта. Созревает 3-4 дня. Готовый раствор фильтруют.

▪ **Методика окраски:**

- ✓ высушенные мазок опускают в краску Лейшмана на 3 мин.;
- ✓ промывают водой;
- ✓ заливают красителем, состоящим из 40 мл азура, 30 мл эозина, 70 мл дистил. воды (*краску готовят перед работой!*).
Окрашивают мазки 30-40 мин.;
- ✓ промывают водой и высушивают.



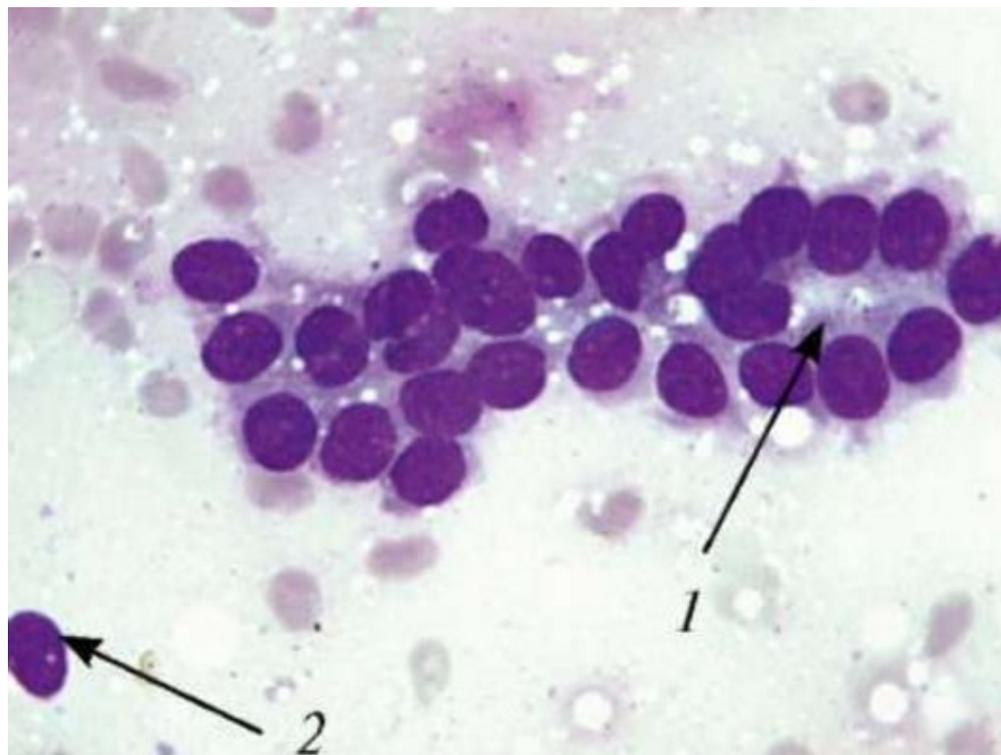
ОКРАСКА МАЗКОВ ПО ПАППЕНГЕЙМУ

■Красители:

1. Фиксатор Май-Грюнвальда: 250 мг порошка + 100 мл метилового спирта. Раствор греют (70°) на водяной бане, фильтруют и хранят в бутылке.
2. Рабочий р-р готовой краски Романовского-Гимза (1 мл краски+4 мл дистил.воды).

■Ход окрашивания:

1. На мазок наливают краску-фиксатор Май-Грюнвальда на 3 мин.;
2. Не сливая краски добавляют тоже количество дистил.воды;
3. Через 1 мин краску сливают и сразу добавляют краску Романовского-гимза на 5-15 мин.;
4. Промывают дистил.водой и высушивают.



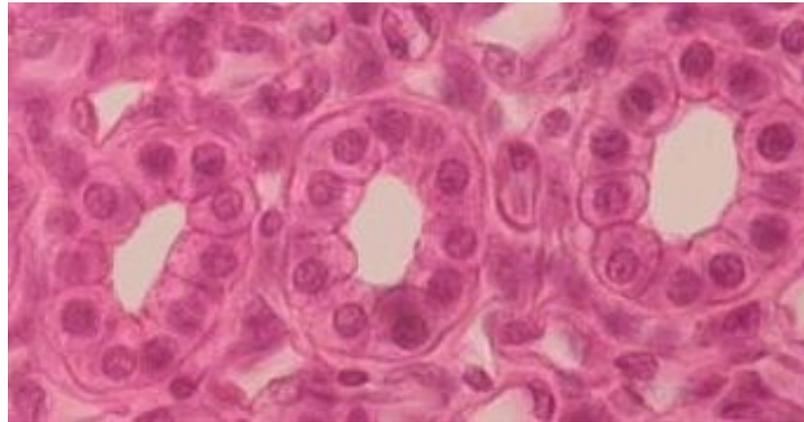
**Пунктат молочной железы. Фиброзно-кистозная болезнь
Структуры из клеток при доброкачественных состояниях.**

Структура в виде вытянутой трубочки, состоящей из двух рядов клеток, с эксцентрическим расположением ядер и просветом в центре (1). «Голое» ядро разрушенной клетки (2).

Окрашивание по Паппенгейму

Окраска гематоксилин-эозином

Сочетает в себе основной и кислый красители (ядра приобретают сине-фиолетовый цвет, цитоплазма – желтовато-розовый).



ВИДЫ ГЕМАТОКСИЛИНОВЫХ КРАСИТЕЛЕЙ

- Гематоксилин сам по себе не является красящим веществом.
- Для приготовления краски, гематоксилин подвергают *окислению*. В результате он превращается в красящее вещество – *гематеин* (сине-фиолетовый краситель).

Кислый гематоксилин Эрлиха

2 г гематоксилина + 100 мл 96° спирта + 100 мл дистил.воды + 100 мл глицерина + 3 г калийных квасцов + 10 мл ледяной уксусной кислоты.

Краситель «созревает» 14 дней. Продолжительность окрашивания 4-6 мин.

Кислый гематоксилин Майера

Состав: гематоксилин

алюмокалиевые квасцы

йодноватокислый калий

стабилизаторы

консервант

дистиллированная вода

Продолжительность окрашивания 5-10 мин.

Кислый гематоксилин Карацци

400 мл воды + 100 мл глицерина + 0,5 г гематоксилина + 25 г алюмокалиевых квасцов + 0,03 г K_2O_3 . Созревание 1 нед.
Продолжительность окраски препаратов 1-2 часа.

Приготовление эозина

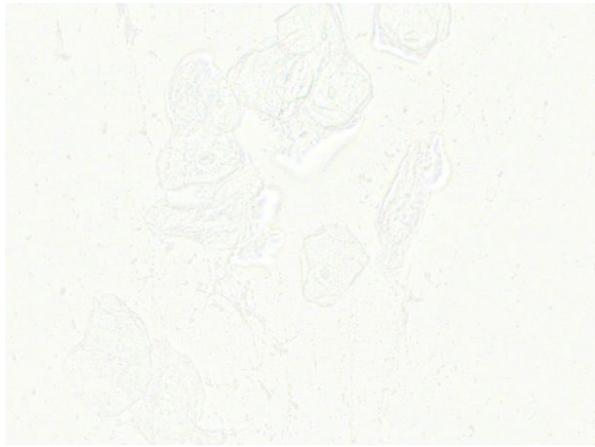
0,1 г эозина растворяют в 100 мл дистиллированной воды

Методика окраски гематоксилин-эозином:

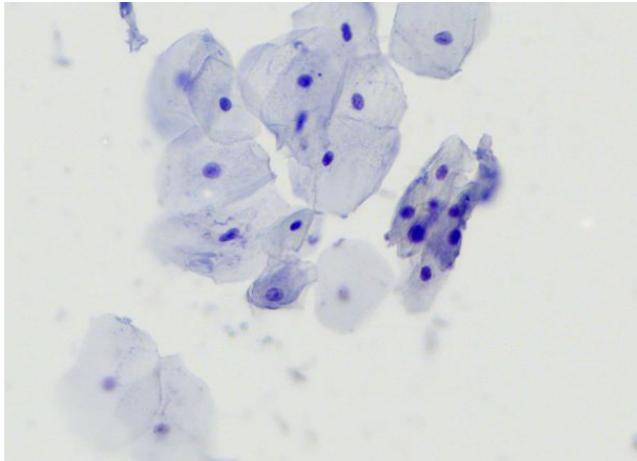
- высушенные мазки фиксируют в смеси Никифорова (10-15 мин);
- окрашивают раствором гематоксилина (7-10 мин);
- промывают в проточной воде 1-2 мин;
- окрашивают 1% водным раствором эозина (1 мин);
- промывают в проточной воде 1-2 мин и высушивают.

Эмпирический метод выбора продолжительности окраски мазка гематоксилином:

- Ядра окрашены в светло-фиолетовый цвет без четкого различия структур – **препарат недокрашен**. *Необходимо увеличить время окраски.*
- Ядра темно-фиолетовые, цитоплазма тоже окрашена – **препарат перекрашен**. *После промывания в дистил. воде на неск. секунд помещают в 70% спирт и под контролем микроскопа следят за ослаблением окраски.*
- Ядра красно-фиолетовые с четко выраженным ядрышком и хроматином, цитоплазма практически не окрашена – **окраска нормальная**.



Микрофотография исходного (фиксированного и высушенного) препарата.

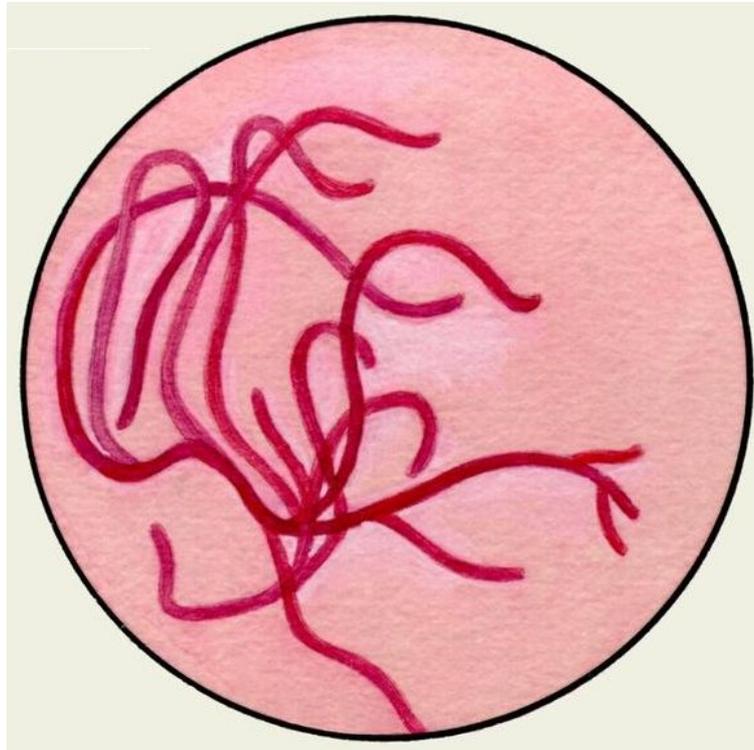


Окраска гематоксилином.

Цвет окраски ядер близок к фиолетовому; цитоплазма – слабо окрашена в голубой цвет; фон препарата приобретает серовато-голубой цвет.

Эмпирический метод выбора продолжительности окраски мазка эозином:

- Цитоплазма едва розовая – препарат недокрашен. Для усиления красящих свойств эозина его подкисляют уксусной кислотой (1 капля 3% уксусной кислоты на 100 мл эозина);
- Фон красного цвета, микроструктуры видны нечетко – препарат перекрашен. Лишняя окраска удаляется промыванием.
- Фон умеренно розовато-желтого цвета – окраска удачная.

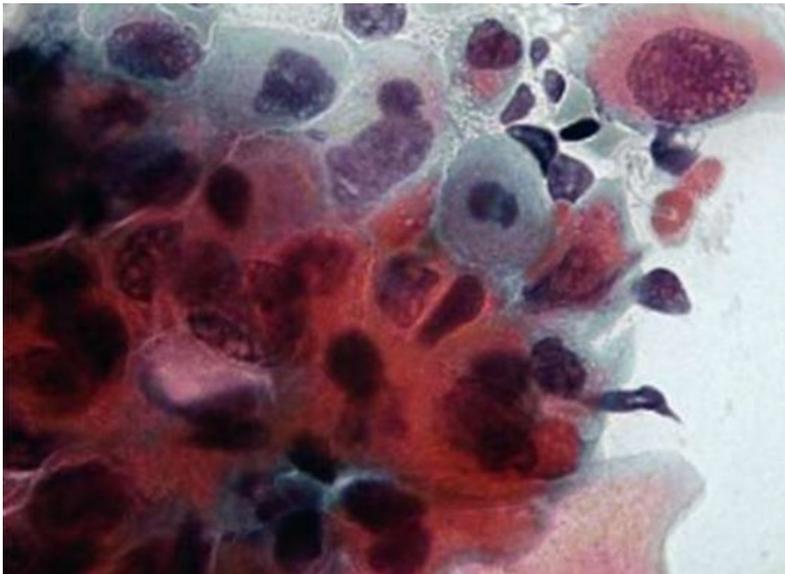
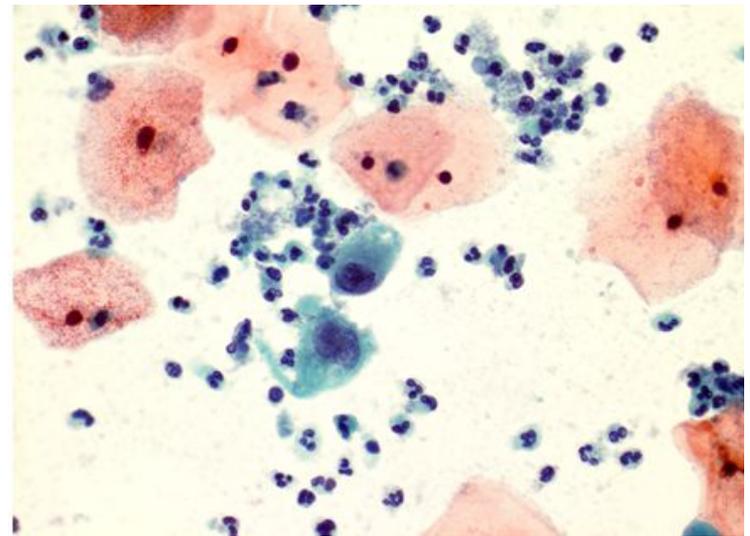
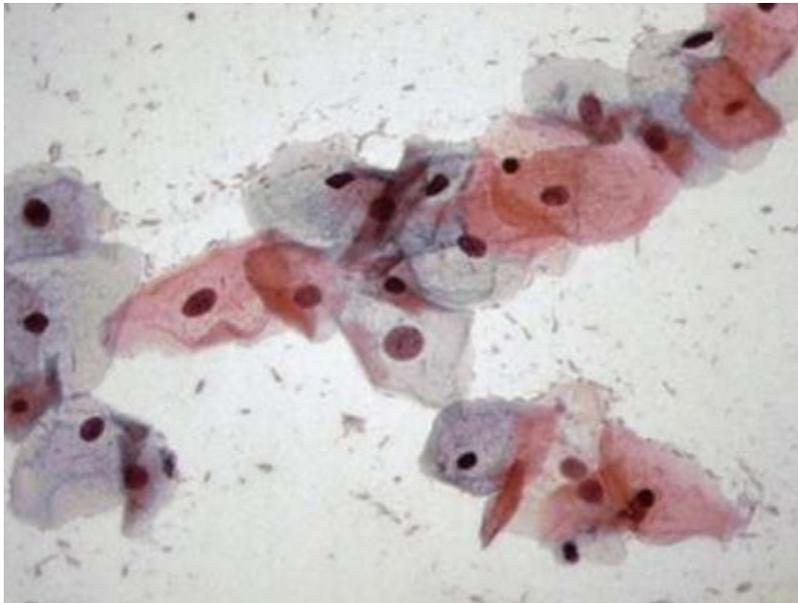


Микропрепарат мокроты.
Эластические волокна в виде тонких
розовых нитей; **окраска эозином.**

ОКРАСКА ПО ПАПАНИКОЛАУ

- ✓ является мировым стандартом в скрининге рака шейки матки, используется для выявления предраковых заболеваний.

Мазок из шейки матки. Норма.



Мазок из шейки матки. Рак.

Клетки плоского эпителия среднего и мелкого размера; ядра разные по размерам, неправильной формы; хроматин распределен неравномерно. Окрашивание по Папаниколау.

МЕТОД ЖИДКОСТНОЙ ЦИТОЛОГИИ

- ✓ Для жидкостной цитологии на анализ берут соскоб с шейки матки и цервикального канала.
- ✓ Полученный материал врач помещает в специальный контейнер, заполненный стабилизирующей жидкостью-консервантом. Именно поэтому метод и называется жидкостной цитологией.
- ✓ Контейнер с биологическим материалом помещают в специальный аппарат, где в автоматическом режиме происходит выделение клеток в образец и помещение его на предметное стекло с последующим **окрашиванием по Папаниколау**.