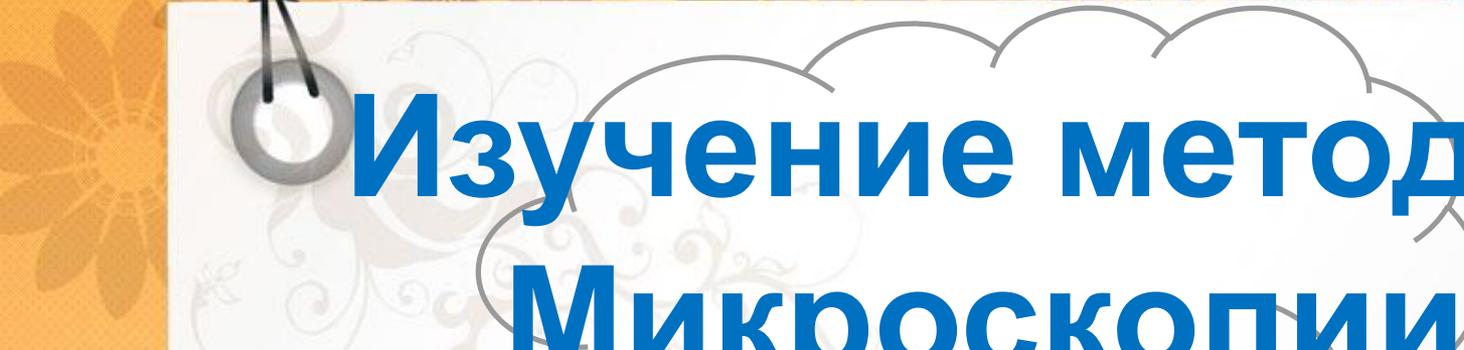




**Изучение методов  
Микроскопии,  
техника  
микроскопии**



# ИСТОРИЯ

**С**егодня трудно представить себе научную деятельность человека без микроскопа. Микроскоп широко применяется в большинстве лабораторий медицины и биологии, геологии и материаловедения. Полученные с помощью микроскопа результаты необходимы при постановке точного диагноза, при контроле над ходом лечения. С использованием микроскопа происходит разработка и внедрение новых препаратов, делаются научные открытия.



# ИСТОРИЯ



**Микроскоп** - (от греческого **mikros** - малый и **skopeo** - смотрю), оптический прибор для получения увеличенного изображения мелких объектов и их деталей, не видимых невооруженным глазом.

Глаз человека способен различать детали объекта, отстоящие друг от друга не менее чем на 0,08 мм. С помощью светового микроскопа можно видеть детали, расстояние между которыми составляет до 0,2 мкм.

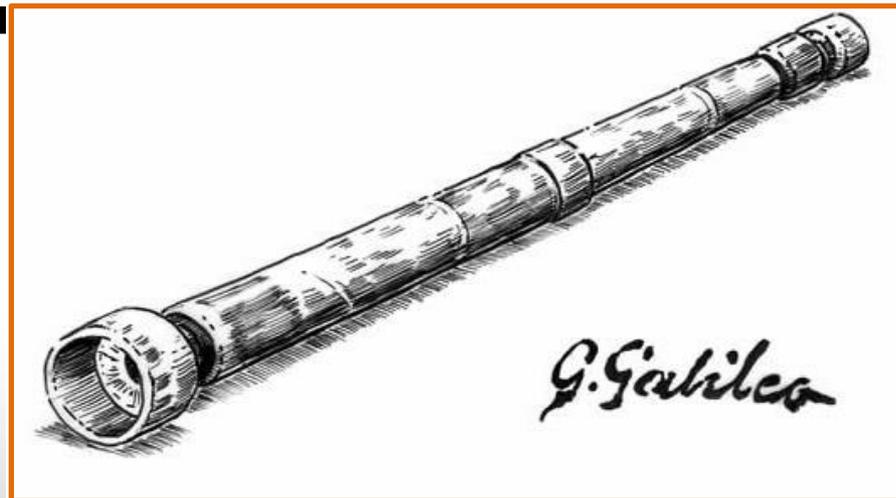
Электронный микроскоп позволяет получить разрешение до 0,1-0,01 нм.

Изобретение микроскопа, столь важного для всей науки прибора обусловлено, прежде всего, влиянием развития оптики. Некоторые оптические свойства изогнутых поверхностей были известны еще Евклиду (300 лет до н.э.) и Птоломею (127-151 гг.), однако их увеличительная способность не нашла практического применения. В связи с этим первые очки были изобретены Сальвинио дели Арлеати в Италии только в 1285 г. В 16 веке Леонардо да Винчи и Мауролико показали, что малые объекты лучше



# ИСТОРИЯ

**Первый** микроскоп был создан лишь в 1595 году Захариусом Йансеном (Z. Jansen). Изобретение заключалось в том, что Захариус Йансен смонтировал две выпуклые линзы внутри одной трубки, тем самым, заложив основы для создания сложных микроскопов. Фокусировка на исследуемом объекте достигалась за счет выдвигного тубуса. Увеличение микроскопа составляло от 3 до 10 крат. И это был настоящий прорыв в области микроскопии! Каждый свой следующий микроскоп



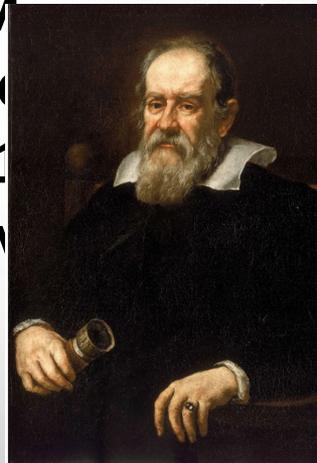
л.

# ИСТОРИЯ

**В** этот период (XVI в.) датские, английские и итальянские исследовательские приборы

степенно начали свое развитие, закладывая фундамент современной микроскопии.

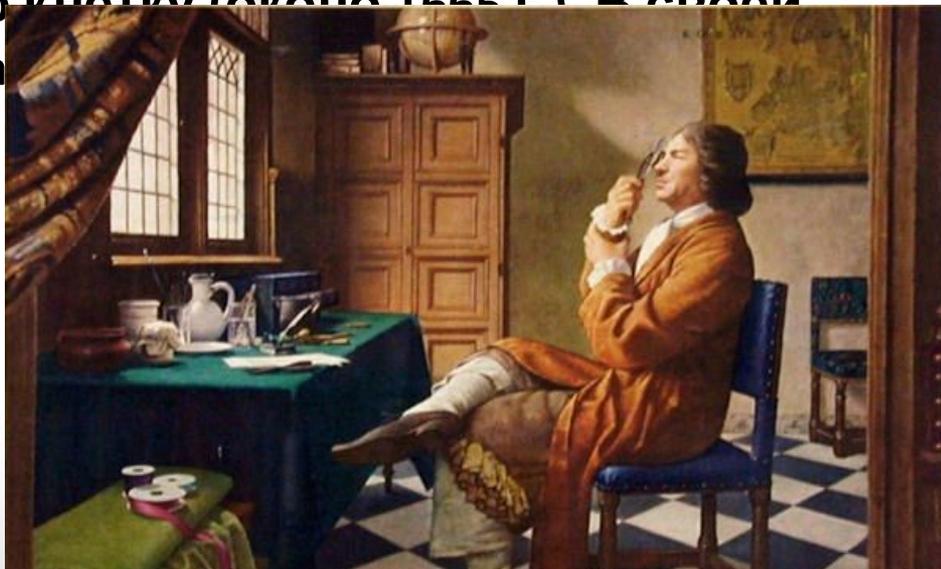
Постепенное распространение и совершенствование микроскопов началось после того, как Галилей (G. Galilei), совершенствуя сконструированную им телескопическую трубу, стал использовать своеобразие микроскопа (1609—1610). Увеличивая расстояние между объективом и окуляром.



# ИСТОРИЯ МИКРОСКОПА

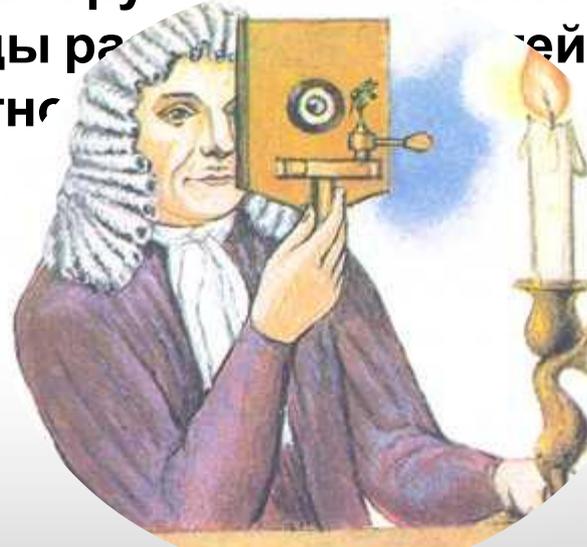
**В** 1625 г. членом Римской "Академии зорких" ("Akademia dei lincei") И. Фабером был предложен термин "**микроскоп**". Первые успехи, связанные с применением микроскопа в научных биологических исследованиях, были достигнуты Гуком (R. Hooke), который первым описал растительную клетку (около 1665 г.). В своей

свогра  
па.



# ИСТОРИЯ

**В** 1681 г. Лондонское королевское общество в своем заседании подробно обсуждало своеобразное положение. Голландец Левенгук (A. van Leenwenhoek) описывал изумительные чудеса, которые открывал своим микроскопом в капле воды, в настое перца, в иле реки, в дупле собственного зуба. Левенгук с помощью микроскопа обнаружил и зарисовал сперматозоиды ракообразнейших, детали строения костных



# ИСТОРИЯ

**Л**учшие лупы Левенгука увеличивали в 270 раз. С ними он увидел впервые кровеносные тельца, движение крови в капиллярных сосудах хвоста головастика, полосатость мускулов. Он открыл инфузории. Он впервые погрузился в мир микроскопических одноклеточных водорослей, где лежит граница между животным и растением; где движущееся животное, как зеленое растение, обладает хлорофиллом и питается, поглощая свет; где растение, еще прикрепленное к субстрату, потеряло хлорофилл и заглатывает бактерии. Наконец, он видел даже бактерии и в великом разнообразии. Но, разумеется, тогда не было еще и отдаленной возможности понять ни значение бактерий для человека, ни смысла зеленого вещества - хлорофилла, ни границы между растением и животным.



# ИСТОРИЯ

**В** 1668 г. Е. Дивини, присоединив к окуляру полевую линзу, создал окуляр современного типа. В 1673 г. Гавелий ввел микрометрический винт, а Гертель предложил под столик микроскопа поместить зеркало. Таким образом, микроскоп стали монтировать из тех основных деталей, которые входят в состав современного биологического микроскопа.



**В** 1824 г. громадный успех микроскопа дала простая практическая идея Саллига, воспроизведенная французской фирмой Шевалье. Объектив, раньше состоявший из одной линзы, расчленен на части, его начали изготавливать из многих ахроматических линз. Так умножено число параметров, дана возможность исправления ошибок системы, и стало впервые возможным говорить о настоящих больших увеличениях - в 500 и даже 1000 раз. Граница предельного видения передвинулась от двух к одному микрону. Далеко позади оставлен микроскоп Левенгука.

В 70-х годах 19 века победоносное шествие микроскопии двинулось вперед- Аббе (E. Abbe).



# ИСТОРИЯ

*Достигнуто было  
следующее:*

**Во-первых**, предельное разрешение  
передвинулось от полумикрона до одной  
десятой микрона.

**Во-вторых**, в построении микроскопа вместо  
грубой эмпирики введена высокая точность



# УСТРОЙСТВО

**С**овременные оптических микроскопы позволяют увеличивать изображение в 2000 раз, а некоторые электронные микр



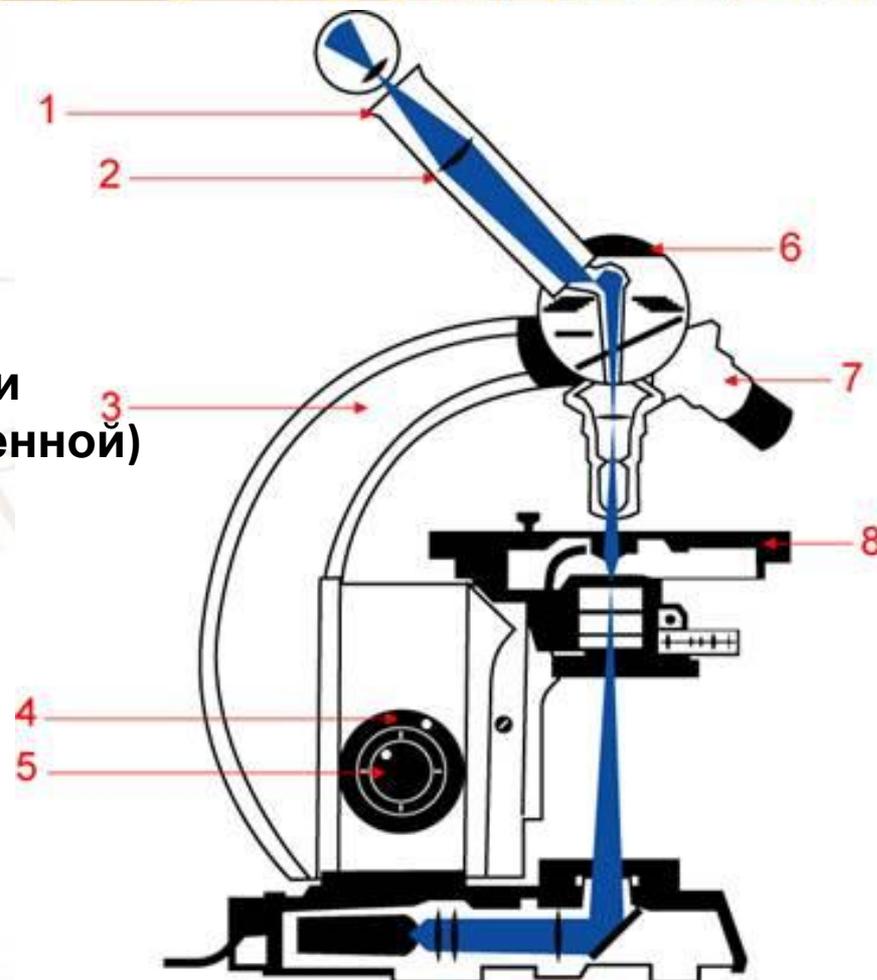
# УСТРОЙСТВО

**О**сновными частями светового микроскопа (рис. 1) являются объектив и окуляр, заключенные в цилиндрический корпус – тубус. Большинство моделей, предназначенных для биологических исследований, имеют в комплекте три объектива с разными фокусными расстояниями и поворотный механизм, предназначенный для их быстрой смены – турель, часто называемую револьверной головкой. Тубус располагается на верхней части массивного штатива, включающего тубусодержатель. Чуть ниже объектива (или турели с несколькими объективами) находится предметный столик, на который устанавливаются предметные стекла с исследуемыми образцами. Резкость регулируется с помощью винта грубой и точной настройки, который позволяет изменять положение предметного столика относительно объектива.



# УСТРОЙСТВО

1. Окуляр
2. Тубус
3. Держатель
4. Винт грубой фокусировки
5. Винт точной (микрометричной) фокусировки
6. Револьверная головка
7. Объектив
8. Предметный столик



# ВИДЫ

## Оптические микроскопы

- Ближнепольный оптический микроскоп
- Конфокальный микроскоп
- Двухфотонный лазерный микроскоп

## Электронные микроскопы

- Просвечивающий электронный микроскоп
- Растровый электронный микроскоп

## Сканирующий зондовый микроскоп

- Сканирующий атомно-силовой микроскоп
- Сканирующий туннельный микроскоп

## Рентгеновские микроскопы

- Рентгеновские микроскопы отражательные
- Рентгеновские микроскопы проекционные
  - Лазерный рентгеновский микроскоп (XFEL)

## Дифференциально-интерференционно-контрастный микроскоп



# ВИДЫ

# ТОБ



**Оптический  
микроскоп**

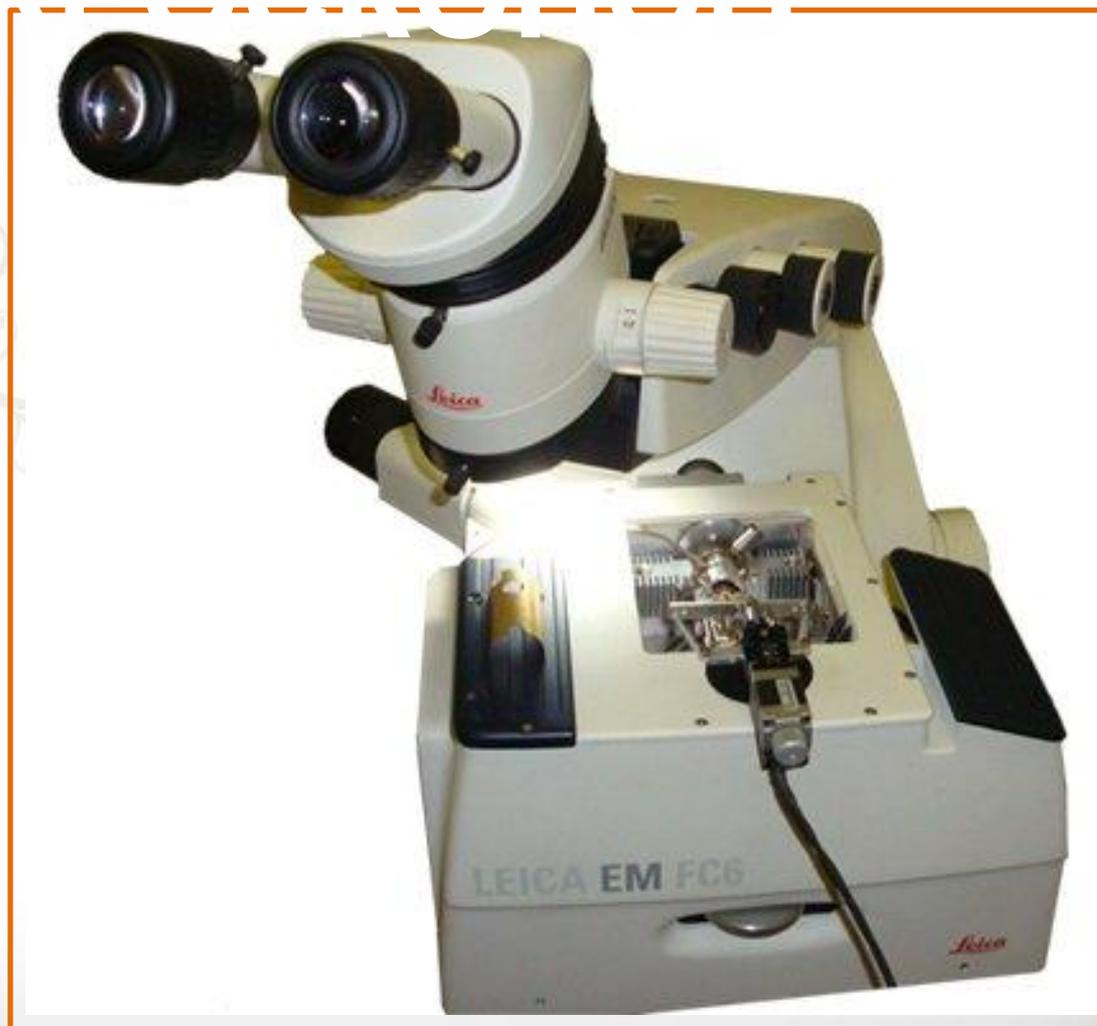


# ВИДЫ



**Электронный  
микроскоп**

# ВИДЫ



**Сканирующий зондовый  
микроскоп**

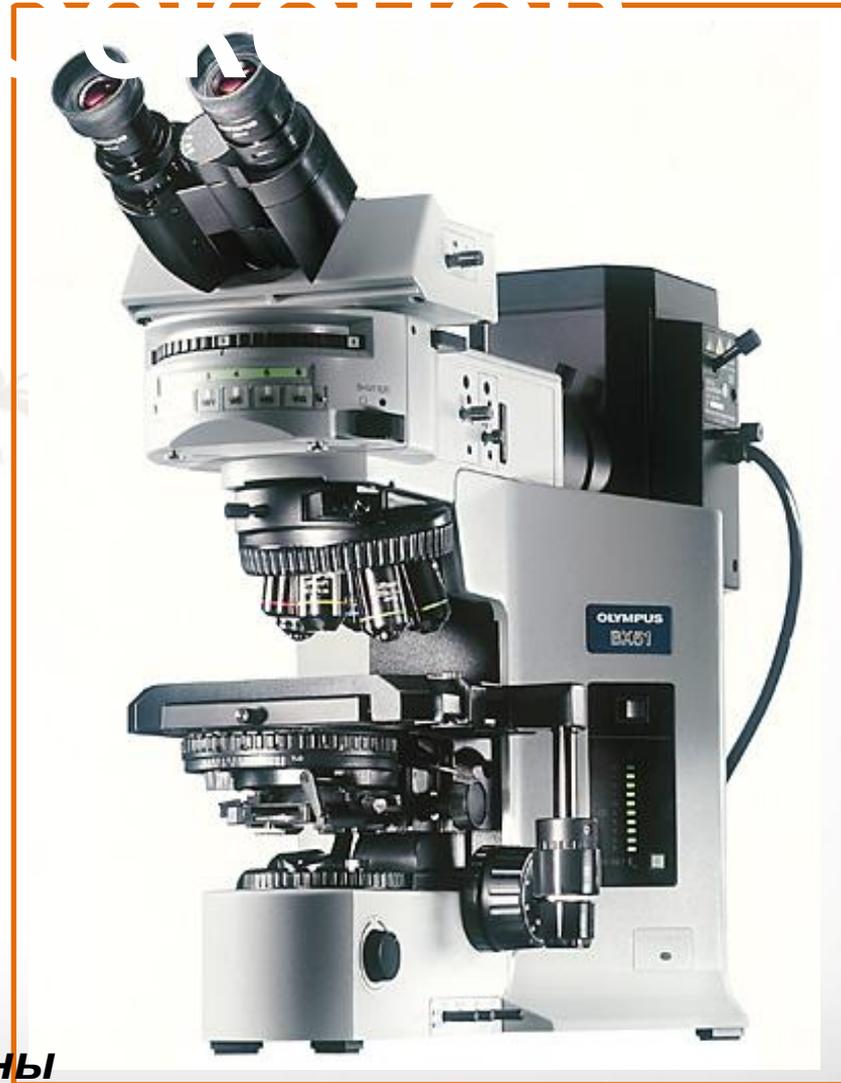
# ВИДЫ

# ОСКОПОВ



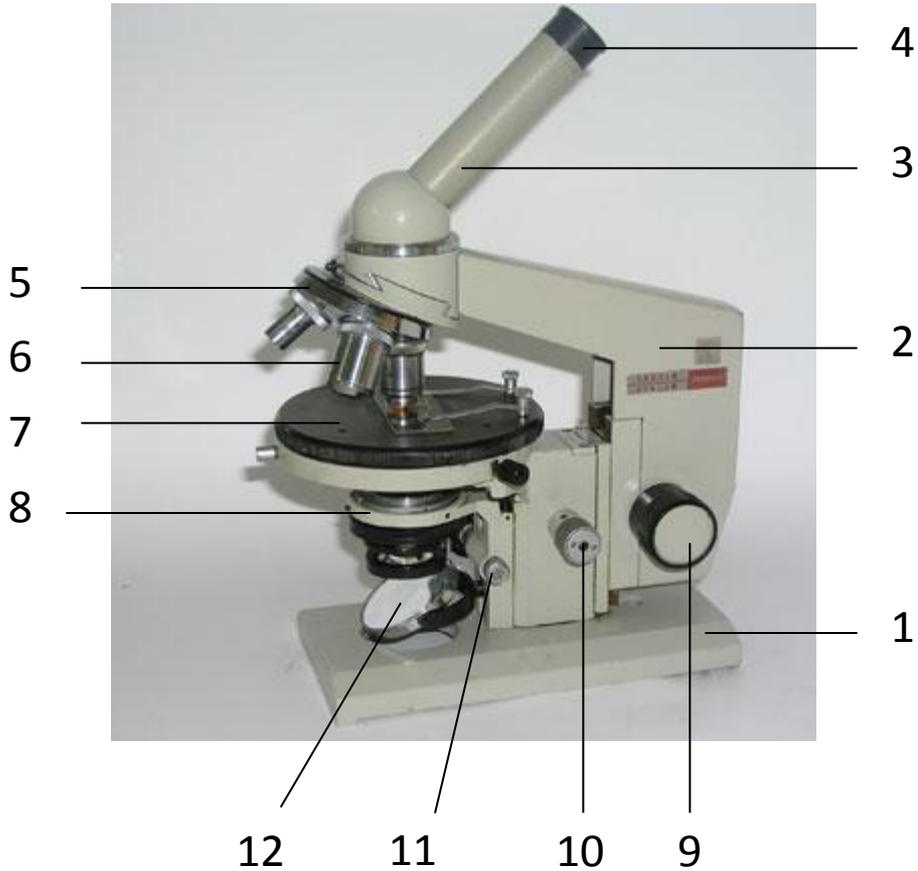
*Рентгеновские*

# ВИДЫ



*Дифференциально-интерференционно-контрастный микроскоп*

# Устройство светового микроскопа



1. Основание микроскопа
2. Тубусодержатель
3. Тубус
4. Окуляр (чаще  $\times 7$ )
5. Револьвер микроскопа
6. Объективы
  - а) сухие:  $\times 8$ ,  $\times 20$ ,  $\times 40$
  - б) иммерсионный  $\times 90$
7. Предметный столик
8. Конденсор
9. Макрометрический винт
10. Микрометрический винт
11. Винт конденсора
12. Зеркало

Общее увеличение микроскопа = увеличение объектива  $\times$  увеличение окуляра

# Определение увеличения и диаметра наблюдаемого поля на объекте

*К основным характеристикам микроскопа относятся увеличение и разрешающая способность.*

Общее увеличение, которое дает микроскоп, определяется как произведение увеличения объектива на увеличение окуляра. Однако увеличение не характеризует качества изображения, оно может быть четким и нечетким. Четкость получаемого изображения характеризуется разрешающей способностью микроскопа, т.е. той наименьшей величиной объектов или их деталей, которые можно увидеть с помощью этого прибора.

Общее увеличение  $\Gamma$  микроскопа при визуальном наблюдении определяется по формуле:

$$\Gamma = \beta_{об} \times \beta_{ок}$$

где:

$\beta_{об}$  - увеличение объектива (маркируется на объективе);

$\beta_{ок}$  - увеличение окуляра (маркируется на окуляре).

Диаметр поля, наблюдаемого в объекте,  $D_{об}$  мм, определяется по формуле

$$D_{об} = D_{ок} \times \beta_{об}$$

$D_{ок}$  - диаметр окулярного поля зрения (маркируется на окуляре)



A microscopic image of a plant stem cross-section, showing numerous vascular bundles arranged in a ring. Each bundle contains xylem on the inner side and phloem on the outer side, with a central pith cell. The tissue is stained with a purple dye, likely hematoxylin and eosin (H&E).

# Методы микроскопии

# Методы микроскопии

Оптическая

Световая

Поляриза-  
ционная

Флюоресцентная  
(люминесцентная)

Темно-  
польная

Фазово-  
контраст-  
ная

Электронная

Просвечивающая  
(трансмиссионная)

Сканирующая  
(раст



# Световая микроскопия

Изучение гистологического препарата осуществляется в проходящем свете с помощью [светового микроскопа](#).

Источник света естественный или искусственный (различные лампы). Свет собирается в [конденсор](#) и далее направляется через препарат в [объектив](#). [Окуляр](#) дополнительно увеличивает это изображение.

Качество изображения (четкость) определяется **разрешающей способностью микроскопа**, т.е. минимальным (разрешающим) расстоянием, на котором оптика микроскопа позволяет различить отдельно две близко расположенные точки. Эта величина пропорциональна длине световой волны и для обычного светового микроскопа равна приблизительно 0,2 мкм. Чем меньше разрешающее расстояние, тем выше разрешающая способность микроскопа и тем более мелкие объекты можно исследовать.

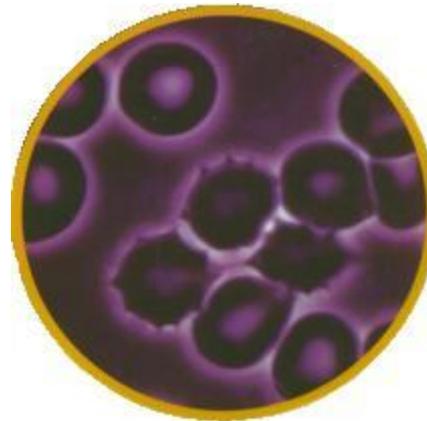
**Увеличение микроскопа** – это соотношение между истинными размерами исследуемого объекта и размерами его изображения, получаемого с помощью микроскопа. Ориентировочно оно оценивается как произведение увеличений [объектива](#) и [окуляра](#) и может достигать 2500 раз.

# Темнопольная микроскопия

Основана на использовании специального конденсора, освещающего препарат «косыми» лучами, не попадающими в объектив.

При наличии объекта в поле зрения свет отражается от него и направляется в объектив.

Метод часто используется для изучения живых неокрашенных клеток.



# Поляризационная микроскопия

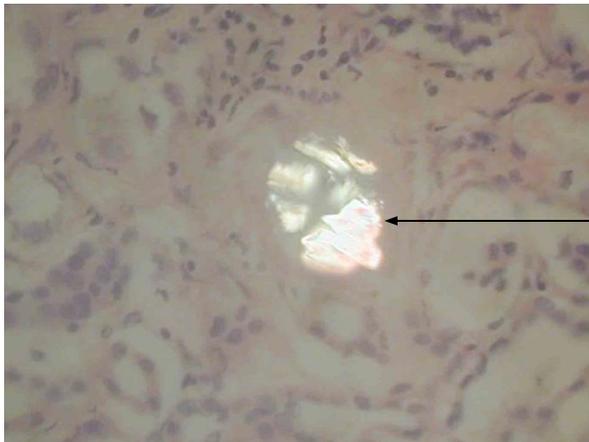
Позволяет обнаружить двойное лучепреломление – анизотропию.

На объект исследования направляется поляризованный пучок света, т.е. лучи света направлены строго в одной плоскости.

Это обеспечивает особый фильтр – поляризатор. Такой свет направляется на объект исследования.

Второй фильтр – анализатор расположен между объективом и окуляром и позволяет регистрировать угол отклонения плоскости поляризации света.

Микроскопия позволяет регистрировать пространственное расположение молекул в объективе или кристаллические структуры.



**Кристаллы оксалатов.  
Поляризационная  
микроскопия.  
Увеличение x100**

# Фазово-контрастная микроскопия

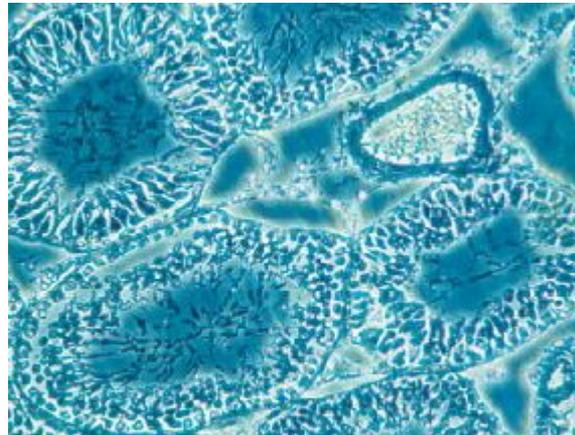
Метод служит для получения контрастных изображений прозрачных и бесцветных объектов, в частности, позволяет изучать живые неокрашенные препараты.

Даже при очень малых различиях в показателях преломления разных элементов препарата световая волна, проходящая через них, претерпевает разные изменения по фазе (приобретает **фазовый рельеф**). Эти фазовые изменения, не воспринимаемые глазом, преобразуются с помощью специального оптического устройства (**кольцевой диафрагмы** в конденсоре и **фазовой пластинки** в объективе) в изменения амплитуды световой волны, т. е. в изменения яркости («**амплитудный рельеф**»), которые уже различимы глазом.

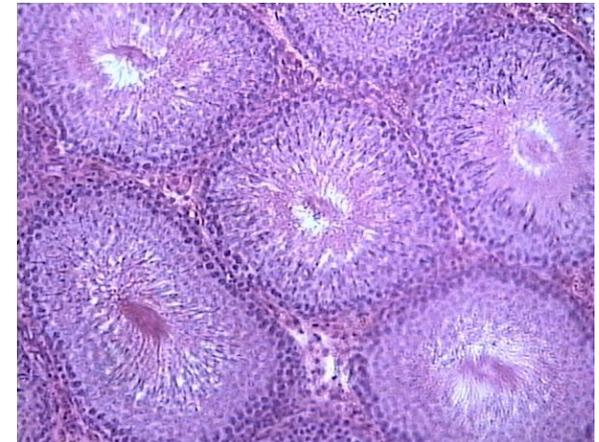
Иными словами, в получаемом видимом изображении распределение яркостей (амплитуд) воспроизводит фазовый рельеф. Получаемое таким образом изображение называется фазово-контрастным.



*Pseudotriconympha grassii*.  
Неокрашенный препарат.  
Фазовый контраст



Семенники крысы.  
Неокрашенный препарат.  
Фазовый контраст



Семенники крысы.  
Окраска: гематоксилин-эозин  
Световая микроскопия

# Флюоресцентная (люминесцентная) микроскопия

Использует принцип свечения объекта исследования при освещении его ультрафиолетовыми лучами. Источником света служат специальные лампы.

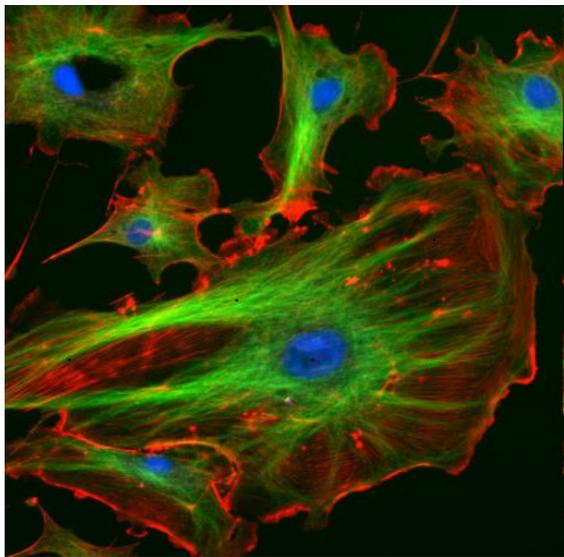
Существует аутофлюоресценция – собственная или первичная флюоресценция. Например, свечение эластических волокон в стенке артерий.

Вторичная флюоресценция возникает после обработки препаратов специальными красителями – флюорохромами (акридин оранжевый, родамин, флюоресцин и др.).

Например: после обработки [акридиновым оранжевым](#) в клетке очень четко обнаруживается ядерная ДНК (ярко-зеленое свечение) и РНК (ярко-красное свечение). После фиксации тканей в парах формальдегида ([метод Фалька](#)) обнаруживается ярко-зеленое свечение серотонина, катехоламинов (адреналин, норадреналин).

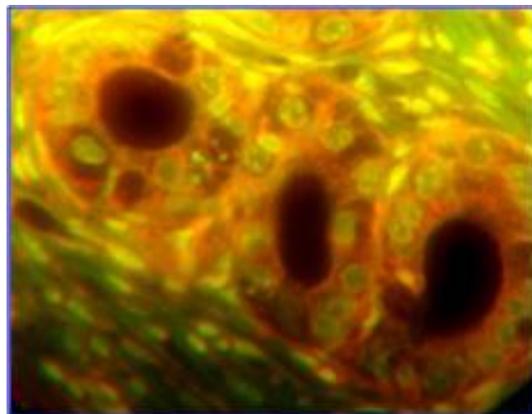
Если флюоресцентные красители связать со специфическими антителами – можно будет выявить их антигены. Этот метод получил название [иммуноцитохимического](#).

# Флюоресцентная (люминесцентная) микроскопия (примеры)



**Цитоскелет эукариот**  
(эндотелиальные клетки быка).  
*Имуноцитохимический метод окрасивания.*

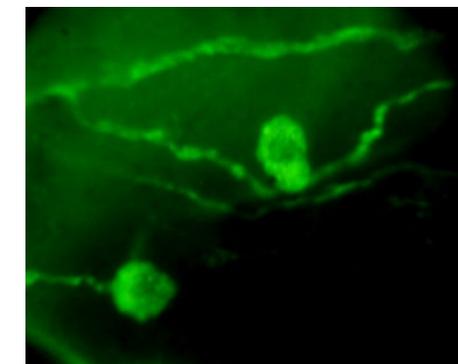
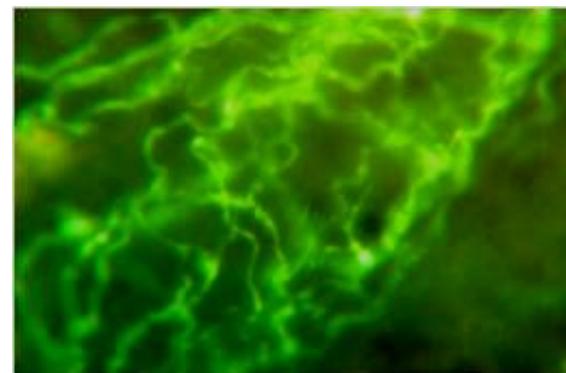
Актиновые микрофиламенты окрашены в красный, микротрубочки — в зеленый, ядра клеток — в голубой цвет.



**Нуклеиновые кислоты в эпителии маточных желез.**

*Окраска акридиновым оранжевым.*

Ядерная ДНК окрашена в зеленый цвет, РНК — в красный.



**Симпатические нервные сплетения.**  
*Метод Фалька*

# Электронная микроскопия

Электронный микроскоп — прибор, позволяющий получать изображение объектов с максимальным увеличением до  $10^6$  раз. Это стало возможно благодаря использованию вместо светового потока **пучка электронов**, длина волны которого во много раз короче длины волны **фотонов видимого света**.

Электронный микроскоп состоит из **электронной пушки** (устройства для получения пучка электронов) и системы **электромагнитных линз**, размещенных в колонне микроскопа в условиях вакуума.

**Разрешающая способность** электронного микроскопа в  $1000 \div 10000$  раз превосходит разрешение светового микроскопа и для лучших современных приборов может составлять менее  $0,1 \text{ нм}$  ( $10^{-10} \text{ м}$ ).

Существуют две основные разновидности электронной микроскопии: трансмиссионная (просвечивающая) и сканирующая (растровая).

# Трансмиссионная (просвечивающая) электронная микроскопия

Принцип работы трансмиссионного электронного микроскопа заключается в том, что электроны, проходя через объект, расположенный вблизи объективной линзы, взаимодействуют с его атомами и отклоняются от первоначального направления падения пучка (рассеиваются). Далее они попадают в систему магнитных линз, которые формируют на флуоресцентном экране (и на фотопленке) изображение внутренней структуры объекта. При этом удастся достичь разрешения порядка 0,1 нм, что соответствует увеличениям до  $1,5 \cdot 10^6$  раз.

Разрешение и информативность ТЭМ-изображений во многом определяются характеристиками объекта и способом его подготовки. Для получения контрастного изображения применяют ультратонкие срезы (не более 0,01 мкм), обработанные соединениями тяжелых металлов (импрегнация солями свинца, урана, осмия и др.), избирательно взаимодействующими с компонентами микроструктуры (химическое контрастирование). При этом чем большей рассеивающей способностью обладает участок исследуемого объекта (участки повышенной плотности, увеличенной толщины и пр.), тем более темным будет его [изображение](#)

# Сканирующая (растровая) электронная микроскопия

Принцип работы сканирующего электронного микроскопа (СЭМ) заключается в сканировании поверхности образца сфокусированным электронным пучком и анализе отраженных от нее частиц и рентгеновского излучения, возникающего в результате взаимодействия электронов с веществом.

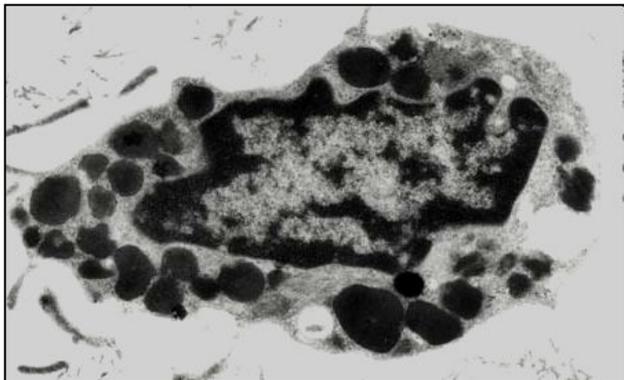
В СЭМ пучок электронов (электронный зонда) фокусируется электромагнитными линзами конденсора и объектива. Специальное устройство – дефлектор отклоняет электронный пучок (первичные электроны), который скользит по поверхности (растр). Вторичные электроны (отраженные от поверхности) воспринимаются детектором и фокусируются на экране СЭМ, создавая ее [трехмерное изображение](#).

Современный СЭМ позволяет работать в широком диапазоне увеличений приблизительно от  $\times 10$  (что эквивалентно увеличению сильной ручной линзы) до  $\times 1\,000\,000$ , что приблизительно в 500 раз превышает предел увеличения лучших оптических микроскопов.

Поверхность сканирования обязательно напыляется металлом: платина, золото, палладий и др.

# Электронная микроскопия (примеры)

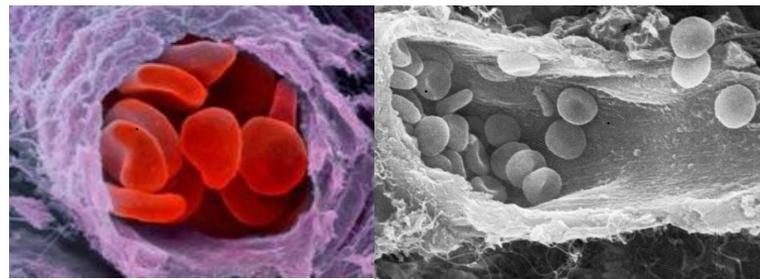
трансмиссионная



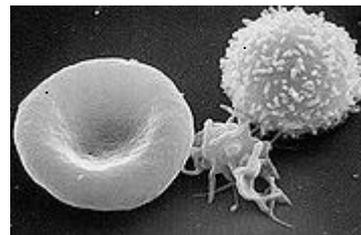
Тучная клетка



сканирующая



Эритроциты в артериоле



Эритроцит,  
тромбоцит,  
лейкоцит

# **Правила обращения с микроскопом**

- Микроскоп необходимо содержать в чистоте и предохранять от повреждений.
  - Для сохранения внешнего вида микроскопа необходимо периодически протирать его мягкой тканью, предварительно удалив пыль, а затем обтирать сухой мягкой чистой тканью. Необходимо содержать в чистоте металлические части микроскопа.
  - Особое внимание следует обращать на чистоту оптических деталей, в первую очередь объективов и окуляров.
  - Для предохранения оптических деталей насадок от пыли необходимо оставлять окуляры в окулярных тубусах или надевать на окулярные тубусы колпачки.
- Не следует касаться пальцами поверхностей оптических деталей. В случае если на последнюю линзу объектива, окуляра глубоко сидящую в оправе, попала пыль, поверхность линзы надо очень осторожно продуть резиновой грушей, либо прочистить мягкой (беличьей) кисточкой или чистой ватой, навернутой на деревянную палочку и слегка смоченной эфиром или спиртовой смесью.

удьте особенно внимательны при работе с объективами большого увеличения. Не допускайте случайного соприкосновения фронтальной линзы объектива с покровным стеклом исследуемого препарата – это может привести к повреждениям поверхности фронтальных линз.

Извлеченные в револьверную головку объективы храните в футляре, ввернутыми в крышку!

Не следует самостоятельно разбирать объективы, окуляры и другие узлы

микроскопа. Обращайтесь к специалистам.



## **Эксплуатационные ограничения и меры безопасности**

- Микроскоп не следует устанавливать в пыльных помещениях или в помещениях с повышенной влажностью, в помещениях, где ощущаются толчки и вибрации. В помещении не должно быть паров кислот, щелочей и других химически активных веществ. Следует избегать попадания на микроскоп прямых солнечных лучей.
- При транспортировании или хранении микроскопа в упаковке при отрицательной температуре перед распаковыванием необходимо выдержать микроскоп в упаковке в помещении при температуре от 10 до 35°С не менее четырех часов.
- Микроскопы рассчитаны на эксплуатацию в макроклиматических районах с умеренным и холодным климатом при температуре воздуха в помещениях от 10 до 35°С. Работать с объективом масляной иммерсии следует в помещении при температуре воздуха от 15 до 25°С.



# Указание мер безопасности

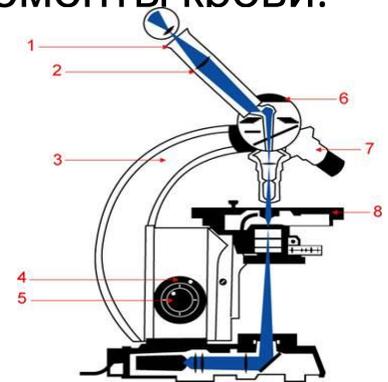
- ✓ Микроскоп включается в сеть с помощью сетевого шнура, который обеспечивает одновременно с подключением к питающей сети заземление корпуса микроскопа.
- ✓ Замену лампы в осветителе микроскопа и плавких вставок (предохранителей) следует производить при отключенном от сети микроскопе. Во избежание ожога кожи рук о колбу лампы или контактные штыри замену лампы следует производить через 15 - 20 мин после отключения микроскопа от сети.
- ✓ После окончания работы микроскоп необходимо отключить от сети.
- ✓ Не рекомендуется оставлять без присмотра включенный в сеть микроскоп.
- ✓ Ремонтные и профилактические работы следует производить после отключения микроскопа от сети.



# Препараты для микроскопирования и их подготовка

## Техника приготовления мазка на предметном стекле

- Используются чистые предметные обезжиренные стекла желательной толщиной 1 мм .
- Капля крови помещается в середине стекла в 1-2 см от одного из концов.
- Шлифованное стекло, которым будет сделан мазок, ставят на предметное стекло под углом 30-45 градусов на 1-2 мм перед каплей и двигают его немного назад, чтобы стекло соприкоснулось с каплей крови и капля растеклась по углу между двумя стеклами.
- Далее быстро проводят движение вперед по предметному шлифованному стеклу, которое должно быть уже предметного или специальным пластиковым шпателем, позволяющим получить монослойный мазок практически на всем его протяжении.
- Мазок должен иметь длину 3-4 см. Не следует сильно нажимать на стекло, так как при этом травмируются форменные элементы крови.
- Мазки высушивают на воздухе и маркируют.



## ***Техника приготовления мазка на предметном стекле***

- Правильно выполненный высохший мазок должен быть тонким, желтоватого цвета, располагаться на 1-1,5 см от краев и оканчиваться «метелочкой».
- В толстых (густо-розового цвета) мазках морфология клеток плохо различима. После окрашивания эритроциты при микроскопии должны располагаться отдельно друг от друга в виде монослоя.
- Существует 2 типа автоматических приборов для производства равномерных мазков крови, в основе которых используется механическое распределение клеток или центрифугирование (Cytospin фирмы Shandon). Цитоцентрифуга концентрирует клетки на небольшой площади и такие мазки используют для изучения клеток в низких концентрациях, например, в спинномозговой жидкости. В современных гематологических анализаторах имеется устройство для автоматического приготовления мазков с последующей их фиксацией и окрашиванием, что еще больше сокращает время приготовления препаратов и обеспечивает постоянство характеристик окраски. Данные приборы требуют 26x76x1 (фирма «Гем»)



# *Окраска мазков крови*

Наиболее часто применяют окраску

- по Романовском
- по Нохту
- по Паппенгейму-Крюкову

Существуют автоматические устройства для приготовления и окраски мазков, которые позволяют стандартизировать условия и повысить качество препаратов.



- В настоящее время предлагается широкий спектр высококачественных красителей (фирма "Гем", НПФ "Абрис+"), удобные в применении и дающие хорошие результаты при окраске мазков. Можно использовать наборы для быстрого окрашивания мазков крови в течение 20-30 секунд (фирма "Гем").
- Автоматическая фиксация и окраска мазков может быть осуществлена с помощью специальных устройств: "Гема-Тек" (США), "ПОМК-1" (Россия), в которые загружают нефиксированные мазки. Последующее автоматическое дозирование фиксатора-красителя и буферных растворов обеспечивает стандартную и равномерную окраску мазков.



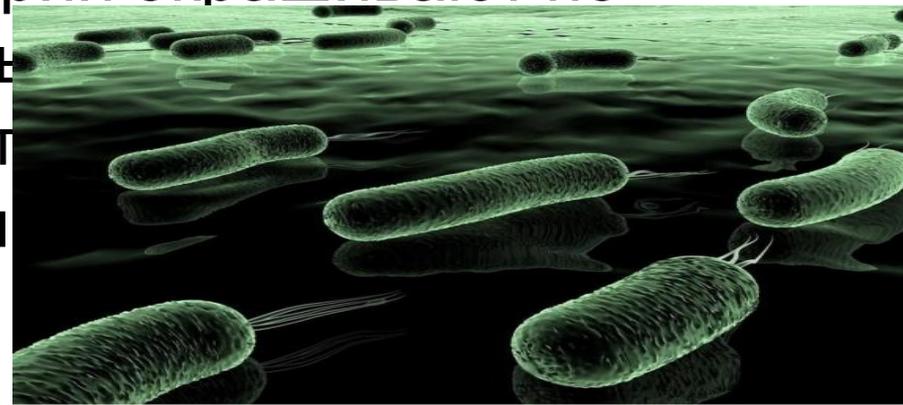
# Метод микроскопии нативной крови

- Метод микроскопического исследования нативной крови подразумевает исследование образца крови сразу после взятия в течение не более 10-15 минут, после чего в крови происходят необратимые изменения. Капельку крови под покровным стеклом изучают сначала обзорно под малым увеличением, затем анализируют морфологию клеток и содержимое плазмы под иммерсией при максимальном увеличении. Важным отличием данного метода от обычных анализов является проведение исследования образца крови без какой-либо его предварительной обработки и в присутствии пациента. Пациент имеет уникальную возможность видеть свои клетки и в процессе исследования получать важнейшую для него информацию.
- Метод исследования нативной крови под микроскопом известен науке со времен изобретения самого микроскопа. Обычная световая микроскопия, применяемая в лабораторной практике сегодня, максимально позволяет увеличивать просматриваемые объекты в 1500 раз. Этого достаточно для просмотра структуры окрашенных препаратов, но не дает возможности оценки динамических процессов в крови. Модернизация световой микроскопии современной техникой позволила добиться максимально эффективного увеличения визуализируемых структур и объектов плазмы, причём, в их динамике и оценить жизнедеятельность клеток крови. Таким образом, на основе световой микроскопии появился новый метод исследования, общепринятое название которому в настоящее время не определено.

# Микроскопическое исследование в микробиологии

Используют два и более красителя.

- Так, по окрашиванию генциановым фиолетовым с докраской фуксином по Граму все микроорганизмы делят на грамположительные (фиолетовый цвет) и грамотрицательные (красный).
- Туберкулезные микобактерии окрашивают по Цилю-Нильсену карболовым цветом, а все остальные части докрасивают метиленовым



# Технология негативной окраски

- Когда окрашивается фон мазка и на нем отчетливо проявляются неокрашенные микроорганизмы, например, бледная спирохета.



# ***Приготовление гистологических препаратов тканей***

Включает:

обработку спиртом, формалином, пропитывание парафином или желатином, нарезание тончайшими слоями при помощи прибора-микротомы. Полученные срезы окрашивают сложными смесями красителей. Срезы закрепляют на предметных стеклах смесью белка с глицерином. Для сохранения препаратов срезы заливают канадским бальзамом и покрывают предметным стеклом. Бальзам засыхает, и в таком виде гистологический препарат сохраняется в течение многих лет.

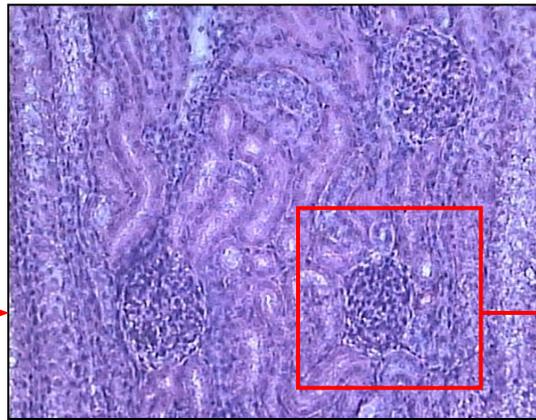
# Техника микроскопирования

1. Микроскопирование препарата начинают с установки правильного *освещения*. Для этого с помощью вогнутого зеркала, собирающего рассеянный пучок света, и конденсора достигают равномерного освещения поля зрения.
2. На предметный столик помещают препарат покровным стеклом вверх.
3. Изучение начинают при малом увеличении (объектив х8), при этом расстояние между объективом и покровным стеклом должно быть около 1 см. *Установку резкости* проводят с помощью макрвинта.
4. Рассматривают детали по всей площади, перемещая его на предметном столике.
5. Устанавливают в центр поля зрения, который следует изучить при большом увеличении (объектив х40).
6. С помощью револьверного устройства ставят объектив с более сильным увеличением (х40). *Установку резкости* проводят с помощью микровинта.
7. Для изучения очень мелких структур используют иммерсионный объектив (х90).
  - На покровное стекло препарата наносят каплю иммерсионного масла.
  - Осторожно опускают тубус до соприкосновения линзы объектива к маслу.
  - *Установку резкости* проводят с помощью микровинта.
  - После окончания работы иммерсионное масло удаляют с объектива и покровного стекла марлей.

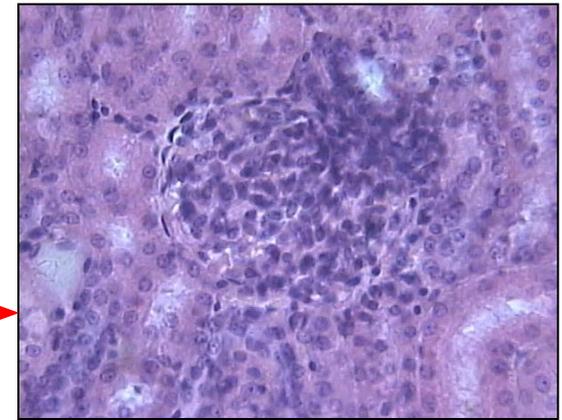
# Техника микроскопирования (примеры)



Почка.  
Окраска: гематоксилин-эозин.  
Увеличение: x 56  
(*малое увеличение*).



Почка.  
Окраска: гематоксилин-эозин.  
Увеличение: x 280  
(*большое увеличение*).



Почка.  
Окраска: гематоксилин-эозин.  
Увеличение: x 630  
(*иммерсионное  
увеличение*).

# Дезинфекция биологического материала и препаратов изготовленных из него

№№	Документ	Полное название
1	52-ФЗ	О санитарно-эпидемиологическом благополучии населения

## Приказы

№№	Документ	Полное название
1	217 Приказ Роспотребнадзора	Об осуществлении государственного санитарно-эпидемиологического надзора за лечебно-профилактическими учреждениями
2	258 Приказ Роспотребнадзора	О дополнительных мерах по проведению государственного санитарно-эпидемиологического надзора за деятельностью хозяйствующих субъектов при обращении с отходами производства и потребления
3	408	«О мерах по снижению заболеваемости вирусными гепатитами в стране»

# Дезинфекция биологического материала и препаратов изготовленных из него.

## Санитарные правила

№№	Документ	Полное название
1	СанПиН 2.1.3.2630-10	Санитарно-эпидемиологические требования к организациям, осуществляющим медицинскую деятельность
2	СП 2.1.7.1386-03	Санитарные правила по определению класса опасности токсичных отходов производства и потребления
3	СанПиН 2.1.7.2790.10	Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами
4	СанПиН 1.2.036-95	Порядок учета, хранения, передачи и транспортирования микроорганизмов 1-4 групп патогенности