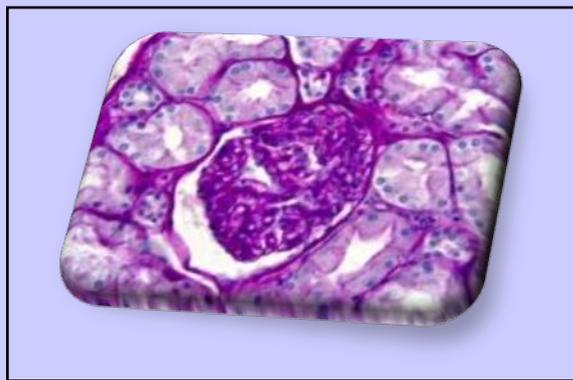
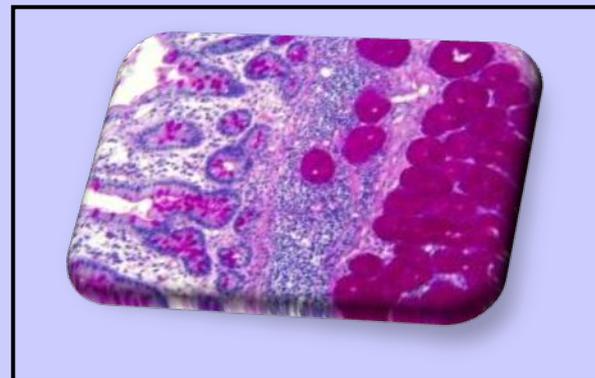
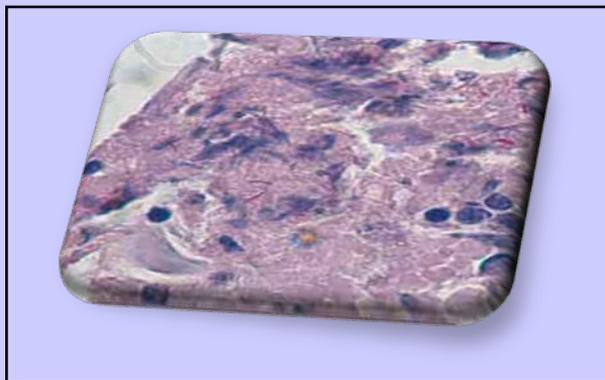


# ГИСТОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ



# Терминология

- *Гистология* - это наука о строении, развитии и жизнедеятельности тканей многоклеточных организмов и человека.
- *Гистологический анализ* – это исследование структуры ткани на предмет выявления морфологических патологий или изменений ткани.

# Для чего нужен гистологический анализ?

Выявление патологических изменений в ткани при различных заболеваниях -  
Патологическая анатомия, Онкология

Установление причины смерти человека -  
Судебная медицинская экспертиза

# Где проводится гистологический анализ?

Патологоанатомические отделения (ПАО)

Бюро судебно-медицинской экспертизы (СМЭ)

Онкологические диспансеры

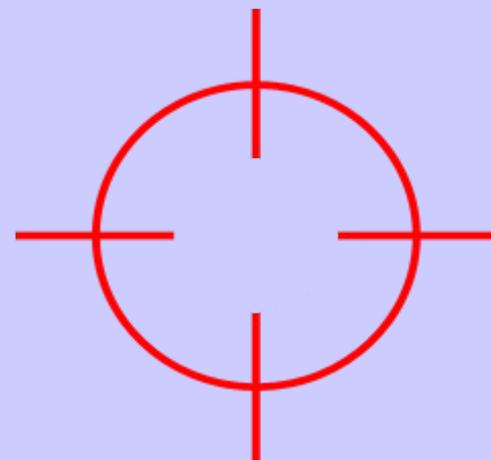
НИИ онкологии

Гистологические лаборатории больниц

Гистологические лаборатории медицинских университетов

# Что является объектом гистологического анализа?

Гистологический препарат



# Как проводится гистологический анализ?

Забор материала для исследования

Обработка материала и получение гистологического препарата

Микроскопическое исследование препарата врачом-гистологом и постановка диагноза

# Забор материала для ГИСТОЛОГИЧЕСКОГО анализа

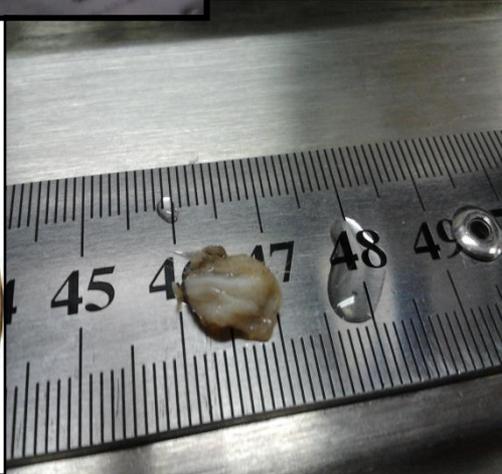
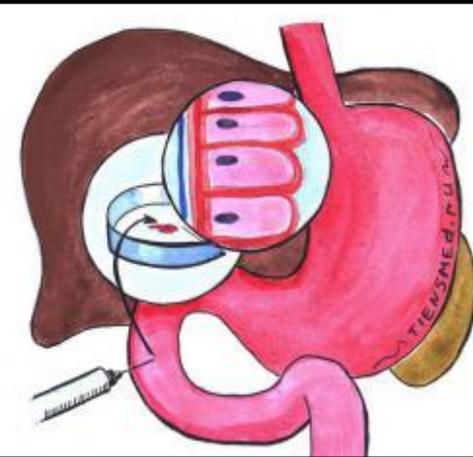
**Аутопсия** (*некропсия*) – посмертное вскрытие и исследование тела, в том числе внутренних органов.

**Биопсия** (*эксцизионная, инцизионная, тонкоигольная аспирационная*) – прижизненный забор клеток или тканей для микроскопических исследований с диагностической целью.

**-эксцизионная.** Изъятие всего органа во время операции

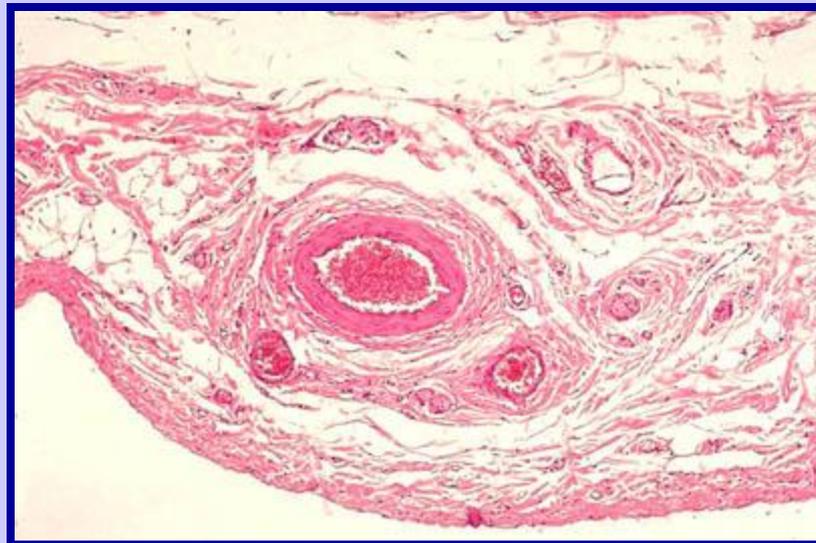
**-инцизионная.** Изъятие части образования или органа

**-тонкоигольная аспирационная.** Забор столбика ткани при помощи прокола полрой иглой



# Зачем нужна фиксация материала?

- Фиксация материала имеет важное значение
- Фиксация обеспечивает стабилизацию тканевых структур и их уплотнение



# ФИКСАТОРЫ

## ПРОСТЫЕ

### \* Формалин (наиболее часто)

10% (так же 5 и 20%) р-р на водопроводной воде, т.к. дистиллят вызывает набухание тканей.

Скорость фиксации 24-48 часов

Высокая проникаемость;

хорошо фиксирует даже крупные фрагменты;

Возможность длительного хранения (годами) без потери структуры тканей.

### Этиловый спирт

для ГХ, т.к. фиксирует белок с min изменениями.

Сохраняет гликоген, железосодержащий пигмент, Са, мукоидные в-ва, мочевую к-ту;

Не требует промывки и обезвоживания перед заливкой.

искажает строение рыхлых и отёчных тканей, т.к. быстрая фиксация

### Метиловый спирт

Оптimalен для мазков крови группа А!!!

## СЛОЖНЫЕ

### Жидкость Буэна

пикриновая к-та+конц. формальдегид+ледяная уксусная к-та

Скорость фиксации 24 часа

Для всех тканей. Часто используется в экспериментах и эмбриологии, т.к. не деформирует ткани

### Жидкость Карнуа

спирт+хлороформ+ледяная уксусная к-та

Ускоренная фиксация (3-4 часа). Толщина образца до 4 мм.

Хорошо сохраняет структуру ядра и применяется для быстрой фиксации и ускоренной проводки.

### Фиксаторы с сулемой, спирт+формалин в разных пропорциях

# \* ФОРМАЛИН

ЗАВОДСКОЙ

НЕЙТРАЛИЗОВАННЫЙ  
(ЗАБУФЕРЕННЫЙ)

Фосфаты.  
Мел, углекислый магний

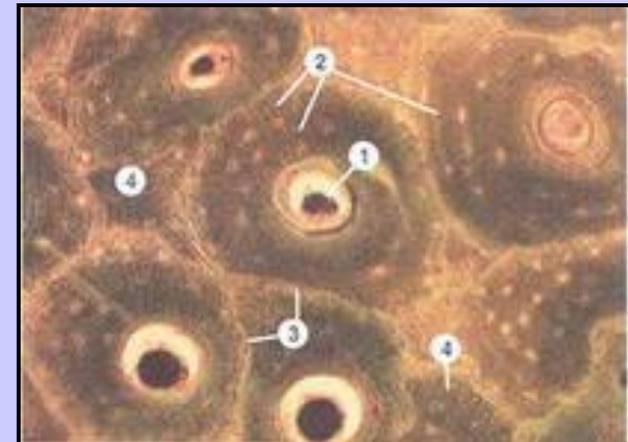
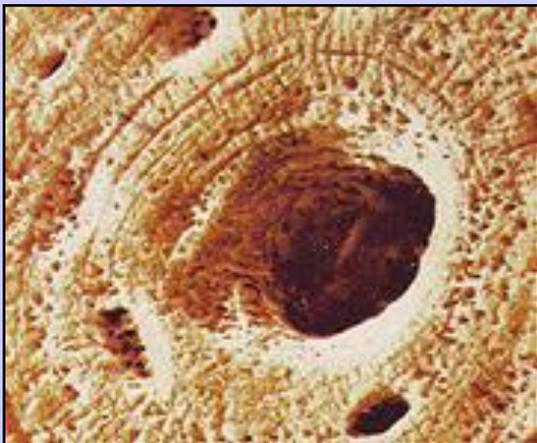
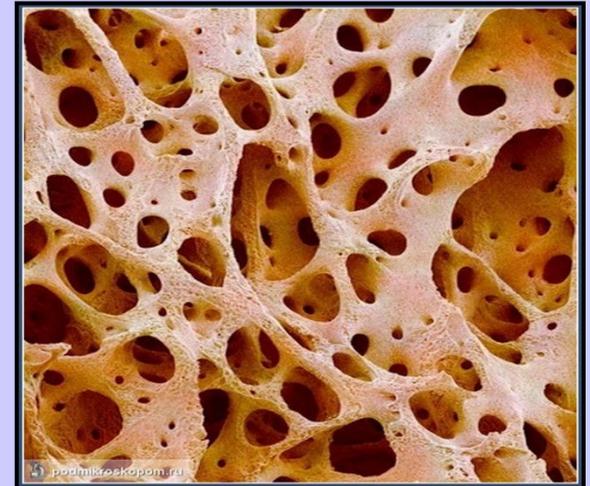
Содержит примеси:

Метиловый спирт, муравьиную к-ту, иногда ацетон.

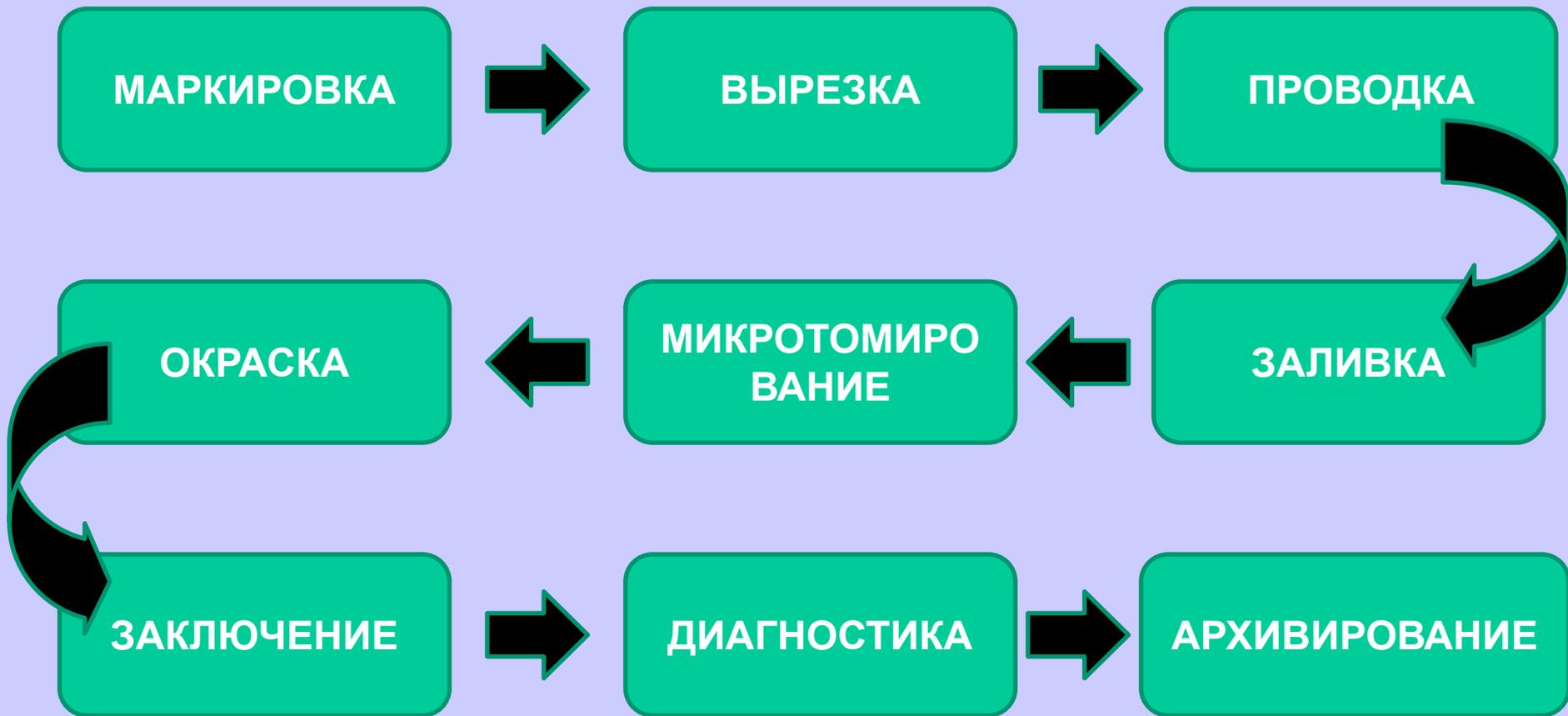
На холоде, на свету формальдегид полимеризуется и выпадает в виде белого осадка (параформальдегиды). Концентрация снижается. Формалин не пригоден.

При некоторых методах окраски (серебрении и др.) формалин должен быть нейтральным, т.е. не содержать кислот.

# ДЕКАЛЬЦИФИКАЦИЯ КОСТНОЙ ТКАНИ



# Обработка материала и получение гистологического препарата



# МАРКИРОВКА

**Маркировка-** присвоение материалу определенного порядкового номера

# МАРКИРОВКА



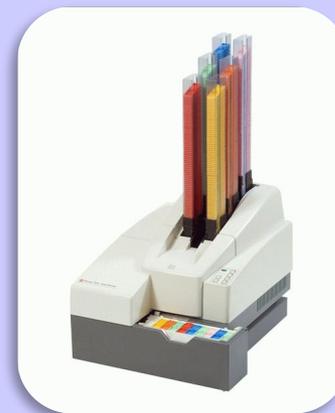
Маркеры устойчивые к реагентам



Краска для маркировки тканей



«Алмазный» карандаш



Принтеры для маркировки кассет и стекол

# ВЫРЕЗКА

## Требования к рабочему месту лаборанта гистолога

- *Гистологическая (патоморфологическая) лаборатория размещается в типовом или специально приспособленном помещении. Она должна быть оснащена необходимым оборудованием, инструментами, лабораторной посудой и химическими реактивами.*
- *Лабораторная мебель, выполненная из древесины малоприспособна для работы с многими токсичными и пожароопасными реактивами, используемыми в патоморфологии. Поэтому предпочтение следует отдавать специальной лабораторной мебели из металла и пластика, которая снабжена выдвижными частями, подводкой воды, вакуума, воздуха и газа...*
- *(«Микроскопическая техника. Руководство»; под ред. Саркисова Д.С., Перова Ю.Л. изд. Медицина 1996 год)*

# Стол лаборанта-гистолога



С помощью традиционных инструментов – скальпелей и ножей получение образцов ткани стандартной толщины труднодостижимо





# Процесс вырезки

**ВАЖНО!**

**Толщина образца ткани для исследования  
должна быть  
не более 2-7 мм**

(часто определяется фиксатором, типом ткани  
и вариантом последующей окраски)

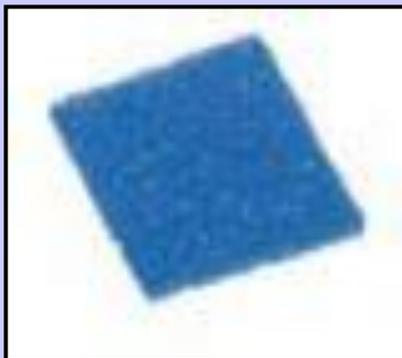


**В противном случае качество последующей обработки ткани  
будет варьировать**

## БИОПСИЙНЫЕ КАССЕТЫ



## БИОПСИЙНЫЕ ПРОКЛАДКИ



## БИОПСИЙНЫЕ МЕШОЧКИ



# Проводка

- *Гистологическая проводка* - ЭТО процесс последовательного замещения воды и жиров ткани на парафин.

**Результат проводки:** получение фиксированного и обезвоженного образца ткани, который в дальнейшем может быть залит в парафиновый блок и подвержен микромированию.



# Типы проводки

**Спирт этиловый –ксилол** чаще всего встречается

Спирт этиловый – хлороформ

Изопропиловый спирт

Могут быть использованы толуол, ацетон, бензол в различных вариациях

# Проводка вручную



Традиционно используют марлю и банки с притертой крышкой!

# Недостатки проводки вручную

- Длительный процесс проводки
- Требуется постоянного внимания лаборанта
- Нестабильное, часто низкое качество проводки
- Испарение реагентов загрязняет атмосферу в лаборатории
- Очень трудоемкий процесс
- Возможна потеря образцов

# Проводка автоматическая

Карусельного  
типа



Вакуумные  
процессоры



Гистоконвейеры



# Заливка

*Заливка* – это процесс заключения проведенного образца в парафин (редко целлоидин). Результат заливки – это парафиновый блок, в который заключен образец ткани. Этот блок далее поступает на этап микротомии.

# Парафиновые среды

Приготовленные вручную



Парафин

Воск

(пчелиный или  
зуботехнический)

Готовые



# Как приготовить парафин для заливки вручную?

- Расплавление парафина и воска
- Охлаждение полученной смеси холодной водой
- Тщательное перемешивание полученной смеси руками

И ТАК 5-10 РАЗ ДО ПОЛУЧЕНИЯ  
ГОМОГЕНЕЗИРОВАННОЙ ПАРАФИНОВОЙ СМЕСИ



# Недостатки

- Процесс очень трудоемкий;
- Лаборант тратит на приготовление среды для заливки до 30% своего рабочего времени;
- Лаборант подвергает свое здоровье опасности
- Качество воска и парафина варьирует, а следовательно, варьирует и качество среды



ЗАПАТЕНТОВАНО В РФ

# HISTOMIX

Вес нетто: 1кг Произведено в России 1кг  
продукт предназначен для *in vitro* диагностики



парафиновая среда  
для гистологической заливки тканей

BiVitrum  
[www.biovitrum.ru](http://www.biovitrum.ru)

# Как традиционно заливают ткани в лаборатории?

Помещение объекта в формочку

Заливка парафином, разогретым до температуры 58°-65°

Ориентация кусочка ткани с помощью подогретой препаровальной иглы

Охлаждение залитых объектов с целью получения лучшей консистенции парафинового блока.  
Для этого формы опускают в холодную воду или помещают на охлажденную поверхность

Вырезка блоков из затвердевшего парафина

Приклеивание приготовленных блоков с помощью подогретого шпателя к деревянному блоку

Маркировка блока

# Заливка вручную



# Недостатки

- Занимает много времени
- Требуется постоянное внимание лаборантов
- Трудно выполнять одному
- Нестабильное качество заливки
- Очень трудоемкий процесс

# Заливка автоматическая



# Микротомия

Микротомия – это получение тонких срезов из парафинового блока, в котором заключен образец ткани.

Криотомия – это получение тонких срезов из замороженного кусочка ткани при необходимости постановки срочного диагноза (срочная биопсия).

Полученный срез (срезы) наносится на предметное стекло для дальнейшего окрашивания и получения гистологического препарата.

# Микротомия

*Микротомы* – это приборы, с помощью которых получают срезы тканей, залитых в парафиновые среды, а также замороженных и нефиксированных. По принципу действия различают *саные, ротационные микротомы, а также криотомы.*



# Как традиционно проводится микротомия в лаборатории?

Традиционно лаборанты-гистологи работают на санных микротоммах МС-2



# Как традиционно проводится микротомия в лаборатории?



Для работы на санном микротоме используют МНОГОРАЗОВЫЕ микротомные ножи, которые периодически необходимо затачивать



# Недостатки работы на санном микротоме

1. ОЧЕНЬ трудоемкий процесс микротомирования
2. Необходимость постоянной оптимизации механизма микротоме
3. Невозможно получить серию срезов, что зачастую необходимо для анализа структуры ткани

# Недостатки работы с МНОГОРАЗОВЫМИ ножами

1. Невозможно получить качественные срезы мягких тканей
2. Трудности в получении тонких (до 1 мм толщиной) срезов
3. Проблематичность организации процесса заточки ножа
4. Дороговизна абразивных материалов, необходимых для заточки
5. Необходимость закупки дополнительного оборудования для заточки ножей

## Одноразовые микротомные ножи



# Преимущества работы с одноразовыми микротомными ножами

1. Отсутствует необходимость постоянной заточки
2. Отсутствует необходимость закупки дорогостоящего оборудования и абразивных материалов для заточки
3. Возможность получения высококачественных тонких срезов
4. Для различных типов тканей существуют особые типы одноразовых ножей
5. Каждый нож покрыт специальным покрытием, предотвращающим его от повреждений и коррозии

# Современные санные электрические микротомы



# Криотомы



# Окраска

**Окраска препаратов позволяет оценить :**

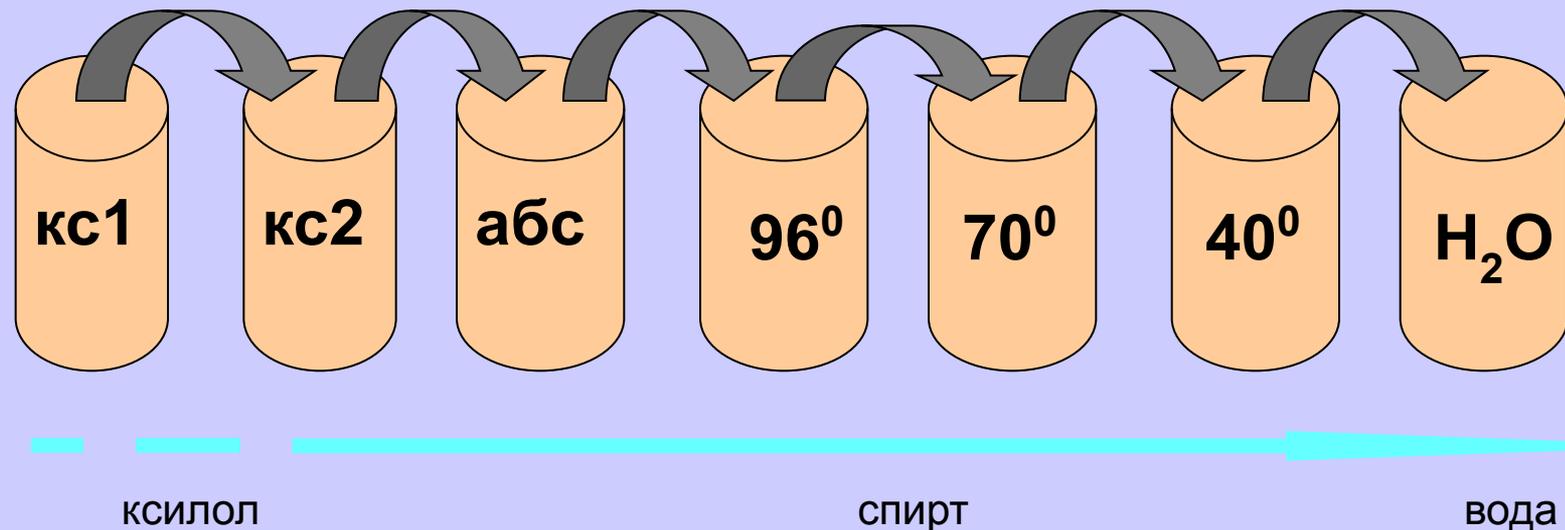
- **морфологию ткани**
- **наличие патологических изменений в ткани или клетке**
- **наличие патогенных микроорганизмов**
- **активность некоторых белков, ответственных за внутриклеточные процессы**

# Подготовка препарата к окраске

- Большинство красителей не проникают в срезы, пропитанные парафином, поскольку являются водо- или спирторастворимыми веществами
- Парафин перед окраской препаратов должен быть удален
- Для этого препарат подвергается процедурам **депарафинизации и регидратации**

# Депарафинизация срезов

- Препарат последовательно проводят через ксилол и батарею спиртов для удаления парафина.



Традиционно в лабораториях краски готовят из сухих веществ



# Сухие красители

## **Недостатки:**

- Огромные временные затраты на приготовление красителей
- Зависимость качества приготовленного красителя от мастерства лаборанта
- Сложности с закупками отдельных сухих красителей
- Необходимость закупать дополнительные реактивы – кислоты, щелочи, соли
- Низкий уровень стандартизации результатов

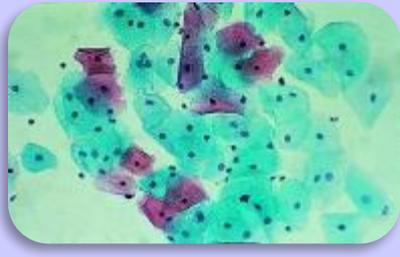
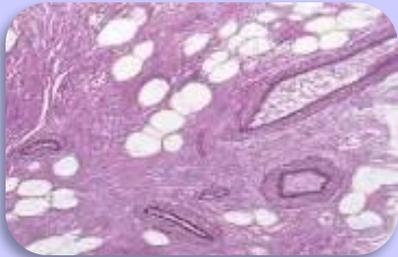
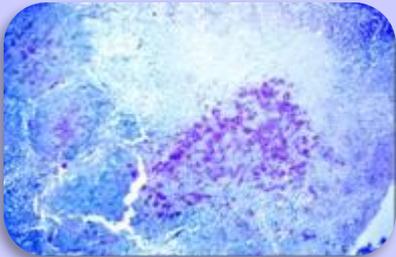
# Готовые красители

Наборы красителей

Растворы красителей



# ОКРАСКА



# Окраска

**вручную**

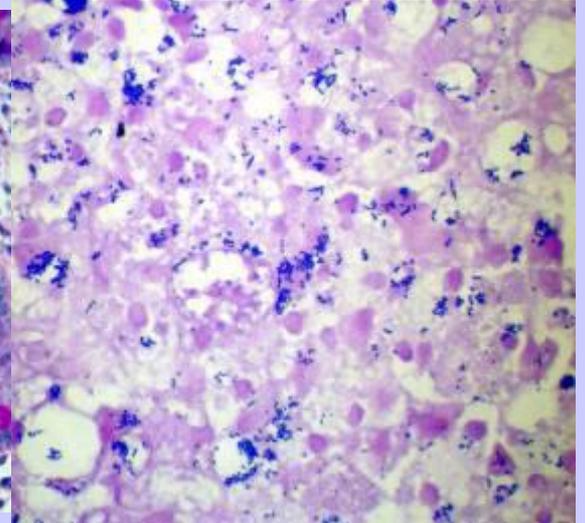
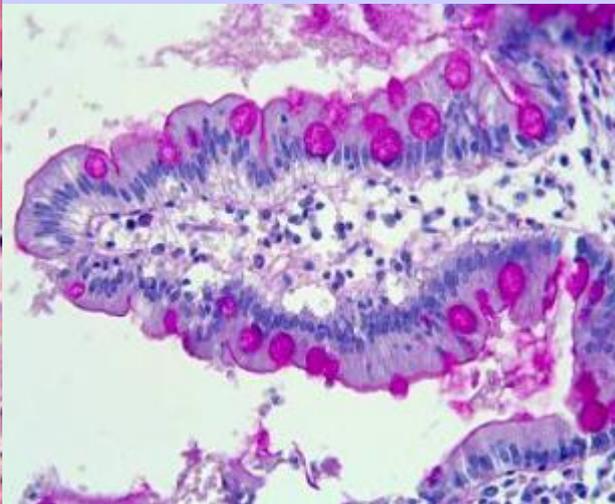
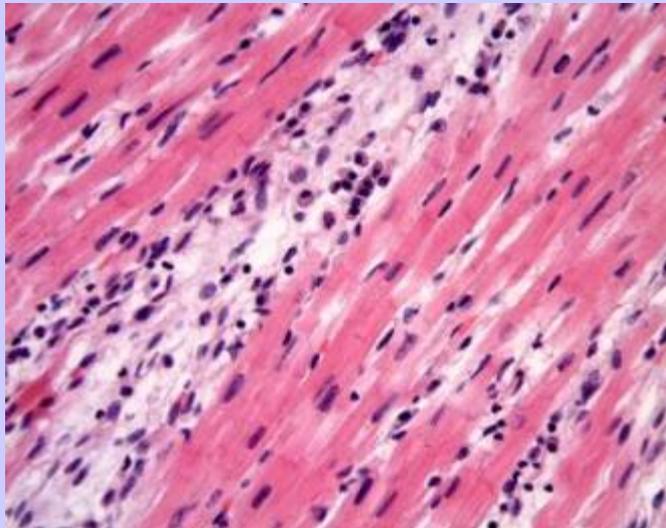
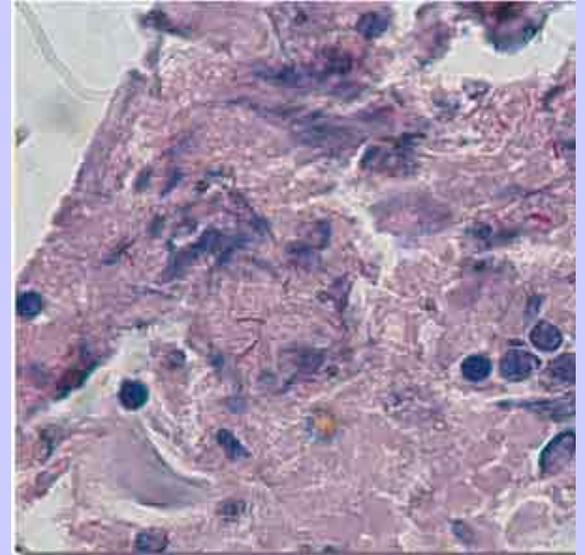


**автоматическая**



## Основные методики окраски

Гематоксилин-Эозин  
Альциановый синий рН 2,5  
Окраска по Граму  
Окраска по Цилю Нильсену  
Окраска по Павловскому  
ШИК-реакция  
Азур-эозин по Романовскому  
Май Грюнвальд



# Заклучение препаратов

Заклучение препаратов – этап подготовки препарата к последующему архивированию.

Препарат закрывают под покровное стекло с помощью прозрачные сред, которые предохраняют его от воздействия влажности, УФ лучей и других факторов, влияющих на качество препарата в процессе архивирования.



Заклучение препарата = Сохранение препарата

# Среды для заключения

## Традиционные среды

### Канадский бальзам

- Очень долго сохнет (до трех дней)
- Дорогой ( 1 л стоит 120 EUR)



### Полистирол

- Необходимо готовить
- При архивировании белеет и трескается
- ТОКСИЧЕН!



## Готовые среды

Био маунт

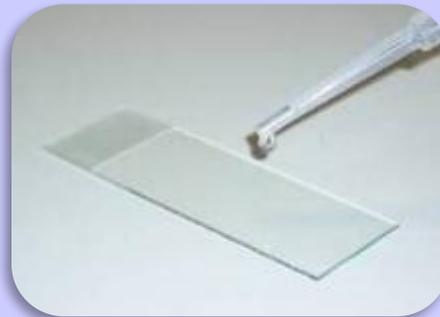
Hi Mo, Маунт квик

Tissue-Mount



# ЗаклЮчение препаратов

Вручную



## Автоматическое

- Заключение под стекло
- Заключение под пленку





*Аппарат  
Tissue-Tek  
Prisma для*

*заклочения*

*Аппарат Tissue-Tek Film для  
окрашивания*

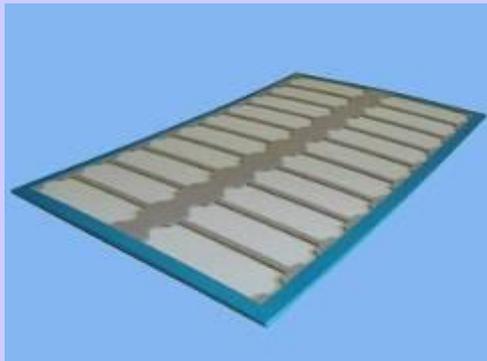
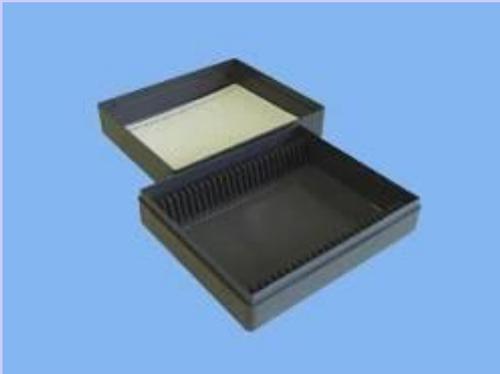
# МИКРОСКОПИЯ



# Архивирование

Архивирование препаратов предполагает их длительное хранение в специально отведенных помещениях (архивах)

Препарат может быть востребован как в течение первых двух лет, так и через 15 лет после проведения гистологического исследования.



## Система влажного архива



Биоматериал, который необходимо сохранить помещают в полиэтиленовый рукав, заливают формалином, запаивают на специальном устройстве для запайки. Затем маркируют и помещают в шкаф.

A microscopic image of adipose tissue, showing numerous large, clear, circular adipocytes with thin, dark borders. The cells are arranged in a dense, somewhat irregular pattern. The background is a reddish-pink color, likely due to the staining process. The overall appearance is that of a highly cellular, lipid-rich tissue.

***СПАСИБО ЗА ВНИМАНИЕ***

# СПАСИБО ЗА ВНИМАНИЕ

