

Министерство здравоохранения Удмуртской Республики  
автономное профессиональное образовательное учреждение Удмуртской Республики  
«Республиканский медицинский колледж имени Героя Советского Союза Ф.А. Пушиной  
Министерства здравоохранения Удмуртской Республики»  
(АПОУ УР «РМК МЗ УР»)

**МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ ДЛЯ СТУДЕНТОВ**

**К ВЫПОЛНЕНИЮ ПРАКТИЧЕСКИХ ЗАНЯТИЙ**

**МДК.04.01 ТЕОРИЯ И ПРАКТИКА МОРФОЛОГИЧЕСКИХ ЛАБОРАТОРНЫХ  
ИССЛЕДОВАНИЙ**

**ПМ.04 ВЫПОЛНЕНИЕ МОРФОЛОГИЧЕСКИХ ЛАБОРАТОРНЫХ  
ИССЛЕДОВАНИЙ ПЕРВОЙ И ВТОРОЙ КАТЕГОРИИ СЛОЖНОСТИ**

программы подготовки специалистов среднего звена  
по специальности 31.02.03 Лабораторная диагностика  
форма обучения: очная

Ижевск  
2023

## СОДЕРЖАНИЕ

№	Тема практического занятия	Стр.
	Введение	4
1.	Организация работы в гистологической лаборатории Морфологическое строение клетки	5
2.	Гистологическое исследование однослойных эпителиев, многослойных и железистых эпителиев	10
3.	Гистологическое исследование соединительных тканей	22
4.	Гистологическое исследование крови	27
5.	Гистологическое исследование мышечных тканей	32
6.	Гистологическое исследование нервной ткани	37
7.	Гистологическое исследование органов сердечно - сосудистой системы	45
8.	Гистологическое исследование органов кроветворения и иммунологической защиты	51
9.	Гистологическое исследование органов пищеварительной системы	57
10.	Гистологическое исследование органов мочевыделительной и половой систем	64
11.	Гистологическое исследование органов дыхательной системы и кожи	72
12.	Гистологическое исследование органов эндокринной системы	79
13.	Гистологическое исследование органов нервной системы и органов чувств	84
14.	Подготовка материала к гистологическому исследованию. Фиксация и промывка материала для гистологического исследования	89
15.	Пропитывание и заливка материала в парафин. Формирование парафиновых блоков	96
16.	Изготовление гистологических срезов на микротоме, наклеивание срезов на предметное стекло	102
17.	Окрашивание срезов гематоксилином-эозином. Просветление и заключение срезов. Контроль качества изготовления гистологического препарата	19
18.	Изготовление препаратов для специальных методов исследования	117
19.	Изготовление препаратов для гистохимического исследования	125
20.	Цитологическое исследование клеток эпителия различных органов	132
21.	Исследование цитологических признаков воспалительного процесса	138
22.	Исследование цитологических признаков предопухолевых процессов	144
23.	Исследование цитологических признаков опухолевых процессов	151
24.	Исследование цитологических признаков заболеваний органов дыхания	160
25.	Обработка биологического материала для морфологического исследования	168
26.	Проведение окраски цитологических мазков гематоксилин - эозином. Окрашивание цитологических мазков азур-эозиновыми смесями	175
27.	Проведение окраски цитологических мазков специальными методами. Полихромная окраска по М.Г. Арсеньевой. Окрашивание цитологических препаратов экспресс – методами	184
28.	Проведение лабораторных морфологических исследований	192
29.	Приложения	199
	Библиографический список	200

## Введение

### УВАЖАЕМЫЙ СТУДЕНТ!

Методические указания для выполнения практических занятий созданы Вам в помощь для работы на занятиях, подготовки к практическим занятиям, правильного составления отчетов.

Приступая к выполнению практического занятия, Вы должны внимательно прочитать цель и задачи занятия, ознакомиться с требованиями к уровню Вашей подготовки в соответствии с федеральным государственным стандартом (ФГОС СПО), краткими теоретическими и учебно-методическими материалами по теме практического занятия, ответить на вопросы для закрепления теоретического материала.

Все задания к практическому занятию Вы должны выполнять в соответствии с инструкцией, анализировать полученные в ходе занятия результаты по приведенной методике.

Отчет по практическому занятию Вы должны выполнить по приведенному алгоритму, опираясь на рекомендации.

Наличие положительной оценки по практическим занятиям необходимо для получения зачета по дисциплине, поэтому в случае отсутствия на занятии по любой причине или получения неудовлетворительной оценки за практическое занятие, Вы должны найти время для его выполнения или передачи.

**Внимание!** Если в процессе подготовки к практическим занятиям или при решении задач у Вас возникают вопросы, разрешить которые самостоятельно не удастся, необходимо обратиться к преподавателю для получения разъяснений или указаний в дни проведения дополнительных занятий.

Время проведения дополнительных занятий можно узнать у преподавателя.

**Желаем Вам успехов!!!**

**МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ К ПРАКТИЧЕСКОМУ ЗАНЯТИЮ № 1**  
**Организация работы в гистологической лаборатории**  
**Морфологическое строение клетки**

<b>Цель:</b> формирование умений осуществлять подготовку материала, реактивов, лабораторной посуды и аппаратуры для проведения гистологического исследования клеточных структур, готовить гистопрепараты, оценивать их качество и архивировать оставшийся от исследования материал		
<b>Тип занятия:</b> практическая работа		
<b>Планируемые результаты</b>	<b>Уметь</b>	<b>Знать</b>
	<ul style="list-style-type: none"> <li>- готовить материал, реактивы, лабораторную посуду и аппаратуру для проведения гистологического исследования</li> <li>- проводить гистологическую обработку тканей и готовить микропрепараты для исследований</li> <li>- оценивать качество приготовленных гистологических препаратов</li> <li>- выполнять микроскопическое исследование клетки</li> <li>- регистрировать гистологические исследования в виде рисунка</li> <li>- архивировать оставшийся от исследования материал</li> <li>- оформлять учетно-отчетную документацию</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- задачи, структуру, оборудование, правила работы и техники безопасности в патогистологической лаборатории.</li> </ul>

**Ход практического занятия:**

1. Подготовка рабочего места, проверка наличия, требуемого материально – технического оснащения.
2. Совместная постановка цели занятия и планируемых результатов освоения темы.
3. Проверка домашнего задания: теоретический разбор материала по теме.
4. Формирование умений организации рабочего места для проведения гистологического исследования клеточных структур
5. Контроль освоенных умений: демонстрация практических умений преподавателю на оценку.
6. Подведение итога занятия.
7. Домашнее задание

**Оснащение занятия:**

**Материально-техническое оснащение:**

- термостат
- микроскопы
- наборы микропрепаратов тканей и органов
- лабораторная посуда (банки с притертыми пробками и бюксы различного объема, колбы конические и круглодонные, чашки Петри, воронки, пипетки и проч.)
- инструменты (скальпели, ножницы, пинцеты, препаровальные иглы, гистологические шпатели, металлические формы для заливки материала, кассеты для проводки материала, карандаш по стеклу, предметные и покровные стекла, кисточки, нитки, плотная бумага, фильтровальная бумага, деревянные кубики и проч.)

- микротомсанный
- микротомные ножи
- термостол
- электроплита
- Химические реактивы (формалин, хлороформ, эфир для наркоза, дистиллированная вода, ксилол или его аналоги, канадский (пихтовый) бальзам или полистирол, этанол, парафин, пчелиный воск, ЛУК)
- гистологические, гистохимические и цитологические красители (гематоксилины Майера, Вейгерта, Карацци, эозин, азур, пикриновая кислота, фуксин, краска Романовского-Гимзы, толуидиновый синий, реактив Шиффа, альциановый синий, метиленовый синий, конго красный, нейтральный красный, азотнокислое серебро, ферроцианид калия, соляная кислота, сернистая вода и проч.)

#### **Оснащение занятия:**

Материально-техническое оснащение: автоклав, микроскоп, термостат электрический, бактерицидная лампа, бикс медицинский, планшет, дозатор, шпатель бактериологический, петля бактериологическая, лабораторная посуда.

Учебно-методическое оснащение: презентация, методические рекомендации к практическому занятию, симуляционное оборудование.

Программное обеспечение: Microsoft Office Word

**Учебно-методическая литература:** основная, дополнительная литература, Интернет-ресурсы

#### **Краткие теоретические и учебно-методические материалы по теме практической работы**

#### **1. Готовить материал, реактивы, лабораторную посуду и аппаратуру для гистологического исследования**

##### **1. Подготовка материала для гистологического исследования:**

- Проверить целостность упаковки, в которой находится биологический материал:
  - целостность бечевки, которой завязан материал;
  - наличие (целостность) пломбы
- Сверить данные, в направлении с доставленным материалом
- Зарегистрировать в журнале доставленный материал

##### **2. Подготовка реактивов и лабораторной посуды для гистологической обработки тканей и органов:**

- Подготовить мерные колбы и цилиндры для приготовления рабочих растворов реактивов
- Подготовить емкость (бутыль с завинчивающейся крышкой) для хранения готового раствора формалина
- Подготовить широкогорлые емкости объемом не менее 0,5литра для проведения проводки материала по батарее спиртов восходящей концентрации
- Подготовить рабочий раствор формалина для фиксации кусочков органов и тканей
- Визуально проверить качество спиртов для проводки (на предмет отсутствия мути и изменения цвета. При помутнении растворов спиртов заменить их на свежеприготовленный раствор спирта соответствующей концентрации)
- Проверить качество растворов красителей (гематоксилина и эозина). При изменении цвета или выпадении осадка, заменить на свежий раствор соответствующего красителя

##### **3. Подготовка аппаратуры для проведения гистологического исследования:**

- Включить термостат и выставить температуру 56-58<sup>0</sup>С для расплавления парафина (при температуре, ниже указанной парафин не расплавится, при более высокой температуре - закипит)
- Подготовить санный микротом к приготовлению срезов: почистить от остатков парафина (при их наличии), заточить или править микротомный нож
- Подготовить микроскоп для микроскопического исследования гистопрепаратов

## **2. Проводить гистологическую обработку тканей и готовить микропрепараты для исследований**

1. Иссечение кусочков органов размером не более 1 см:
  - паренхиматозные органы иссекают следующим образом:
    - при наличии капсулы органа, чтобы попала и капсула, и сам орган
    - если орган имеет в своем строении корковое и мозговое вещество, то иссекают так, чтобы в кусочек попало и корковое и мозговое вещество
    - при наличии видимых изменений в структуре органа, иссекают здоровую часть на границе с измененной
  - полые мышечные органы и кожу иссекают таким образом, чтобы попали все слои органа
  - материал, имеющий размеры менее 1 см, дополнительного иссечения не требует.
2. Фиксация кусочков в растворе формалина 24 часа.
3. Промывка материала под проточной водой (1-2суток)
4. Проводка материала по батарее спиртов восходящей концентрации (обезвоживание).
5. Пропитывание и заливка материала в застывающие среды (уплотнение материала)
6. Подготовка предметных стекол (обработка адгезивной жидкостью- смесью яичного белка с глицерином)
7. Изготовление среза на микротоме и наклеивание среза на предметное стекло
8. Депарафинизация срезов
9. Окрашивание среза для обзорного метода исследования (окраска гематоксилином и эозином)
10. Заключение среза в оптически прозрачную среду

## **3. Оценивать качество приготовленных гистологических препаратов**

1. Срез должен быть тонким (2-5мкм) для изучения структур в проходящем свете
2. Срез должен быть контрастным (тканевые и клеточные элементы должны быть хорошо прокрашены)
3. Тканевые и клеточные элементы не должны иметь признаков аутолиза (кусочек органа или ткани должен быть хорошо фиксирован)
4. Гистологический препарат после исследования должен подлежать архивному хранению

## **4. Архивировать оставшийся от исследования материал**

1. Снять скальпелем материал с блока, завернуть в марлевую салфетку и индивидуальный пакет и присвоить номер исследования, указать дату
2. Поместить в выбранную тару парафиновый блок
3. К таре прикрепить бирку с датой и номером исследования
4. Поместить на специальный промаркированный стеллаж

## **Изучение морфофункциональных особенностей клеточных структур**

### **Строение микроскопа**

Механические части: штатив (состоит из колонки и основания), макровинт, микровинт, шарнир, предметный столик, револьвер, тубус (бинокулярная насадка).

Оптические части и осветительная система: зеркало (осветитель), конденсор, объективы (8,10,40 – сухие, 90, 100 – иммерсионный), окуляр.

Правила работы с сухим объективом

1. Поднять тубус с помощью макровинта;
2. Убрать марлю;
3. Включить осветитель;
4. Взять предметное стекло и установить на предметном столике, закрепив лапками;
5. Установить макровинт, чтобы появилось изображение;
6. Микровинтом добиться четкого изображения.

### **Изучение строения клеток**

#### **1. Изучение строения призматических клеток.**

Объект изучения – Высокий призматический эпителий извитых канальцев почки (окр. гематоксилин-эозин).

Программа действий – На малом увеличении найти, на большом увеличении зарисовать клетки цилиндрической формы (1), цитоплазму (2), ядро (3).

Ориентировочные основы действий – На препарате найти просвет канальца почки, ограниченный розовой полоской из клеток, лежащих в один ряд и имеющих цилиндрическую или кубическую форму. Цитоплазма розовая, ядра клеток темно-фиолетовые лежат ближе к базальной части клеток.

#### **2. Рассмотреть строение клеток с различной формой ядра.**

Объект изучения – Препарат мазок крови (окр. по Романовскому-Гимзе)

Программа действий – На большом увеличении найти клетки с округлой формой ядра (1), клетки с сегментированной формой (2), клетки с бобовидной формой ядра (3).

Ориентировочные основы действий – Среди форменных элементов крови найти клетки с розовой цитоплазмой и фиолетовыми ядрами округлой, бобовидной и дольчатой формы.

#### **3. Изучить строение симпласта.**

Объект изучения – Препарат поперечнополосатой мышечной ткани (окр. гематоксилин и эозин).

Программа действий – На малом увеличении найти и рассмотреть, на большом увеличении зарисовать и обозначить мышечные волокна (1), саркоплазму (2), сарколемму (3), ядра (4).

Ориентировочные основы действий – На препарате найти группу мышечных волокон розового цвета с продольной ориентацией. Ядра удлиненной формы располагаются по периферии волокна ближе к сарколемме. В саркоплазме видна поперечная исчерченность.

### **Типовые задания:**

#### **Симуляционное задание.**

- Изучение строения призматических клеток.
- Рассмотреть строение клеток с различной формой ядра.
- Изучить строение симпласта.

### **Проблемно-ситуационная задача.**

На препарате видны клетки кубической, призматической, округлой, веретеновидной и отросчатой формы.

*Задания для студента:*

1. Определить какая клетка из них выполняет сократительную функцию.
2. Описать клетки какой формы видны на препарате.

*Образец выполнения проблемно-ситуационного задания:*

1. Осмотр препарата клетки

2. Определение какой клетка из них выполняет сократительную функцию - клетка веретеновидной формы.
3. Описать клетки какой формы видны на препарате - клетки кубической, призматической, округлой, веретеновидной и отросчатой формы.

**Ведение учетной медицинской документации:**

1. Регистрация поступившего биологического материала в журнале (форма №185/у, №186/у, № 014-2/у)
2. Заполнение направления на судебно-гистологическое исследование объекта (форма № 180/у или № 179/у)»

**Вопросы для закрепления теоретического материала**

1. Что такое "клетка"?
2. Что такое клеточная мембрана и как она устроена?
3. Какие существуют виды межклеточных соединений?
4. Какие способы поступления веществ в клетку существуют?
5. Что такое симпласт и синцитий. Их отличия. Примеры?

**Отчетность:** выполнение практических заданий, выполнение рисунков клеток; заполнение таблиц; решение задач

**Требования к оформлению отчета по практической работе:**

Отчет по практической работе выполняется письменно как домашнее задание в свободной форме. В работе студент должен отразить весь объем полученной информации и сделать заключение на основе выводов.

**Критерии оценки практического занятия:** Оцениваются правильность и последовательность действий после усвоения каждого этапа занятия, и подводится средний итоговый балл. (Приложение 1).



**МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ К ПРАКТИЧЕСКОМУ ЗАНЯТИЮ №2**  
**Гистологическое исследование однослойных эпителиев, многослойных и железистых эпителиев**

<b>Цель:</b> формирование умений проведения гистологического исследования эпителиальной ткани		
<b>Тип занятия:</b> практическая работа		
<b>Планируемые результаты</b>	<b>Уметь</b>	<b>Знать</b>
	<ul style="list-style-type: none"> <li>- готовить материал, реактивы, лабораторную посуду и аппаратуру для гистологического исследования эпителиальных тканей;</li> <li>- проводить гистологическую обработку эпителиальных тканей и готовить микропрепараты для исследований;</li> <li>- оценивать качество приготовленных гистологических препаратов;</li> <li>- архивировать оставшийся от исследования материал;</li> <li>- оформлять учетно-отчетную документацию</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- морфофункциональную характеристику эпителиальных тканей человека.</li> <li>- правила взятия, обработки и архивирования материала для гистологического исследований;</li> <li>- критерии качества гистологических препаратов;</li> </ul>

**Ход практического занятия:**

1. Подготовка рабочего места, проверка наличия, требуемого материально – технического оснащения.
2. Совместная постановка цели занятия и планируемых результатов освоения темы.
3. Проверка домашнего задания: теоретический разбор материала по теме.
4. Формирование умений проведения обработки эпителиальных тканей для гистологического исследования и проведения гистологического исследования ЭТ.
5. Контроль освоенных умений: демонстрация практических умений преподавателю на оценку.
6. Подведение итога занятия.
7. Домашнее задание

**Оснащение занятия:**

Материально-техническое оснащение: автоклав, микроскоп, термостат электрический, бактерицидная лампа, бикс медицинский, планшет, дозатор, шпатель бактериологический, петля бактериологическая, лабораторная посуда.

Учебно-методическое оснащение: презентация, методические рекомендации к практическому занятию, симуляционное оборудование.

Программное обеспечение: Microsoft Office Word

**Учебно-методическая литература:** основная, дополнительная литература, Интернет-ресурсы

**Краткие теоретические и учебно-методические материалы по теме практической работы**

**1. Готовить материал, реактивы, лабораторную посуду и аппаратуру для гистологического исследования эпителиальных тканей**

**1. Подготовка материала для гистологического исследования:**

- Проверить целостность упаковки, в которой находится биологический материала:

- целостность бечевки, которой завязан материал;
- наличие (целостность) пломбы
- Сверить данные в направлении с доставленным материалом
- Зарегистрировать в журнале доставленный материал

## 2. Подготовка реактивов и лабораторной посуды для гистологической обработки тканей и органов:

- Подготовить мерные колбы и цилиндры для приготовления рабочих растворов реактивов
- Подготовить емкость (бутыль с завинчивающейся крышкой) для хранения готового раствора формалина
- Подготовить широкогорлые емкости объемом не менее 0,5литра для проведения проводки материала по батарее спиртов восходящей концентрации
- Подготовить рабочий раствор формалина для фиксации кусочков органов и тканей
- Визуально проверить качество спиртов для проводки (на предмет отсутствия мути и изменения цвета. При помутнении растворов спиртов заменить их на свежеприготовленный раствор спирта соответствующей концентрации)
- Проверить качество растворов красителей (гематоксилина и эозина). При изменении цвета или выпадении осадка, заменить на свежий раствор соответствующего красителя

## 3. Подготовка аппаратуры для проведения гистологического исследования:

- Включить термостат и выставить температуру 56-58<sup>0</sup>С для расплавления парафина (при температуре, ниже указанной парафин не расплавится, при более высокой температуре - закипит)
- Подготовить санный микротом к приготовлению срезов: почистить от остатков парафина (при их наличии), заточить или править микротомный нож
- Подготовить микроскоп для микроскопического исследования гистопрепаратов

## **2.Подготовить образцы эпителиальных тканей (покровного и железистого эпителиев и органов, их содержащих) к гистологической обработке**

### 1. Подготовить необходимые реактивы и красители:

- 10% раствор формалина для фиксации
- батарея спиртов восходящей концентрации
- парафин
- раствор гематоксилина и эозина
- карбол-ксилол для просветления срезов

### 2. Подготовить аппаратуру для изготовления гистопрепаратов эпителиальных тканей:

- термостат
- термостолик
- санный микротом
- микроскоп

## **Проводить гистологическую обработку эпителиальных тканей и готовить микропрепараты для исследований**

### 1. Иссечение кусочков органов размером не более 1 см:

-паренхиматозные органы иссекают следующим образом:

- при наличии капсулы органа, чтобы попала и капсула, и сам орган
- если орган имеет в своем строении корковое и мозговое вещество, то иссекают так, чтобы в кусочек попало и корковое и мозговое вещество

- при наличии видимых изменений в структуре органа, иссекают здоровую часть на границе с измененной
  - полые мышечные органы и кожу иссекают таким образом, чтобы попали все слои органа
  - материал, имеющий размеры менее 1 см, дополнительного иссечения не требует.
2. Фиксация кусочков в растворе формалина 24 часа.
  3. Промывка материала под проточной водой (1-2суток)
  4. Проводка материала по батарее спиртов восходящей концентрации (обезвоживание).
  5. Пропитывание и заливка материала в застывающие среды (уплотнение материала)
  6. Подготовка предметных стекол (обработка адгезивной жидкостью- смесью яичного белка с глицерином)
  7. Изготовление среза на микротоме и наклеивание среза на предметное стекло
  8. Депарафинизация срезов
  9. Окрашивание среза для обзорного метода исследования (окраска гематоксилином и эозином)
  10. Заключение среза в оптически прозрачную среду.

### **3.Оценивать качество приготовленных гистологических препаратов**

#### **Оценка качества приготовленных гистологических препаратов**

1. Срез должен быть тонким (не более 10 мкм) для изучения структур в проходящем свете
2. Срез должен быть контрастным (тканевые и клеточные элементы должны быть хорошо прокрашены)
3. Тканевые и клеточные элементы не должны иметь признаков аутолиза (кусочек органа или ткани должен быть хорошо фиксирован)
4. Гистологический препарат после исследования должен подлежать архивному хранению

#### **Алгоритм проведения оценки качества приготовления гистопрепарата**

1. Взять гистологический препарат и установить его на предметный столик микроскоп
2. Поднять столик под визуальным наблюдением сбоку с помощью мароквинта
3. Добиться появления изображения с помощью макровинта
4. Добиться четкости изображения с помощью микровинта
5. Просмотреть весь препарат
6. Провести оценку качества приготовления препарата:
  - качественно приготовленный гистологический препарат должен иметь толщину не более 10 мкм,
  - хорошо расправлен без образования складок и разрывов,
  - окраска среза равномерная с четким дифференцированием различных структур,
  - срезу хорошо просветлены,
  - без загрязнения срезов инородными частицами, кристаллами красителя, а также попадания пузырьков воздуха под покровное стекло

#### **Провести гистологическое исследование эпителиальных тканей с последующим описанием структур:**

- форма и размер клеток
- интенсивность окраски цитоплазмы
- наличие/отсутствие включений в цитоплазме
- форма и размер ядра
- наличие/отсутствие ядрышек
- хроматин

- базальная мембрана

### **Классификация эпителиальных тканей:**

#### **1. Покровный эпителий:**

##### **1) Однослойный**

- а) кубический
- б) цилиндрический (призматический)
- в) плоский
- г) однорядный
- д) многорядный

##### **2) Многослойный**

- а) многослойный плоский ороговевающий
- б) многослойный плоский неороговевающий
- в) переходный

#### **2. Железистый эпителий**

### **Изучение – Препарат почки**

#### **1. Рассмотреть и изучить кубический эпителий**

Объект изучения – Препарат почки (канальцы) (окр. гематоксилином и эозином)

Программа действий – На малом увеличении найти и рассмотреть кубический эпителий канальцев почек

На большом увеличении изучить, зарисовать и обозначить цитоплазму (1) кубического эпителия, ядра (2)

#### **2. Рассмотреть и изучить призматический эпителий**

Объект изучения – Препарат стенки желудка (железы собственной пластинки слизистой желудка) (окр. гематоксилином и эозином)

Программа действий – На малом увеличении найти и рассмотреть цилиндрический эпителий простых трубчатых желез собственной пластинки слизистой

На большом увеличении изучить, зарисовать и обозначить цитоплазму (1) цилиндрического эпителия, ядра (2)

#### **3. Рассмотреть и изучить многослойный плоский ороговевающий эпителий**

Объект изучения – Препарат кожи (эпидермис кожи) (окр. гематоксилином и эозином)

Программа действий – На малом увеличении найти и рассмотреть слои многослойного плоского ороговевающего эпителия

На большом увеличении изучить, зарисовать и обозначить базальную мембрану (1), базальный слой (2), шиповатый слой (3), зернистый (4), блестящий (5), роговой слой (6), цитоплазму и ядра клеток

### **4. Архивировать оставшийся от исследования материал**

#### **Архивация оставшегося от исследования материала**

1. Снять скальпелем материал с блока, завернуть в марлевую салфетку и индивидуальный пакет и присвоить номер исследования, указать дату
2. Поместить в выбранную тару парафиновый блок
3. К таре прикрепить бирку с датой и номером исследования
4. Поместить на специальный промаркированный стеллаж

### **Хранение, порядок выдачи и уничтожения архивного материала в судебно - гистологическом отделении**

1. Гистологический архив формируется в судебно - гистологическом отделении из микропрепаратов, блоков внутренних органов и тканей (при парафиновой заливке). Ответственность за сохранность архива возлагается на заведующего судебно - гистологическим отделением.

## 2. Гистологические препараты хранят:

- 1) тканевые образцы в 10%-ном растворе нейтрального формалина при наличии опухолевого или опухолеподобного процесса - не менее одного года с даты оформления Протокола, в прочих случаях - не менее чем до окончания оформления Протокола;
- 2) микропрепараты и тканевые образцы в парафиновых блоках - в течение срока хранения медицинской документации пациента;
- 3) Направления и Протоколы - в течение срока хранения медицинской документации пациента.
- 4) Биопсийный и операционный материал в течении 20 лет.
- 5) Гистологические препараты опухолей - бессрочно
- 6) Аутопсийный материал - в течении 3 лет. Уничтожается после истечения срока хранения без составления акта

В случаях порчи гистологического архива или его непригодности к дальнейшему хранению составляют соответствующий акт.

3. Объекты на блоках, залитые в целлоидин, а также оставшиеся после замораживания кусочки сохраняют до окончания судебно - гистологического исследования.

4. Влажный архив кусочков внутренних органов и тканей хранят в морге в 10% растворе формалина в течение одного года.

5. Городские, районные и межрайонные судебно - медицинские эксперты, на базе подразделений которых развернуты судебно - гистологические отделения, обязаны обеспечить сохранность кусочков, блоков и изготовленных из них гистологических препаратов в пределах сроков, предусмотренных настоящими Правилами, и несут за это персональную ответственность.

6. Выдачу из отделения архивного материала до истечения сроков их хранения производят по письменному требованию лица, назначившего экспертизу (исследование), либо руководителя экспертного учреждения или заведующего отделом судебно - медицинской экспертизы трупов, о чем делают запись в "Журнале регистрации материалов и документов в гистологическом отделении". Материал выдают в упакованном и опечатанном виде с сопроводительным письмом.

7. Регистрационный "Журнал" и копии "Заключений эксперта" и "Актов судебно - гистологического исследования" хранят в судебно - гистологическом отделении в течение трех лет. По истечении сроков хранения названные документы передают под расписку в канцелярию Бюро судебно - медицинской экспертизы, где сохраняют как архивный материал.

Оставшийся после исследования материал подготовить для архивного хранения:

- Снять скальпелем материал с блока, завернуть в марлевую салфетку и индивидуальный пакет и присвоить номер исследования, указать дату.
- Поместить в выбранную тару парафиновый блок
- К таре прикрепить бирку с датой и номером исследования
- Поместить на специальный промаркированный стеллаж

## 5. Оформление учетно-отчетной документации

### 1. Регистрация поступившего биологического материала в журнале (форма №185/у, №186/у, № 014-2/у)

1. Подготовить журнал (форма №185/у или № 186/у)
2. Проверить целостность упаковки, в которой находится биологический материал:
  - целостность бечевки, которой завязан материал;
  - наличие (целостность) пломбы
3. Взять направление на исследование и сверить данные в направлении с доставленным материалом

4. Зарегистрировать в журнале форма № 186/у «Журнал исследования трупной крови в лаборатории», указать данные:
  - присвоить порядковый номер;
  - Ф.И.О., возраст трупа, от которого взят материал;
  - фамилия эксперта, направившего материал;
  - № акта вскрытия;
  - дата вскрытия;
  - дата поступления материала в отделение;
  - упаковка, в которой поступил материал;
5. Зарегистрировать в журнале форма № 185/у «Журнал регистрации мазков и тампонов», указать данные:
  - присвоить порядковый номер
  - фамилия эксперта. направившего мазок, тампон;
  - № и дата направления
  - дата поступления
  - в каком виде поступил мазок, тампон
  - принадлежность мазка, тампона
  - возраст
6. Зарегистрировать в журнале форма № 014-2/у«Журнал регистрации поступления биопсийного (операционного) материала и выдачи результатов прижизненных патолого-анатомических исследований» указать данные:
  - присвоить порядковый номер
  - наименование направившей МО (структурное подразделение)
  - дата и время поступления (число, месяц, год, ч, мин) материала
  - Ф.И.О. пациента
  - дата рождения
  - порядковый номер флакона
  - количество объектов
  - Ф.И.О врача-патологоанатома
  - дата выдачи
  - расписка в получении

**2. Заполнение направления на судебно-гистологическое исследование объекта (форма № 180/у или № 179/у)»**

1. Подготовить журнал (форма №180/у или № 179/у)
2. Заполнить соответствующие графы направления:
  - подразделение, куда направляется объект
  - Ф.И.О. возраст (год рождения) и пол умершего
  - дата смерти
  - номер и дата акта судебно-медицинской экспертизы трупа
  - общее количество и перечень объектов, направленных на исследование
  - опечатывание объекта и формы опечатывания
  - краткие обстоятельства дела
  - основные данные исследования трупа и установленный судебно-медицинский диагноз
  - вопросы, подлежащие разрешению экспертом
  - дата заполнения направления
  - фамилия, инициалы и подпись судмедэксперта, направившего материала на исследование
3. Сделать надпись на направлении «Биологическая опасность» при направлении объектов от инфицированных трупов (туберкулез, гепатит, ВИЧ и др.)

### 3. Регистрация патологоанатомического заключения в журнал регистрации

1. Взять заполненный врачом протокол прижизненного патологоанатомического исследования биопсийного (операционного) материала
2. Взять журнал регистрации патологоанатомического исследования биопсийного (операционного) материала
3. Перенести все данные из протокола в журнал регистрации
4. Заполнить графы журнала согласно требованиям,
5. Поставить подпись, Ф.И.О. заполнявшего, дату

Образец

Приложение N 2 к приказу Министерства здравоохранения РФ от 24 марта 2016 г. N 179н

Код формы по ОКУД \_\_\_\_\_  
Код учреждения по ОКПО:

ШТАМП ОРГАНИЗАЦИИ

Медицинская документация  
Учетная форма №014/у  
Утверждена приказом МЗ РФ  
№179н от 24.03.2016г.

### НАПРАВЛЕНИЕ НА ПРИЖИЗНЕННОЕ ПАТОЛОГОАНАТОМИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ БИОПСИЙНОГО (ОПЕРАЦИОННОГО) МАТЕРИАЛА

1 Учреждение и отделение, направившее биопсийный (операционный) материал \_\_\_\_\_

2. Фамилия, имя, отчество (при наличии) пациента \_\_\_\_\_

3. Пол: муж. - 1, жен. - 2, 4. Дата рождения: число \_\_\_\_\_ месяц \_\_\_\_\_ год \_\_\_\_\_

5. Полис ОМС (рамках оказания платных услуг не заполняется) \_\_\_\_\_

6. СНИЛС (рамках оказания платных услуг не заполняется) \_\_\_\_\_

7. Место регистрации: \_\_\_\_\_ тел. \_\_\_\_\_

8. Местность: городская - 1, сельская - 2.

9. Диагноз заболевания (состояния), выполненная операция \_\_\_\_\_

10. Код заболевания по МКБ-10 \_\_\_\_\_

11. Задача прижизненного патологоанатомического исследования биопсийного (операционного) материала \_\_\_\_\_

12. Дополнительные клинические сведения (основные симптомы, оперативное или гормональное, или лучевое лечение, результаты инструментальных и лабораторных исследований)

13. Результаты предыдущих прижизненных патологоанатомических исследований (наименование медицинской организации, дата, регистрационный номер, заключение)

14. Проведенное предоперационное лечение (вид лечения, его сроки, дозировка лекарственного препарата, доза облучения и т.п.)

**15. Способ получения биопсийного (операционного) материала (подчеркнуть) :**  
эндоскопическая биопсия - 1, пункционная, биопсия - 2, аспирационная биопсия - 3, инцизионная биопсия - 4, операционная биопсия - 5, операционный материал - 6, самопроизвольно отделившиеся фрагменты тканей - 7.

**16. Дата забора материала**

время \_\_\_\_\_

**ПРИ НАПРАВЛЕНИИ СОСКОБА ИЗ ПОЛОСТИ МАТКИ УКАЗАТЬ:**

1. Дата диагностического исследования \_\_\_\_\_
2. С какого возраста месячные \_\_\_\_\_
3. Менструальный цикл через \_\_\_\_\_ по \_\_\_\_\_ дней
4. Последняя нормальная менструация началась \_\_\_\_\_ закончилась \_\_\_\_\_
5. Характер нарушения менструальной функции \_\_\_\_\_
6. При наличии кровотечения: дата его начала (в срок ожидавшейся менструации, раньше срока, позднее) \_\_\_\_\_
7. При наличии менопауза или аменореи- ее длительность \_\_\_\_\_
8. Проводилась или нет гормональная терапия. Какими препаратами? \_\_\_\_\_
9. Соскоб из цервикального канала, полости матки (подчеркнуть)

**17. Материал помещен в 10%-ный раствор нейтрального формалина (да / нет)**

**18. Маркировка биопсийного (операционного) материала (расшифровка маркировки флаконов):**

Номер флакона	Локализация патологического процесса (орган, топография)	Характер патологического процесса (эрозия, язва, полип, пятно, узел, внешне неизменная ткань, отношение к окружающим тканям)	Количество объектов
1			
2			
3			
4			
5			

**19. Фамилия, инициалы врача**

**20. Дата направления:** \_\_\_\_\_ **подпись** \_\_\_\_\_  
телефон \_\_\_\_\_

Образец:

Приложение N 3 к приказу Министерства здравоохранения РФ от 24 марта 2016 г. N 179н  
Наименование медицинской организации

Код формы по ОКУД \_\_\_\_\_  
Код учреждения по ОКПО \_\_\_\_\_  
Медицинская документация



**ПРОТОКОЛ ПРИЖИЗНЕННОГО ПАТОЛОГОАНАТОМИЧЕСКОГО  
ИССЛЕДОВАНИЯ БИОПСИЙНОГО (ОПЕРАЦИОННОГО) МАТЕРИАЛА**

- 1 Отделение, направившее биопсийный (операционный) материал \_\_\_\_\_  
2. Фамилия, имя, отчество (при наличии) пациента \_\_\_\_\_
- 
3. Пол: муж. - 1, жен. -2, 4. Дата рождения: число \_ месяц \_ год \_\_\_\_  
5. Полис ОМС \_\_\_\_\_ 6. СНИЛС \_\_\_\_\_
7. Место регистрации: \_\_\_\_\_  
тел. \_\_\_\_\_
8. Местность: городская - 1, сельская - 2.  
9. Диагноз заболевания (состояния) по данным направления \_\_\_\_\_  
10. Код по МКБ\* \_\_\_\_\_  
11. Дата забора материала поданным направления \_\_\_\_\_ время \_\_\_\_\_  
12. Материал доставлен в 10%-ный раствор нейтрального формалина (да/нет)  
\_\_\_\_\_ загрязнен (да/нет) \_\_\_\_\_  
13. Дата поступления биопсийного (операционного) материала: дата, время  
14. Отметка о сохранности упаковки \_\_\_\_\_  
15. Дата регистрации биопсийного (операционного) материала: дата \_\_\_\_\_,  
время \_\_\_\_\_  
16. Регистрационный номер \_\_\_\_\_  
17. Медицинские услуги: код \_\_, количество \_ 18. Категория сложности (1-5)  
код \_\_, количество \_  
код \_\_, количество \_  
19. Вырезка проводилась: дата \_\_\_\_\_ время \_\_\_\_\_  
20. В проводку взято: \_\_ объектов  
21. Назначенные окраски (реакции, определения): \_\_\_\_\_
- 
22. Макроскопическое описание: \_\_\_\_\_
- 
23. Микроскопическое описание: \_\_\_\_\_
- 
24. Заключение: 25. Код по МКБ \_\_\_\_\_
- 
26. Комментарии к заключению и рекомендации: \_\_\_\_\_
- 
27. Прижизненное патологоанатомическое исследование выполнили:  
Врач-патологоанатом \_\_\_\_\_  
(фамилия, инициалы) М.П. (подпись)  
Врач-специалист,  
осуществляющий консультирование \_\_\_\_\_  
(фамилия, инициалы) М.П. (подпись)
28. Дата проведения прижизненного патологоанатомического исследования:  
" " \_\_\_\_\_ 20\_\_ г.

Образец

Приложение N 4 к приказу Министерства здравоохранения РФ от 24 марта 2016 г. N 179н

**Журнал регистрации поступления биопсийного (операционного) материала и выдачи результатов прижизненных патологоанатомических исследований**

Начат " \_\_ " \_\_\_\_\_ 20\_\_ г. Окончен " \_\_ " \_\_\_\_\_ 20\_\_ г.

форма N 014-2/у

Региональный №	Наименование направленной медицинской организации (структурного подразделения)	Дата и время поступления (число, месяц, год, ч, мин) материала	Ф.И.О пациента	Дата рождения	Порядковый номер флакона	Количество объектов	Ф.И.О врача патологоанатома	Дата выдачи	Расписка в получении
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10

Направление на цитологическое диагностическое исследование и результат исследования  
Министерство здравоохранения  
Российской Федерации

Медицинская документация  
Форма N 203/у-02  
Утверждена приказом Минздрава России  
от 24.04.2003 N 174

Наименование учреждения \_\_\_\_\_

**НАПРАВЛЕНИЕ**

**на цитологическое диагностическое исследование и результат исследования  
ПЕРВИЧНОПОВТОРНО(подчеркнуть)**

1. Отделение \_\_\_\_\_  
История болезни N \_\_\_\_\_  
2. Лечащий врач (ФИО, тел.) \_\_\_\_\_  
3. ФИО больного (полностью) \_\_\_\_\_  
4. Дата рождения \_\_\_\_\_ Пол: м ( ), ж ( )  
5. Страховая компания \_\_\_\_\_ N страхового полиса \_\_\_\_\_ Серия \_\_\_\_\_  
6. Диагноз (при направлении на цитологическое исследование) \_\_\_\_\_

Код по МКБ-10 \_\_\_\_\_

7. Краткий анамнез и важнейшие клинические симптомы:  
8. Данные инструментального обследования (рентгенологического, УЗИ, КТ, эндоскопического и др.)  
9. Проведенное лечение (оперативное, лучевое, химиотерапия; доза, дата начала и окончания лечения) \*  
10. Локализация процесса и способ получения материала \_\_\_\_\_  
11. Объем и макроскопическое описание биологического материала, маркировка препаратов  
12. Дата взятия биологического материала  
ФИО врача, направившего материал  
Подпись врача  
13. Объем и макроскопическое описание доставленного биологического материала (заполняют в лаборатории):

(Оборотная сторона)

Наименование цитологической  
лаборатории, телефон

- Результат цитологического исследования N \_\_\_\_\_  
Дата поступления материала \_\_\_\_\_  
Дата проведения исследования \_\_\_\_\_  
ФИО врача, проводившего исследование \_\_\_\_\_  
Подпись \_\_\_\_\_

**Типовые задания:**

**Симуляционное задание.**

- Описать типы покровного эпителия.
- Определить кубический эпителий, где он находится в препаратах почки.
- Дан препарат почки, определить его окраску.

**Проблемно-ситуационная задача.**

Дан препарат почки (окраска гематоксилин и эозин).

*Задания для студента:*

1. Найти и определить кубический эпителий.

2. Описать клетки какой формы Вы видите (высоту).
3. Охарактеризуйте расположение структур и окрас препарата.

*Образец выполнения проблемно-ситуационного задания:*

1. Осмотр препарата почки
2. Описать клетки какой формы Вы видите - клетки кубической формы (высота клеток примерно равна ширине), ядра округлые, расположены в центре клеток.
3. Охарактеризовать расположение структур и окрас препарата - расположены в центре клеток, окрашены базофильно (фиолетовый цвет).

#### **Ведение учетной медицинской документации:**

1. Регистрация поступившего биологического материала в журнале (форма №185/у, №186/у, № 014-2/у)
2. Заполнение направления на судебно-гистологическое исследование объекта (форма № 180/у или № 179/у)»
3. Журнал регистрации поступления биопсийного (операционного) материала и выдачи результатов прижизненных патологоанатомических исследований форма N 014-2/у

#### **Вопросы для закрепления теоретического материала**

1. Эпителиальные ткани, определение и общая характеристика?
2. Классификация эпителиальных тканей?
3. Виды покровного эпителия и его локализация?
4. Железистый эпителий; два типа желез?
5. Способы выведения секрета из клетки?

**Отчетность:** выполнение практических заданий, выполнение рисунков клеток; решение задач

#### **Требования к оформлению отчета по практической работе**

Отчет по практической работе выполняется письменно как домашнее задание в свободной форме. В работе студент должен отразить весь объем полученной информации и сделать заключение на основе выводов.

**Критерии оценки практического занятия:** Оцениваются правильность и последовательность действий после усвоения каждого этапа занятия, и подводится средний итоговый балл. (Приложение 1).

**МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ К ПРАКТИЧЕСКОМУ ЗАНЯТИЮ №3**  
**Гистологическое исследование соединительных тканей**

<b>Цель:</b> формирование умений гистологической обработки собственно соединительных тканей и соединительных тканей со специальными свойствами для микроскопического исследования		
<b>Тип занятия:</b> практическая работа		
<b>Планируемые результаты</b>	<b>Уметь</b>	<b>Знать</b>
	<ul style="list-style-type: none"> <li>- готовить материал, реактивы, готовить материал, реактивы, лабораторную посуду и аппаратуру для гистологического исследования</li> <li>-проводить гистологическую обработку соединительных тканей</li> <li>-готовить микропрепараты для исследований</li> <li>-оценивать качество приготовленных гистологических препаратов</li> <li>-регистрировать гистологические исследования в виде рисунка</li> <li>-архивировать оставшийся от исследования материал</li> <li>-оформлять учетно-отчетную документацию</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- морфофункциональную характеристику тканей и органов человека.</li> <li>- правила взятия, обработки и архивирования материала для гистологического исследований;</li> <li>- критерии качества гистологических препаратов;</li> </ul>

**Ход практического занятия:**

1. Подготовка рабочего места, проверка наличия, требуемого материально – технического оснащения.
2. Совместная постановка цели занятия и планируемых результатов освоения темы.
3. Проверка домашнего задания: теоретический разбор материала по теме.
4. Формирование умений готовить рабочее место (материал, реактивы, лабораторную посуду и оборудования) для проведения гистологического исследования скелетных соединительных тканей, дифференцировать в гистопрепаратах виды скелетных соединительных тканей, выявлять их структурные элементы, оформлять учетно-отчетную документацию, проводить утилизацию отработанного материала, дезинфекцию и стерилизацию лабораторной посуды, инструментария и средств защиты
5. Контроль освоенных умений: демонстрация практических умений преподавателю на оценку.
6. Подведение итога занятия.
7. Домашнее задание

**Оснащение занятия:**

Материально-техническое оснащение: автоклав, микроскоп, термостат электрический, бактерицидная лампа, бикс медицинский, планшет, дозатор, шпатель бактериологический, петля бактериологическая, лабораторная посуда.

Учебно-методическое оснащение: презентация, методические рекомендации к практическому занятию, симуляционное оборудование.

Программное обеспечение: Microsoft Office Word

**Учебно-методическая литература:** основная, дополнительная литература, Интернет-ресурсы

## **Краткие теоретические и учебно-методические материалы по теме практической работы**

### **1. Готовить материал, реактивы, лабораторную посуду и аппаратуру для гистологического исследования скелетных соединительных тканей**

#### **Подготовка материала, реактивов, лабораторной посуды и аппаратуры для гистологического исследования**

##### **1. Подготовка материала для гистологического исследования:**

- Проверить целостность упаковки, в которой находится биологический материал:
  - целостность бечевки, которой завязан материал;
  - наличие (целостность) пломбы
- Сверить данные в направлении с доставленным материалом
- Зарегистрировать в журнале доставленный материал

##### **2. Подготовка реактивов и лабораторной посуды для гистологической обработки тканей и органов:**

- Подготовить мерные колбы и цилиндры для приготовления рабочих растворов реактивов
- Подготовить емкость (бутыль с завинчивающейся крышкой) для хранения готового раствора формалина
- Подготовить широкогорлые емкости объемом не менее 0,5литра для проведения проводки материала по батарее спиртов восходящей концентрации
- Подготовить рабочий раствор формалина для фиксации кусочков органов и тканей
- Визуально проверить качество спиртов для проводки (на предмет отсутствия мути и изменения цвета. При помутнении растворов спиртов заменить их на свежеприготовленный раствор спирта соответствующей концентрации)
- Проверить качество растворов красителей (гематоксилина и эозина). При изменении цвета или выпадении осадка, заменить на свежий раствор соответствующего красителя

##### **3. Подготовка аппаратуры для проведения гистологического исследования:**

- Включить термостат и выставить температуру 56-58<sup>0</sup>С для расплавления парафина (при температуре, ниже указанной парафин не расплавится, при более высокой температуре - закипит)
- Подготовить санный микротом к приготовлению срезов: почистить от остатков парафина (при их наличии), заточить или править микротомный нож
- Подготовить микроскоп для микроскопического исследования гистопрепаратов

#### **Подготовка материалов:**

1. Подготовить микроскоп (включить в сеть, настроить)
2. Подготовить необходимые гистологические препараты:
  - хрящевая ткань (гиалиновая, эластическая, волокнистая)
  - костная ткань (ретикулофиброзная, пластинчатая)

#### **Скелетные соединительные ткани:**

##### **1. Хрящевая**

##### **Клетки:**

- хондроциты (имеют округлую или овальную форму, они расположены в особых полостях (лакунах), вырабатывают все компоненты межклеточного вещества)

- хондробласты (Уплощенная форма клеток, цитоплазма базофильная, синтезируют межклеточное вещество хряща, а также способны к размножению, они обеспечивают рост хряща)

Межклеточное вещество:

- аморфное вещество
- волокна:
  - а) коллагеновые
  - б) эластические

## 2. Костная ткань:

Клетки:

- остециты (зрелые, неспособные к делению отростчатые костные клетки, имеющие веретенообразную форму. Они лежат в костных полостях (лакунах), от которых отходят костные каналы, содержащие отростки остецитов)
- остеобласты (Остеобласты являются молодыми клетками, они образуются за счет росткового (глубокого) слоя надкостницы)
- остеокласты (крупные многоядерные клетки, которые разрушают костную ткань.)

Межклеточное вещество:

- неорганические соединения (фосфорнокислые и углекислые соли кальция)
- органическое вещество (коллагеновые волокна (оссеиновые) и межклеточное вещество (аморфная склеивающая масса - оссеомукоид)

### **1. Рассмотреть и изучить препараты хрящевой ткани**

Объект изучения – Препарат трахеи (гиалиновая хрящевая ткань) (окр. гематоксилином и эозином)

Программа действий – На малом увеличении найти и рассмотреть изогенные группы

На большом увеличении изучить, зарисовать и обозначить хондроциты (1), хондробласты (2), межклеточное вещество: аморфное вещество (3), волокна (4)

### **2. Рассмотреть и изучить костной ткани**

Объект изучения – Препарат пластинчатой кости (окр. гематоксилином и эозином)

Программа действий – На малом увеличении найти и рассмотреть остеон, систему вставочных пластинок, спайную линию

На большом увеличении изучить, зарисовать и обозначить остециты (1), остеобласты (2), остеокласты (3), канал остеона (4), костные лакуны (5)

### **2. Оформлять учетно-отчетную документацию**

**Регистрация поступившего биологического материала в журнале (форма №185/у, №186/у, № 014-2/у)**

1. Подготовить журнал (форма №185/у или № 186/у)
2. Проверить целостность упаковки, в которой находится биологический материал:
  - целостность бечевки, которой завязан материал;
  - наличие (целостность) пломбы
3. Взять направление на исследование и сверить данные в направлении с доставленным материалом
4. Зарегистрировать в журнале форма № 186/у «Журнал исследования трупной крови в лаборатории», указать данные:
  - присвоить порядковый номер;
  - Ф.И.О., возраст трупа, от которого взят материал;
  - фамилия эксперта, направившего материал;
  - № акта вскрытия;
  - дата вскрытия;
  - дата поступления материала в отделение;

- упаковка, в которой поступил материал;
- 5. Зарегистрировать в журнале форма № 185/у «Журнал регистрации мазков и тампонов», указать данные:
  - присвоить порядковый номер
  - фамилия эксперта, направившего мазок, тампон;
  - № и дата направления
  - дата поступления\*
  - в каком виде поступил мазок, тампон
  - принадлежность мазка, тампона
  - возраст
- 6. Зарегистрировать в журнале форма № 014-2/у «Журнал регистрации поступления биопсийного (операционного) материала и выдачи результатов прижизненных патолого-анатомических исследований» указать данные:
  - присвоить порядковый номер
  - наименование направившей МО (структурное подразделение)
  - дата и время поступления (число, месяц, год, ч, мин) материала
  - Ф.И.О. пациента
  - дата рождения
  - порядковый номер флакона
  - количество объектов
  - Ф.И.О. врача-патологоанатома
  - дата выдачи
  - расписка в получении
- Зарегистрировать заключение в журнале регистрации

#### **Регистрация патологоанатомического заключения в журнал регистрации**

1. Взять заполненный врачом протокол прижизненного патологоанатомического исследования биопсийного (операционного) материала
  2. Взять журнал регистрации патологоанатомического исследования биопсийного (операционного) материала
  3. Перенести все данные из протокола в журнал регистрации
  4. Заполнить графы журнала согласно требованиям,
  5. Поставить подпись, Ф.И.О. заполнявшего, дату
- 3. Проводить утилизацию отработанного материала, дезинфекцию и стерилизацию использованной лабораторной посуды, инструментария, средств защиты**
- Приготовление дезинфицирующего раствора
  - Сбор и утилизация отходов (отработанного материала)
  - Дезинфекция лабораторной посуды, инструментария, средств защиты
  - Предстерилизационная очистка лабораторной посуды и инструментария

#### **Типовые задания:**

##### **Симуляционное задание.**

- Дан препарат (срез желудка) определить и охарактеризовать окраску препарата
- Дать классификацию желез по способу выделения секрета из клеток.
- Дать характеристику экзокриной и эндокринной желез

##### **Проблемно-ситуационная задача.**

На препарате представлены две железы. Одна имеет выводной проток и концевой отдел. Другая состоит из концевого отдела, окруженного густой сетью капилляров.

*Задания для студента:*

1. Проведите осмотр препарата оцените состояние.



2. Определите количество представленных желёз на препарате.
3. К какому типу относятся эти железы.

*Образец выполнения проблемно-ситуационного задания:*

1. Осмотр препарата оценить состояние - на препарате представлены железы с протоками и отделами
2. Количество представленных желёз на препарате - две железы
3. К какому типу относятся эти железы - 1) экзокринная; 2) эндокринная

**Ведение учетной медицинской документации:**

1. Регистрация поступившего биологического материала в журнале (форма №185/у, №186/у, № 014-2/у)
2. Заполнение направления на судебно-гистологическое исследование объекта (форма № 180/у или № 179/у)»
3. Журнал регистрации поступления биопсийного (операционного) материала и выдачи результатов прижизненных патологоанатомических исследований форма N 014-2/у.

**Вопросы для закрепления теоретического материала**

1. Укажите местонахождение соединительных тканей в организме?
2. Назовите общий принцип строения соединительной ткани?
3. Перечислите функции соединительной ткани?
4. Приведите классификацию соединительной ткани?
5. Дайте характеристику рыхлой волокнистой соединительной ткани. Назовите виды волокон межклеточного вещества?

**Отчетность:** выполнение практических заданий, выполнение рисунков клеток; заполнение таблицы, решение ситуационных задач.

**Требования к оформлению отчета по практической работе:**

Отчет по практической работе выполняется письменно как домашнее задание в свободной форме. В работе студент должен отразить весь объем полученной информации и сделать заключение на основе выводов.

**Критерии оценки практического занятия:** Оцениваются правильность и последовательность действий после усвоения каждого этапа занятия, и подводится средний итоговый балл. (Приложение 1).

**МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ К ПРАКТИЧЕСКОМУ ЗАНЯТИЮ №4**  
**Гистологическое исследование крови**

<b>Цель:</b> формирование умений микроскопировать мазки крови с иммерсией, выявлять и обозначать форменные элементы крови		
<b>Тип занятия:</b> практическая работа		
<b>Планируемые результаты</b>	<b>Уметь</b>	<b>Знать</b>
	<ul style="list-style-type: none"> <li>- готовить материал, реактивы, лабораторную посуду и аппаратуру для гистологического исследования</li> <li>- проводить гистологическую обработку крови</li> <li>- оценивать качество приготовленных гистологических препаратов</li> <li>- регистрировать гистологические исследования в виде рисунка</li> <li>- архивировать оставшийся от исследования материал</li> <li>- оформлять учетно-отчетную документацию</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- морфофункциональную характеристику тканей и органов человека.</li> <li>- правила взятия, обработки и архивирования материала для гистологического исследований;</li> <li>- критерии качества гистологических препаратов;</li> </ul>

**Ход практического занятия:**

1. Подготовка рабочего места, проверка наличия, требуемого материально – технического оснащения.
2. Совместная постановка цели занятия и планируемых результатов освоения темы.
3. Проверка домашнего задания: теоретический разбор материала по теме.
4. Формирование умений готовить рабочее место (материал, реактивы, лабораторную посуду и оборудования) для проведения микроскопического исследования крови, выявлять и дифференцировать в препаратах форменные элементы крови, оформлять учетно-отчетную документацию, проводить утилизацию отработанного материала, дезинфекцию и стерилизацию лабораторной посуды, инструментария и средств защиты
5. Контроль освоенных умений: демонстрация практических умений преподавателю на оценку.
6. Подведение итога занятия.
7. Домашнее задание

**Оснащение занятия:**

Материально-техническое оснащение: автоклав, микроскоп, термостат электрический, бактерицидная лампа, бикс медицинский, планшет, дозатор, шпатель бактериологический, петля бактериологическая, лабораторная посуда.

Учебно-методическое \* оснащение: презентация, методические рекомендации к практическому занятию, симуляционное оборудование.

Программное обеспечение: Microsoft Office Word

**Учебно-методическая литература:** основная, дополнительная литература, Интернет-ресурсы

**Краткие теоретические и учебно-методические материалы по теме практической работы**

1. Готовить материал, реактивы, лабораторную посуду и аппаратуру для микроскопического исследования крови

## **Подготовка материала, реактивов, лабораторной посуды и аппаратуры для гистологического исследования**

### **1. Подготовка материала для гистологического исследования:**

- Проверить целостность упаковки, в которой находится биологический материал:
  - целостность бечевки, которой завязан материал;
  - наличие (целостность) пломбы
- Сверить данные в направлении с доставленным материалом
- Зарегистрировать в журнале доставленный материал

### **2. Подготовка реактивов и лабораторной посуды для гистологической обработки тканей и органов:**

- Подготовить мерные колбы и цилиндры для приготовления рабочих растворов реактивов
- Подготовить емкость (бутыль с завинчивающейся крышкой) для хранения готового раствора формалина
- Подготовить широкогорлые емкости объемом не менее 0,5литра для проведения проводки материала по батарее спиртов восходящей концентрации
- Подготовить рабочий раствор формалина для фиксации кусочков органов и тканей
- Визуально проверить качество спиртов для проводки (на предмет отсутствия мути и изменения цвета. При помутнении растворов спиртов заменить их на свежеприготовленный раствор спирта соответствующей концентрации)
- Проверить качество растворов красителей (гематоксилина и эозина). При изменении цвета или выпадении осадка, заменить на свежий раствор соответствующего красителя
- 

### **3. Подготовка аппаратуры для проведения гистологического исследования:**

- Включить термостат и выставить температуру 56-58<sup>0</sup>С для расплавления парафина (при температуре, ниже указанной парафин не расплавится, при более высокой температуре - закипит)
- Подготовить санный микротом к приготовлению срезов: почистить от остатков парафина (при их наличии), заточить или править микротомный нож
- Подготовить микроскоп для микроскопического исследования гистопрепаратов

Так же подготовить:

1. Подготовить микроскоп к работе (включить в сеть, настроить)
2. Подготовить мазки крови для окрашивания
3. Приготовить рабочий раствор красителя азур2-эозин по Романовскому (развести краситель в этиловом спирте 96% в соотношении 1:4)
4. Подготовить иммерсионное масло для микроскопии

## **2. Проводить гистологическую обработку тканей и готовить микропрепараты для исследований**

Высушенные на воздухе мазки крови окрасить по методу Романовского -Гимзе:

- а) установить мазок крови на «рельсы»
- б) нанести на мазок несколько капель готового красителя
- в) распределить краситель равномерно по мазку
- г) выдержать 5-10 минут
- д) не смывая краситель, внести на препарат дистиллированную воду в соотношении краситель: вода - 1:10
- е) выдержать 20-30 минут

- ж) смыть краску чистой водой
- з) оставить мазок на воздухе до полного высыхания
- и) приступить к микроскопическому исследованию с иммерсионной системой

### 3. Оценивать качество приготовленных мазков

- качественно приготовленный и окрашенный мазок крови должен быть тонким, иметь щеточку и метелочку, равномерно окрашен, без пятен

**и провести гистологическое исследование тканей с последующим описанием структур:**

- форма и размер клеток
- интенсивность окраски цитоплазмы
- наличие/отсутствие включений в цитоплазме
- форма и размер ядра
- наличие/отсутствие ядрышек
- хроматин

#### **Морфология форменных элементов крови:**

1. Тромбоциты
2. Эритроциты
3. Лейкоциты:
  - а) Нейтрофилы
  - б) Эозинофилы
  - в) Базофилы
  - г) Лимфоциты
  - д) Моноциты.

#### **Рассмотреть и изучить форменные элементы крови.**

Объект изучения – Препарат мазок крови (окр.по Романовскому-Гимзе)

Программа действий – На большом увеличении найти, изучить, зарисовать и обозначить эритроцит (1), тромбоциты (2), лимфоциты (3), моноциты (4), нейтрофил сегментоядерный (5), эозинофил (6), базофил (7).

Форменные элементы в крови находятся в определенных количественных соотношениях и составляют ее гемограмму.

Количество форменных элементов исчисляется в 1 мкл крови или литре:

- эритроциты – 5-10 млн в мкл ( $\times 10^{12}$  в л);
- лейкоциты – 4,5-14 тыс в мкл ( $\times 10^9$  в л);
- кровяные пластинки – 250-350 тыс в мкл ( $\times 10^9$  в л)

### 4. Архивировать оставшийся от исследования материал

Оставшийся после исследования материал подготовить для архивного хранения:

- аккуратно удалить остатки масла с препарата с помощью салфетки, не оставляя царапин
- подписать мазок: указать порядковый номер исследования
- поместить на специальный промаркированный стеллаж

### 5. Оформлять учетно-отчетную документацию

**Регистрация поступившего биологического материала в журнале (форма №185/у, №186/у, № 014-2/у)**

Подготовить журнал (форма №185/у или № 186/у)

1. Проверить целостность упаковки, в которой находится биологический материал:
  - целостность бечевки, которой завязан материал;
  - наличие (целостность) пломбы

2. Взять направление на исследование и сверить данные в направлении с доставленным материалом
3. Зарегистрировать в журнале форма № 186/у «Журнал исследования трупной крови в лаборатории», указать данные:
  - присвоить порядковый номер;
  - Ф.И.О., возраст трупа, от которого взят материал;
  - фамилия эксперта, направившего материал;
  - № акта вскрытия;
  - дата вскрытия;
  - дата поступления материала в отделение;
  - упаковка, в которой поступил материал;
4. Зарегистрировать в журнале форма № 185/у «Журнал регистрации мазков и тампонов», указать данные:
  - присвоить порядковый номер
  - фамилия эксперта, направившего мазок, тампон;
  - № и дата направления
  - дата поступления
  - в каком виде поступил мазок, тампон
  - принадлежность мазка, тампона
  - возраст
5. Зарегистрировать в журнале форма № 014-2/у «Журнал регистрации поступления биопсийного (операционного) материала и выдачи результатов прижизненных патологоанатомических исследований» указать данные:
  - присвоить порядковый номер
  - наименование направившей МО (структурное подразделение)
  - дата и время поступления (число, месяц, год, ч, мин) материала
  - Ф.И.О. пациента
  - дата рождения
  - порядковый номер флакона
  - количество объектов
  - Ф.И.О. врача-патологоанатома
  - дата выдачи
  - расписка в получении
  - Зарегистрировать заключение в журнале регистрации

#### **Регистрация патологоанатомического заключения в журнал регистрации**

1. Взять заполненный врачом протокол прижизненного патологоанатомического исследования биопсийного (операционного) материала
  2. Взять журнал регистрации патологоанатомического исследования биопсийного (операционного) материала
  3. Перенести все данные из протокола в журнал регистрации
  4. Заполнить графы журнала согласно требованиям,
  5. Поставить подпись, Ф.И.О. заполнявшего, дату
- 6. Проводить утилизацию отработанного материала, дезинфекцию и стерилизацию использованной лабораторной посуды, инструментария, средств защиты**
- Утилизация отработанного материала, дезинфекция и стерилизация лабораторной посуды, инструментария, средств защиты**

*1) Подготовка дезинфицирующего раствора* (см. инструкцию, прилагаемую к используемому в лаборатории дезинфицирующему средству)

*2) Сбор и утилизация отходов (отработанного материала)* (см. СанПиН 3.3684-21"

"Санитарно-эпидемиологические требования к содержанию территорий городских и сельских поселений, к водным объектам, питьевой воде и питьевому водоснабжению,

атмосферному воздуху, почвам, жилым помещениям, эксплуатации производственных, общественных помещений, организации и проведению санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий".)

**3) Дезинфекция лабораторной посуды, инструментария, средств защиты** проводится в соответствии с инструкцией, прилагаемой к используемому дезинфицирующему средству (концентрация дез.раствора, экспозиция)

**4) Предстерилизационная очистка** лабораторной посуды и инструментария проводится путем механического удаления загрязнения. Контроль ПСО на наличие остатков дез.раствора.

**5) Стерилизация лабораторной посуды и инструментария:**

- стерилизация сухим жаром 180<sup>0</sup>С - 60 минут
- автоклавирование при давлении 1,5 атм. в течение 60 минут, для уничтожения споровой микрофлоры – 90 минут при 2 атм.

**Типовые задания:**

**Симуляционное задание.**

- Перечислить функции тромбоцитов.
- Назвать клетку препарата костного мозга. Её характеристика: ядро огромное, многолопастное, сегментированное, в цитоплазме - азурофильная зернистость.
- Перечислить функции эозинофилов

**Проблемно-ситуационная задача.**

На препарате красного костного мозга видна клетка, в несколько раз превышающая размеры окружающих клеток. Ядро огромное, многолопастное, сегментированное, в цитоплазме - азурофильная зернистость.

**Задания для студента:**

1. Проведите осмотр препарата.
2. Назовите эту клетку.

**Образец выполнения проблемно-ситуационного задания:**

1. Проведите осмотр препарата – на препарате красного костного мозга видна клетка, в несколько раз превышающая размеры окружающих клеток.
2. Назовите эту клетку – мегакариоцит

**Ведение учетной медицинской документации:**

1. Регистрация поступившего биологического материала в журнале (форма №185/у, №186/у, № 014-2/у)
2. Заполнение направления на судебно-гистологическое исследование объекта (форма № 180/у или № 179/у)»

**Вопросы для закрепления теоретического материала:**

1. Охарактеризуйте состав крови?
2. Перечислите функции крови?
3. Укажите состав плазмы крови и функции ее компонентов?
4. Перечислите форменные элементы крови. Дайте характеристику эритроцитам?
5. Перечислите функции лейкоцитов?

**Отчетность:** выполнение практических заданий, рисунков клеток; составление схемы кроветворения, решение ситуационных задач.

**Требования к оформлению отчета по практической работе**

Отчет по практической работе выполняется письменно как домашнее задание в свободной форме. В работе студент должен отразить весь объем полученной информации и сделать заключение на основе выводов.

**Критерии оценки практического занятия:** Оцениваются правильность и последовательность действий после усвоения каждого этапа занятия, и подводится средний итоговый балл. (Приложение 1).

**МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ К ПРАКТИЧЕСКОМУ ЗАНЯТИЮ №5**  
**Гистологическое исследование мышечных тканей**

<b>Цель:</b> формирование умений определять на гистологических препаратах виды мышечных тканей, дифференцировать и обозначать их морфофункциональные особенности		
<b>Тип занятия :</b> практическая работа		
<b>Планируемые результаты</b>	<b>Уметь</b>	<b>Знать</b>
	<ul style="list-style-type: none"> <li>- готовить материал, реактивы, лабораторную посуду и аппаратуру для гистологического исследования мышечной ткани</li> <li>- проводить гистологическую обработку мышечных тканей: гладкой, поперечно-полосатой, сердечной</li> <li>- готовить микропрепараты для исследований</li> <li>- оценивать качество приготовленных гистологических препаратов</li> <li>- регистрировать гистологические исследования в виде рисунка</li> <li>- архивировать оставшийся от исследования материал</li> <li>- оформлять учетно-отчетную документацию</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- морфофункциональную характеристику тканей и органов человека.</li> <li>- правила взятия, обработки и архивирования материала для гистологического исследований;</li> <li>- критерии качества гистологических препаратов;</li> </ul>

**Ход практического занятия:**

1. Подготовка рабочего места, проверка наличия, требуемого материально – технического оснащения.
2. Совместная постановка цели занятия и планируемых результатов освоения темы.
3. Проверка домашнего задания: теоретический разбор материала по теме.
4. Формирование умений готовить рабочее место (реактивы, инструментарий, оборудование) для проведения гистологического исследования мышечных тканей; оформлять учетно-отчетную документацию, проводить утилизацию отработанного материала, дезинфекцию и стерилизацию лабораторной посуды, инструментария и средств защиты
5. Контроль освоенных умений: демонстрация практических умений преподавателю на оценку.
6. Подведение итога занятия.
7. Домашнее задание

**Оснащение занятия:**

Материально-техническое оснащение: автоклав, микроскоп, термостат электрический, бактерицидная лампа, бикс медицинский, планшет, дозатор, шпатель бактериологический, петля бактериологическая, лабораторная посуда.

Учебно-методическое оснащение: презентация, методические рекомендации к практическому занятию, симуляционное оборудование.

Программное обеспечение: Microsoft Office Word

**Учебно-методическая литература:** основная, дополнительная литература, Интернет-ресурсы

## **Краткие теоретические и учебно-методические материалы по теме практической работы**

### **1. Готовить материал, реактивы, лабораторную посуду и аппаратуру для гистологического исследования мышечных тканей**

#### **Подготовка материала, реактивов, лабораторной посуды и аппаратуры для гистологического исследования**

##### **1. Подготовка материала для гистологического исследования:**

- Проверить целостность упаковки, в которой находится биологический материал:
  - целостность бечевки, которой завязан материал;
  - наличие (целостность) пломбы
- Сверить данные в направлении с доставленным материалом
- Зарегистрировать в журнале доставленный материал

##### **2. Подготовка реактивов и лабораторной посуды для гистологической обработки тканей и органов:**

- Подготовить мерные колбы и цилиндры для приготовления рабочих растворов реактивов
- Подготовить емкость (бутыль с завинчивающейся крышкой) для хранения готового раствора формалина
- Подготовить широкогорлые емкости объемом не менее 0,5литра для проведения проводки материала по батарее спиртов восходящей концентрации
- Подготовить рабочий раствор формалина для фиксации кусочков органов и тканей
- Визуально проверить качество спиртов для проводки (на предмет отсутствия мути и изменения цвета. При помутнении растворов спиртов заменить их на свежеприготовленный раствор спирта соответствующей концентрации)
- Проверить качество растворов красителей (гематоксилина и эозина). При изменении цвета или выпадении осадка, заменить на свежий раствор соответствующего красителя

##### **3. Подготовка аппаратуры для проведения гистологического исследования:**

- Включить термостат и выставить температуру 56-58<sup>0</sup>С для расплавления парафина (при температуре, ниже указанной парафин не расплавится, при более высокой температуре - закипит)
- Подготовить санный микротом к приготовлению срезов: почистить от остатков парафина (при их наличии), заточить или править микротомный нож
- Подготовить микроскоп для микроскопического исследования гистопрепаратов

Так же подготовить:

1. Подготовить микроскоп (включить в сеть, настроить)
2. Подготовить микропрепараты мышечных тканей

### **2. Проводить гистологическую обработку мышечных тканей и готовить микропрепараты для исследований**

#### **Проведение гистологической обработки тканей и приготовление микропрепаратов для исследований**

##### **1. Иссечение кусочков органов размером не более 1 см:**

- паренхиматозные органы иссекают следующим образом:

- при наличии капсулы органа, чтобы попала и капсула, и сам орган
- если орган имеет в своем строении корковое и мозговое вещество, то иссекают так, чтобы в кусочек попало и корковое и мозговое вещество



- при наличии видимых изменений в структуре органа, иссекают здоровую часть на границе с измененной
  - полые мышечные органы и кожу иссекают таким образом, чтобы попали все слои органа
  - материал, имеющий размеры менее 1 см, дополнительного иссечения не требует.
2. Фиксация кусочков в растворе формалина 24 часа.
  3. Промывка материала под проточной водой (1-2 суток)
  4. Проводка материала по батарее спиртов восходящей концентрации (обезвоживание).
  5. Пропитывание и заливка материала в застывающие среды (уплотнение материала)
  6. Подготовка предметных стекол (обработка адгезивной жидкостью- смесью яичного белка с глицерином)
  7. Изготовление среза на микротоме и наклеивание среза на предметное стекло
  8. Депарафинизация срезов
  9. Окрашивание среза для обзорного метода исследования (окраска гематоксилином и эозином)
  10. Заключение среза в оптически прозрачную среду
- 3. Оценивать качество приготовленных гистологических препаратов (см. Приложение 3) и провести гистологическое исследование тканей с последующим описанием структур:**
- форма и размер клеток
  - интенсивность окраски цитоплазмы
  - наличие/отсутствие включений в цитоплазме
  - форма и размер ядра
  - наличие/отсутствие ядрышек
  - хроматин

**Виды мышечных тканей:**

- а) гладкая МТ
- б) поперечно полрсатая скелетная мышечная ткань.
- в) поперечнополосатая сердечная мышечная

*Рассмотреть и изучить препараты мышечной ткани (гладкой, поперечнополосатой сердечной, поперечнополосатой скелетной МТ)*

Объект изучения – Препараты желудка, миокард, скелетная мышца (окр.гематоксилином и эозином)

Программа действий – На малом увеличении найти и рассмотреть гладкую МТ, сердечную МТ, поперечнополосатую скелетную МТ

На большом увеличении изучить, зарисовать и обозначить гладкий миоцит, кардиомиоцит, симпластическое мышечное волокно. Цитоплазму (1), ядро/ядра (2)

**4. Архивировать оставшийся от исследования материал**

Оставшийся после исследования материал подготовить для архивного хранения:

- Снять скальпелем материал с блока, завернуть в марлевую салфетку и индивидуальный пакет и присвоить номер исследования, указать дату.
- Поместить в выбранную тару парафиновый блок
- К таре прикрепить бирку с датой и номером исследования
- Поместить на специальный промаркированный стелла

**5. Оформлять учетно-отчетную документацию**

- Оформить проведенное исследование в протоколе исследования
- Зарегистрировать заключение в журнале регистрации

**Регистрация поступившего биологического материала в журнале (форма №185/у, №186/у, № 014-2/у)**

Подготовить журнал (форма №185/у или № 186/у)

1. Проверить целостность упаковки, в которой находится биологический материал:
  - целостность бечевки, которой завязан материал;
  - наличие (целостность) пломбы
2. Взять направление на исследование и сверить данные в направлении с доставленным материалом
3. Зарегистрировать в журнале форма № 186/у «Журнал исследования трупной крови в лаборатории», указать данные:
  - присвоить порядковый номер;
  - Ф.И.О., возраст трупа, от которого взят материал;
  - фамилия эксперта, направившего материал;
  - № акта вскрытия;
  - дата вскрытия;
  - дата поступления материала в отделение;
  - упаковка, в которой поступил материал;
4. Зарегистрировать в журнале форма № 185/у «Журнал регистрации мазков и тампонов», указать данные:
  - присвоить порядковый номер
  - фамилия эксперта, направившего мазок, тампон;
  - № и дата направления
  - дата поступления
  - в каком виде поступил мазок, тампон
  - принадлежность мазка, тампона
  - возраст
5. Зарегистрировать в журнале форма № 014-2/у «Журнал регистрации поступления биопсийного (операционного) материала и выдачи результатов прижизненных патолого-анатомических исследований» указать данные:
  - присвоить порядковый номер
  - наименование направившей МО (структурное подразделение)
  - дата и время поступления (число, месяц, год, ч, мин) материала
  - Ф.И.О. пациента
  - дата рождения
  - порядковый номер флакона
  - количество объектов
  - Ф.И.О. врача-патологоанатома
  - дата выдачи
  - расписка в получении
6. **Проводить утилизацию отработанного материала, дезинфекцию и стерилизацию использованной лабораторной посуды, инструментария, средств защиты**  
**Утилизация отработанного материала, дезинфекция и стерилизация лабораторной посуды, инструментария, средств защиты**
  - 1) **Приготовление дезинфицирующего раствора** (см. инструкцию, прилагаемую к используемому в лаборатории дезинфицирующему средству)
  - 2) **Сбор и утилизация отходов (отработанного материала)** (см. Сан ПиН 3.3684-21" "Санитарно-эпидемиологические требования к содержанию территорий городских и сельских поселений, к водным объектам, питьевой воде и питьевому водоснабжению, атмосферному воздуху, почвам, жилым помещениям, эксплуатации производственных, общественных помещений, организации и проведению санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий".)
  - 3) **Дезинфекция лабораторной посуды, инструментария, средств защиты** проводится в соответствии с инструкцией, прилагаемой к используемому дезинфицирующему средству (концентрация дез.раствора, экспозиция)

**4) Предстерилизационная очистка** лабораторной посуды и инструментария проводится путем механического удаления загрязнения. Контроль ПСО на наличие остатков дез.раствора.

**5) Стерилизация лабораторной посуды и инструментария:**

- стерилизация сухим жаром 180<sup>0</sup>С - 60 минут
- автоклавирование при давлении 1,5 атм. в течение 60 минут, для уничтожения споровой микрофлоры – 90 минут при 2 атм.

**Типовые задания:**

**Симуляционное задание.**

- Описать рыхло волокнистую ткань препарата (срез желудка)
- Охарактеризовать волокна межклеточного вещества препарата (срез желудка)
- Описать ядра препарата (срез желудка)

**Проблемно-ситуационная задача.**

Под кожу попало инородное тело.

**Задания для студента:**

1. Какова будет реакция рыхлой соединительной ткани
2. Какие клетки в ней участвуют.

**Образец выполнения проблемно-ситуационного задания:**

1. Осмотр кожи куда попало инородное тело
2. Оценка реакции воспаления на инородное тело
3. Оказание помощи пациенту при попадании инородного тела под кожу:
  - самостоятельное удаление поверхностно расположенных инородных тел, которые хорошо определяются визуально, таких как заноза. В других случаях требуется хирургическое вмешательство.
  - срочно направить пациента к хирургу, чтоб не было осложнений, связанных с нахождением инородного тела под кожей - абсцесс мягких тканей или длительно незаживающий свищ.

**Ведение учетной медицинской документации:**

1. Регистрация поступившего биологического материала в журнале (форма №185/у, №186/у, № 014-2/у)
2. Заполнение направления на судебно-гистологическое исследование объекта (форма № 180/у или № 179/у)»

**Вопросы для закрепления теоретического материала:**

1. Приведите классификацию мышечной ткани?  
Строение какой структуры лежит в основе классификации?
2. Укажите местонахождение гладкой мышечной ткани в организме?
3. Охарактеризуйте структурную единицу гладкой мышечной ткани?
4. Поясните строение гладкой мышечной ткани?
5. Укажите местонахождение скелетной поперечнополосатой мышечной ткани в организме?

**Отчетность:** выполнение гистологического исследования мышечных тканей, рисунков клеток; решение ситуационных задач.

**Требования к оформлению отчета по практической работе:**

Отчет по практической работе выполняется письменно как домашнее задание в свободной форме. В работе студент должен отразить весь объем полученной информации и сделать заключение на основе выводов.

**Критерии оценки практического занятия:** Оцениваются правильность и последовательность действий после усвоения каждого этапа занятия, и подводится средний итоговый балл. (Приложение 1).

## МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ К ПРАКТИЧЕСКОМУ ЗАНЯТИЮ №6

### Гистологическое исследование нервной ткани

<b>Цель:</b> формирование умений определять характерные особенности нервной ткани в гистологических препаратах, дифференцировать ее структурные элементы		
<b>Тип занятия :</b> практическая работа		
<b>Планируемые результаты</b>	<b>Уметь</b>	<b>Знать</b>
	<ul style="list-style-type: none"><li>- готовить материал, реактивы, лабораторную посуду и аппаратуру для гистологического исследования</li><li>- проводить гистологическую обработку нервной ткани</li><li>- оценивать качество приготовленных гистологических препаратов</li><li>- регистрировать гистологические исследования в виде рисунка</li><li>- проводить утилизацию отработанного материала, дезинфекцию и стерилизацию использованной лабораторной посуды, инструментария, средств защиты.</li><li>- архивировать оставшийся от исследования материал</li><li>- оформлять учетно-отчетную документацию</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>- морфофункциональную характеристику тканей и органов человека.</li><li>- правила взятия, обработки и архивирования материала для гистологического исследований;</li><li>- критерии качества гистологических препаратов;</li></ul>

#### Ход практического занятия:

1. Подготовка рабочего места, проверка наличия, требуемого материально – технического оснащения.
2. Совместная постановка цели занятия и планируемых результатов освоения темы.
3. Проверка домашнего задания: теоретический разбор материала по теме.
4. Формирование умений готовить рабочее место (реактивы, инструментарий, оборудование) для проведения гистологического исследования нервной ткани; определять характерные особенности нервной ткани в гистологических препаратах, дифференцировать ее структурные элементы; оформлять учетно-отчетную документацию, проводить утилизацию отработанного материала, дезинфекцию и стерилизацию лабораторной посуды, инструментария и средств защиты
5. Контроль освоенных умений: демонстрация практических умений преподавателю на оценку.
6. Подведение итога занятия.
7. Домашнее задание \*

#### Оснащение занятия:

Материально-техническое оснащение: автоклав, микроскоп, термостат электрический, бактерицидная лампа, бикс медицинский, планшет, дозатор, шпатель бактериологический, петля бактериологическая, лабораторная посуда.

Учебно-методическое оснащение: презентация, методические рекомендации к практическому занятию, симуляционное оборудование.

Программное обеспечение: Microsoft Office Word

**Учебно-методическая литература:** основная, дополнительная литература, Интернет-ресурсы

**Учебно-методическая литература:** основная, дополнительная, интернет-ресурсы

**Краткие теоретические и учебно-методические материалы по теме практической работы**

**1. Готовить материал, реактивы, лабораторную посуду и аппаратуру для гистологического исследования**

**Подготовка материала, реактивов, лабораторной посуды и аппаратуры для гистологического исследования**

1. Подготовка материала для гистологического исследования:

- Проверить целостность упаковки, в которой находится биологический материал:
  - целостность бечевки, которой завязан материал;
  - наличие (целостность) пломбы
- Сверить данные в направлении с доставленным материалом
- Зарегистрировать в журнале доставленный материал

2. Подготовка реактивов и лабораторной посуды для гистологической обработки тканей и органов:

- Подготовить мерные колбы и цилиндры для приготовления рабочих растворов реактивов
- Подготовить емкость (бутыль с завинчивающейся крышкой) для хранения готового раствора формалина
- Подготовить широкогорлые емкости объемом не менее 0,5литра для проведения проводки материала по батарее спиртов восходящей концентрации
- Подготовить рабочий раствор формалина для фиксации кусочков органов и тканей
- Визуально проверить качество спиртов для проводки (на предмет отсутствия мути и изменения цвета. При помутнении растворов спиртов заменить их на свежеприготовленный раствор спирта соответствующей концентрации)
- Проверить качество растворов красителей (гематоксилина и эозина). При изменении цвета или выпадении осадка, заменить на свежий раствор соответствующего красителя

3. Подготовка аппаратуры для проведения гистологического исследования:

- Включить термостат и выставить температуру 56-58<sup>0</sup>С для расплавления парафина (при температуре, ниже указанной парафин не расплавится, при более высокой температуре - закипит)
- Подготовить санный микротом к приготовлению срезов: почистить от остатков парафина (при их наличии), заточить или править микротомный нож
- Подготовить микроскоп для микроскопического исследования гистопрепаратов

Так же подготовить:

1. Подготовить образцы тканей к гистологической обработке
2. Подготовить необходимые реактивы и красители:
  - 10% раствор формалина для фиксации
  - батарея спиртов восходящей концентрации
  - парафин
  - раствор гематоксилина и эозина
  - карбол-ксилол для просветления срезов
3. Подготовить аппаратуру для изготовления гистопрепаратов:
  - термостат
  - термостолик

- санный микротом
- микроскоп

## **2. Проводить гистологическую обработку нервной ткани и готовить микропрепараты для исследований**

### **Проведение гистологической обработки тканей и приготовление микропрепаратов для исследований**

1. Иссечение кусочков органов размером не более 1 см:

- паренхиматозные органы иссекают следующим образом:

- при наличии капсулы органа, чтобы попала и капсула, и сам орган
- если орган имеет в своем строении корковое и мозговое вещество, то иссекают так, чтобы в кусочек попало и корковое и мозговое вещество
- при наличии видимых изменений в структуре органа, иссекают здоровую часть на границе с измененной

- полые мышечные органы и кожу иссекают таким образом, чтобы попали все слои органа

- материал, имеющий размеры менее 1 см, дополнительного иссечения не требует.

2. Фиксация кусочков в растворе формалина 24 часа.

3. Промывка материала под проточной водой (1-2 суток)

4. Проводка материала по батарее спиртов восходящей концентрации (обезвоживание).

5. Пропитывание и заливка материала в застывающие среды (уплотнение материала)

6. Подготовка предметных стекол (обработка адгезивной жидкостью- смесью яичного белка с глицерином)

7. Изготовление среза на микротоме и наклеивание среза на предметное стекло

8. Депарафинизация срезов

9. Окрашивание среза для обзорного метода исследования (окраска гематоксилином и эозином)

10. Заключение среза в оптически прозрачную среду

## **3. Оценивать качество приготовленных гистологических препаратов нервной ткани и провести гистологическое исследование ткани с последующим описанием структур:**

- форма и размер клеток
- интенсивность окраски цитоплазмы
- наличие/отсутствие включений в цитоплазме
- форма и размер ядра
- наличие/отсутствие ядрышек
- хроматин

### **Алгоритм проведения оценки качества приготовления гистопрепарата**

1. Взять гистологический препарат и установить его на предметный столик микроскоп

2. Поднять столик под визуальным наблюдением сбоку с помощью мароквинта

3. Добиться появления изображения с помощью макровинта

4. Добиться четкости изображения с помощью микровинта

5. Просмотреть весь препарат

6. Провести оценку качества приготовления препарата:

- качественно приготовленный гистологический препарат должен иметь толщину не более 10 мкм,
- хорошо расправлен без образования складок и разрывов,
- окраска среза равномерная с четким дифференцированием различных структур,
- срезу хорошо просветлены,

- без загрязнения срезов инородными частицами, кристаллами красителя, а также попадания пузырьков воздуха под покровное стекло

### **Гистоморфология нервной ткани**

1) Нервные клетки - нейроны.

По количеству отростков различают:

Униполярные нейроны\* - имеют только аксон.

Псевдоуниполярные нейроны - от тела клетки отходит один отросток, который затем т-образно делится на аксон и дендрит.

Биполярные - имеют один аксон и один дендрит.

Мультиполярные - имеют один аксон и много дендритов.

2) Нейроглия.

Различают макроглию и микроглию.

Макроглия включает:

- Эпендимоциты выстилают желудочки головного мозга и центральный канал спинного мозга. Эти клетки цилиндрической формы, имеют подвижные реснички, вызывающие ток цереброспинальной жидкости. Считается, что эти клетки передают информацию о составе цереброспинальной жидкости в гипофиз, участвуют в образовании цереброспинальной жидкости.
- Астроциты - клетки отростчатой формы, выполняют в основном опорную и трофическую функции. Различают два типа астроцитов – коротколучистые, локализируются в сером веществе центральной нервной системы, и длиннолучистые - располагаются преимущественно в белом веществе. Астроциты накапливают и передают вещества от капилляров к нейронам.
- Олигодендроциты – образуют оболочки вокруг перикарионов и отростков нервных клеток, входят в состав нервных волокон.

Микроглия представляет собой фагоцитирующие клетки.

### **4. Архивировать оставшийся от исследования материал**

Оставшийся после исследования материал подготовить для архивного хранения:

- Снять скальпелем материал с блока, завернуть в марлевую салфетку и индивидуальный пакет и присвоить номер исследования, указать дату.
- Поместить в выбранную тару парафиновый блок
- К таре прикрепить бирку с датой и номером исследования
- Поместить на специальный промаркированный стеллаж

### **Хранение, порядок выдачи и уничтожения архивного материала в судебно - гистологическом отделении**

1. Гистологический архив формируется в судебно - гистологическом отделении из микропрепаратов, блоков внутренних органов и тканей (при парафиновой заливке). Ответственность за сохранность архива возлагается на заведующего судебно - гистологическим отделением.

2. Гистологические препараты хранят:

- 1) тканевые образцы в 10%-ном растворе нейтрального формалина при наличии опухолевого или опухолеподобного процесса - не менее одного года с даты оформления Протокола, в прочих случаях - не менее чем до окончания оформления Протокола;
- 2) микропрепараты и тканевые образцы в парафиновых блоках - в течение срока хранения медицинской документации пациента;

- 3) Направления и Протоколы - в течение срока хранения медицинской документации пациента.
- 4) Биопсийный и операционный материал в течении 20 лет.
- 5) Гистологические препараты опухолей - бессрочно
- 6) Аутопсийный материал - в течении 3 лет. Уничтожается после истечения срока хранения без составления акта

В случаях порчи гистологического архива или его непригодности к дальнейшему хранению составляют соответствующий акт.

3. Объекты на блоках, залитые в целлоидин, а также оставшиеся после замораживания кусочки сохраняют до окончания судебно - гистологического исследования.

4. Влажный архив кусочков внутренних органов и тканей хранят в морге в 10% растворе формалина в течение одного года.

5. Городские, районные и межрайонные судебно - медицинские эксперты, на базе подразделений которых развернуты судебно - гистологические отделения, обязаны обеспечить сохранность кусочков, блоков и изготовленных из них гистологических препаратов в пределах сроков, предусмотренных настоящими Правилами, и несут за это персональную ответственность.

6. Выдачу из отделения архивного материала до истечения сроков их хранения производят по письменному требованию лица, назначившего экспертизу (исследование), либо руководителя экспертного учреждения или заведующего отделом судебно - медицинской экспертизы трупов, о чем делают запись в "Журнале регистрации материалов и документов в гистологическом отделении". Материал выдают в упакованном и опечатанном виде с сопроводительным письмом.

7. Регистрационный "Журнал" и копии "Заключений эксперта" и "Актов судебно - гистологического исследования" хранят в судебно - гистологическом отделении в течение трех лет. По истечении сроков хранения названные документы передают под расписку в канцелярию Бюро судебно - медицинской экспертизы, где сохраняют как архивный материал.

## **5. Оформлять учетно-отчетную документацию**

### **1. Регистрация поступившего биологического материала в журнале (форма №185/у, №186/у, № 014-2/у)**

Подготовить журнал (форма №185/у или № 186/у)

Проверить целостность упаковки, в которой находится биологический материала:

- целостность бечевки, которой завязан материал;
- наличие (целостность) пломбы

1. Взять направление на исследование и сверить данные в направлении с доставленным материалом

2. Зарегистрировать в журнале форма № 186/у «Журнал исследования трупной крови в лаборатории», указать данные:

- присвоить порядковый номер;
- Ф.И.О., возраст трупа, от которого взят материал;
- фамилия эксперта, направившего материал;
- № акта вскрытия;
- дата вскрытия;
- дата поступления материала в отделение;
- упаковка, в которой поступил материал;

3. Зарегистрировать в журнале форма № 185/у «Журнал регистрации мазков и тампонов», указать данные:

- присвоить порядковый номер
- фамилия эксперта. направившего мазок, тампон;



- № и дата направления
- дата поступления
- в каком виде поступил мазок, тампон
- принадлежность мазка, тампона
- возраст

4. Зарегистрировать в журнале форма № 014-2/у «Журнал регистрации поступления биопсийного (операционного) материала и выдачи результатов прижизненных патологоанатомических исследований» указать данные:

- присвоить порядковый номер
- наименование направившей МО (структурное подразделение)
- дата и время поступления (число, месяц, год, ч, мин) материала
- Ф.И.О. пациента
- дата рождения
- порядковый номер флакона
- количество объектов
- Ф.И.О. врача-патологоанатома
- дата выдачи
- расписка в получении

**2. Заполнение направления на судебно-гистологическое исследование объекта (форма № 180/у или № 179/у)»**

4. Подготовить журнал (форма №180/у или № 179/у)

5. Заполнить соответствующие графы направления:

- подразделение, куда направляется объект
- Ф.И.О. возраст (год рождения) и пол умершего
- дата смерти
- номер и дата акта судебно-медицинской экспертизы трупа
- общее количество и перечень объектов, направленных на исследование
- опечатывание объекта и формы опечатывания
- краткие обстоятельства дела
- основные данные исследования трупа и установленный судебно-медицинский диагноз
- вопросы, подлежащие разрешению экспертом
- дата заполнения направления
- фамилия, инициалы и подпись судмедэксперта, направившего материала на исследование

6. Сделать надпись на направлении «Биологическая опасность» при направлении объектов от инфицированных трупов (туберкулез, гепатит, ВИЧ и др.)

**3. Регистрация патологоанатомического заключения в журнал регистрации**

6. Взять заполненный врачом протокол прижизненного патологоанатомического исследования биопсийного (операционного) материала
7. Взять журнал регистрации патологоанатомического исследования биопсийного (операционного) материала
8. Перенести все данные из протокола в журнал регистрации
9. Заполнить графы журнала согласно требованиям,
10. Поставить подпись, Ф.И.О. заполнявшего, дату

**6. Проводить утилизацию отработанного материала, дезинфекцию и стерилизацию использованной лабораторной посуды, инструментария, средств защит**

**Утилизация отработанного материала, дезинфекция и стерилизация лабораторной посуды, инструментария, средств защиты**

1) **Приготовление дезинфицирующего раствора** (см. инструкцию, прилагаемую к используемому в лаборатории дезинфицирующему средству)

2) **Сбор и утилизация отходов (отработанного материала)** (см. СанПиН 3.3684-21"

"Санитарно-эпидемиологические требования к содержанию территорий городских и сельских поселений, к водным объектам, питьевой воде и питьевому водоснабжению, атмосферному воздуху, почвам, жилым помещениям, эксплуатации производственных, общественных помещений, организации и проведению санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий".)

3) **Дезинфекция лабораторной посуды, инструментария, средств защиты** проводится в соответствии с инструкцией, прилагаемой к используемому дезинфицирующему средству (концентрация дез.раствора, экспозиция)

4) **Предстерилизационная очистка** лабораторной посуды и инструментария проводится путем механического удаления загрязнения. Контроль ПСО на наличие остатков дез.раствора.

5) **Стерилизация лабораторной посуды и инструментария:**

- стерилизация сухим жаром 180<sup>0</sup>С - 60 минут
- автоклавирование при давлении 1,5 атм. в течение 60

#### **Типовые задания:**

##### **Симуляционное задание.**

- Дать классификацию кардиомиоцитов.
- Описать ткани миоцитов
- Назвать окраску препарата сердечной мышечной ткани

##### **Проблемно-ситуационная задача.**

Дан препарат сердечной мышечной ткани (окраска гематоксилином и эозином).

*Задания для студента:*

1. Проведите осмотр препарат сердечной мышечной ткани
2. Дать описание сердечной мышечной ткани
3. Описать клетки миоцитов
4. Описать цитоплазму клеток
5. Соединение клеток (какое)

*Образец выполнения проблемно-ситуационного задания:*

1. Осмотр препарат сердечной мышечной ткани
2. Дать описание сердечной мышечной ткани
3. Описать Клетки,миоцитов - вытянутой прямоугольной формы
4. Описать цитоплазму клеток – розовая
5. Соединение клеток - вставочные диски

##### **Ведение учетной медицинской документации:**

1. Регистрация поступившего биологического материала в журнале (форма №185/у, №186/у, № 014-2/у)
2. Заполнение направления на судебно-гистологическое исследование объекта (форма № 180/у или № 179/у)»

##### **Вопросы для закрепления теоретического материала:**

1. Поясните строение нервной ткани и ее основные функции?
2. Перечислите виды и формы нервных клеток?
3. Назовите виды отростков нервных клеток и особенности их строения?
4. Укажите взаимосвязь вида нейрона с его функциями?
5. Объясните структуру простейшей рефлекторной дуги. Перечислите нейроны, ее образующие?

**Отчетность:** гистологического исследования нервной ткани, рисунков клеток; заполнение таблицы, решение ситуационных задач.

**Требования к оформлению отчета по практической работе:**

Отчет по практической работе выполняется письменно как домашнее задание в свободной форме. В работе студент должен отразить весь объем полученной информации и сделать заключение на основе выводов.

**Критерии оценки практического занятия:** Оцениваются правильность и последовательность действий после усвоения каждого этапа занятия, и подводится средний итоговый балл. (Приложение 1).

**МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ К ПРАКТИЧЕСКОМУ ЗАНЯТИЮ №7**  
**Гистологическое исследование органов сердечно - системы**

<b>Цель:</b> формирование умений дифференцировать виды органов сердечно-сосудистой системы в гистологических препаратах, выявлять их структурные элементы		
<b>Тип занятия:</b> практическая работа		
<b>Планируемые результаты</b>	<b>Уметь</b>	<b>Знать</b>
	<ul style="list-style-type: none"> <li>- готовить материал, реактивы, лабораторную посуду и аппаратуру для гистологического исследования</li> <li>- проводить гистологическую обработку препаратов органов: сердца и кровеносных сосудов</li> <li>- оценивать качество приготовленных гистологических препаратов</li> <li>- регистрировать гистологические исследования в виде рисунка</li> <li>- архивировать оставшийся от исследования материал</li> <li>- оформлять учетно-отчетную документацию</li> <li>- проводить утилизацию отработанного материала, дезинфекцию и стерилизацию использованной лабораторной посуды, инструментария, средств защиты.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- задачи, структуру, оборудование, правила работы и техники безопасности в патогистологической лаборатории;</li> <li>- правила взятия, обработки и архивирования материала для гистологического исследований;</li> <li>- критерии качества гистологических препаратов;</li> <li>- морфофункциональную характеристику тканей и органов сердечно-сосудистой системы человека</li> </ul>

**Ход практического занятия:**

1. Подготовка рабочего места, проверка наличия, требуемого материально – технического оснащения.
2. Совместная постановка цели занятия и планируемых результатов освоения темы.
3. Проверка домашнего задания: теоретический разбор материала по теме.
4. Формирование умений: подготовить рабочее место для проведения гистологического исследования (микроскопии), микроскопировать микропрепараты органов сердечно-сосудистой системы, дифференцировать виды органов и определять их характерные особенности, оформлять отчетно-учетную документацию, проводить дезинфекцию лабораторной посуды и инструментария, утилизацию отработанного материала
5. Контроль освоенных умений: демонстрация практических умений преподавателю на оценку.
6. Подведение итога занятия.
7. Домашнее задание

**Оснащение занятия:**

Материально-техническое оснащение: автоклав, микроскоп, термостат электрический, бактерицидная лампа, бикс медицинский, планшет, дозатор, шпатель бактериологический, петля бактериологическая, лабораторная посуда.

Учебно-методическое оснащение: презентация, методические рекомендации к практическому занятию, симуляционное оборудование.

Программное обеспечение: Microsoft Office Word

**Учебно-методическая литература:** основная, дополнительная литература, Интернет-ресурсы

**Краткие теоретические и учебно-методические материалы по теме практической работы**

**1. Готовить материал, реактивы, лабораторную посуду и аппаратуру для гистологического исследования органов сердечно-сосудистой системы**

**Подготовка материала, реактивов, лабораторной посуды и аппаратуры для гистологического исследования**

1. Подготовка материала для гистологического исследования:

- Проверить целостность упаковки, в которой находится биологический материал:
  - целостность бечевки, которой завязан материал;
  - наличие (целостность) пломбы
- Сверить данные в направлении с доставленным материалом
- Зарегистрировать в журнале доставленный материал

2. Подготовка реактивов и лабораторной посуды для гистологической обработки тканей и органов:

- Подготовить мерные колбы и цилиндры для приготовления рабочих растворов реактивов
- Подготовить емкость (бутыль с завинчивающейся крышкой) для хранения готового раствора формалина
- Подготовить широкогорлые емкости объемом не менее 0,5литра для проведения проводки материала по батарее спиртов восходящей концентрации
- Подготовить рабочий раствор формалина для фиксации кусочков органов и тканей
- Визуально проверить качество спиртов для проводки (на предмет отсутствия мути и изменения цвета. При помутнении растворов спиртов заменить их на свежеприготовленный раствор спирта соответствующей концентрации)
- Проверить качество растворов красителей (гематоксилина и эозина). При изменении цвета или выпадении осадка, заменить на свежий раствор соответствующего красителя

3. Подготовка аппаратуры для проведения гистологического исследования:

- Включить термостат и выставить температуру 56-58<sup>0</sup>С для расплавления парафина (при температуре, ниже указанной парафин не расплавится, при более высокой температуре - закипит)
- Подготовить санный микротом к приготовлению срезов: почистить от остатков парафина (при их наличии), заточить или править микротомный нож
- Подготовить микроскоп для микроскопического исследования гистопрепаратов

**2. Проводить гистологическую обработку тканей и готовить микропрепараты для исследований**

**Проведение гистологической обработки тканей и приготовление микропрепаратов для исследований**

1. Иссечение кусочков органов размером не более 1 см:

- паренхиматозные органы иссекают следующим образом:
  - при наличии капсулы органа, чтобы попала и капсула, и сам орган
  - если орган имеет в своем строении корковое и мозговое вещество, то иссекают так, чтобы в кусочек попало и корковое и мозговое вещество

- при наличии видимых изменений в структуре органа, иссекают здоровую часть на границе с измененной
  - полые мышечные органы и кожу иссекают таким образом, чтобы попали все слои органа
  - материал, имеющий размеры менее 1 см, дополнительного иссечения не требует.
2. Фиксация кусочков в растворе формалина 24 часа.
  3. Промывка материала под проточной водой (1-2суток)
  4. Проводка материала по батарее спиртов восходящей концентрации (обезвоживание).
  5. Пропитывание и заливка материала в застывающие среды (уплотнение материала)
  6. Подготовка предметных стекол (обработка адгезивной жидкостью- смесью яичного белка с глицерином)
  7. Изготовление среза на микротоме и наклеивание среза на предметное стекло
  8. Депарафинизация срезов
  9. Окрашивание среза для обзорного метода исследования (окраска гематоксилином и эозином)
  10. Заключение среза в оптически прозрачную среду

### **Порядок идентификации и описания органа в гистологическом микропрепарате:**

При ответе по препарату необходимо указать:

1. Тип препарата.

- Срез (основной тип)
- Пленочный препарат
- Мазок
- Мазок-отпечаток (в нашем курсе не встречается)
- Тотальный препарат (объект или его часть помещены на стекло полностью)
- Соскоб (в нашем курсе не встречается)

2. Название препарата.

**Пример:** Данный препарат представляет собой <тип препарата> <название объекта>

3. Окраску или другой метод контрастирования препарата.

- Гематоксилин и эозин (абсолютное большинство препаратов).
- Азур-II и эозин (мазок крови).

При описании структур на препаратах, окрашенных кислыми и основными красителями (гематоксилин и эозин, азур-II и эозин) используйте термины:

- оксифильный (ацидофильный; иногда – эозинофильный)
- базофильный (иногда – азурофильный)
- нейтрофильный
- гетерофильный

4. Микроанатомическое описание основных структур органа на препарате.

5. Тканевой состав органа и его основных частей.

6. Детальное описание гистологических и цитологических структур, их функции и происхождение.

При описании микроскопического строения органа необходимо указать основную характеристику его строения:

Все органы можно разделить на три категории:

1. Паренхиматозные
2. Слоистые
3. Органы со специфической (узнаваемой) структурой

### **А. Описание органа, имеющего паренхиматозное строение:**

1. В начале необходимо описать общее строение органа при изучении его при малом увеличении микроскопа.
  1. Указать то, что орган имеет паренхиматозное строение.
  2. Паренхима органа может быть разделена на дольки (полностью или не полностью).
  3. Необходимо указать тканевой состав паренхимы.
2. После общей характеристики необходимо перейти к детальному описанию структур, изучаемых при большом увеличении.
  1. Указать, какие структуры характерны для паренхимы.
  2. Описать их:
    1. микроскопическое строение,
    2. тканевой состав, особенности тканей,
    3. клеточный состав, цитологические особенности.
3. Затем указать, чем представлены элементы стромы (основы) органа.

#### **Б. Описание органа, имеющего слоистое строение:**

1. Указать то, что орган имеет слоистое строение.
  2. Указать какие оболочки (основные слои) выделяются в составе стенки органа. При рассмотрении препарата полого органа принято располагать препарат так, чтобы внутренняя поверхность органа располагалась в верхней части поля зрения, а наружная – снизу. При описании строения последовательно переходите от внутренней стороны к наружной.
  3. Указать какие (тканевые) слои входят в состав каждой из оболочек.
  4. Указать, какие структуры характерны для каждой из оболочек, дать их описание. Их тканевой и клеточный состав.
3. Оформлять учетно-отчетную документацию

#### **Оформление учетно-отчетной документации**

##### **1. Регистрация поступившего биологического материала в журнале (форма №185/у, №186/у, № 014-2/у)**

5. Подготовить журнал (форма №185/у или № 186/у)
6. Проверить целостность упаковки, в которой находится биологический материал:
  - целостность бечевки, которой завязан материал;
  - наличие (целостность) пломбы
7. Взять направление на исследование и сверить данные в направлении с доставленным материалом
8. Зарегистрировать в журнале форма № 186/у «Журнал исследования трупной крови в лаборатории», указать данные:
  - присвоить порядковый номер;
  - Ф.И.О., возраст трупа, от которого взят материал;
  - фамилия эксперта, направившего материал;
  - № акта вскрытия;
  - дата вскрытия;
  - дата поступления материала в отделение;
  - упаковка, в которой поступил материал;
9. Зарегистрировать в журнале форма № 185/у «Журнал регистрации мазков и тампонов», указать данные:
  - присвоить порядковый номер
  - фамилия эксперта, направившего мазок, тампон;
  - № и дата направления
  - дата поступления
  - в каком виде поступил мазок, тампон

- принадлежность мазка, тампона
- возраст

10. Зарегистрировать в журнале форма № 014-2/у «Журнал регистрации поступления биопсийного (операционного) материала и выдачи результатов прижизненных патолого-анатомических исследований» указать данные:

- присвоить порядковый номер
- наименование направившей МО (структурное подразделение)
- дата и время поступления (число, месяц, год, ч, мин) материала
- Ф.И.О. пациента
- дата рождения
- порядковый номер флакона
- количество объектов
- Ф.И.О. врача-патологоанатома
- дата выдачи
- расписка в получении

## **2. Заполнение направления на судебно-гистологическое исследование объекта (форма № 180/у или № 179/у)»**

7. Подготовить журнал (форма №180/у или № 179/у)
8. Заполнить соответствующие графы направления
9. Сделать надпись на направлении «Биологическая опасность» при направлении объектов от инфицированных трупов (туберкулез, гепатит, ВИЧ и др.)

## **3. Регистрация патологоанатомического заключения в журнал регистрации**

1. Взять заполненный врачом протокол прижизненного патологоанатомического исследования биопсийного (операционного) материала
2. Взять журнал регистрации патологоанатомического исследования биопсийного (операционного) материала
3. Перенести все данные из протокола в журнал регистрации
4. Заполнить графы журнала согласно требованиям,
5. Поставить подпись, Ф.И.О. заполнявшего, дату

## **4. Проводить утилизацию отработанного материала, дезинфекцию и стерилизацию использованной лабораторной посуды, инструментария, средств защиты**

### **Утилизация отработанного материала, дезинфекция и стерилизация лабораторной посуды, инструментария, средств защиты**

1) *Приготовление дезинфицирующего раствора* (см. инструкцию, прилагаемую к используемому в лаборатории дезинфицирующему средству)

2) *Сбор и утилизация отходов (отработанного материала)* (см. СанПиН 3.3684-21"

"Санитарно-эпидемиологические требования к содержанию территорий городских и сельских поселений, к водным объектам, питьевой воде и питьевому водоснабжению, атмосферному воздуху, почвам, жилым помещениям, эксплуатации производственных, общественных помещений, организации и проведению санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий".)

3) *Дезинфекция лабораторной посуды, инструментария, средств защиты* проводится в соответствии с инструкцией, прилагаемой к используемому дезинфицирующему средству (концентрация дез.раствора, экспозиция)

4) *Предстерилизационная очистка* лабораторной посуды и инструментария проводится путем механического удаления загрязнения. Контроль ПСО на наличие остатков дез.раствора.

5) *Стерилизация лабораторной посуды и инструментария:*



- стерилизация сухим жаром 180<sup>0</sup>С - 60 минут
- автоклавирование при давлении 1,5 атм. в течение 60 минут, для уничтожения споровой микрофлоры – 90 минут при 2 атм.

**Типовые задания:**

**Симуляционное задание**

- Классификация кардиомиоцитов
- Дан препарат сердечной мышечной ткани, его окрашивание (описать)

**Проблемно-ситуационная задача.**

Патологическим процессом разрушен вставочный диск между кардиомиоцитами

*Задания для студента:*

1. Определить к чему приведет это нарушение
2. Определить, как нарушится передача возбуждения от клетки к клетке

*Образец выполнения проблемно-ситуационного задания:*

1. Определить к чему приведет это нарушение - нарушится передача возбуждения от клетки к клетке
2. Определить, как нарушится передача возбуждения - от клетки к клетке

**Ведение учетной медицинской документации:**

1. Регистрация поступившего биологического материала в журнале (форма №185/у, №186/у, № 014-2/у)
2. Заполнение направления на судебно-гистологическое исследование объекта (форма № 180/у или № 179/у)»

**Вопросы для закрепления теоретического материала:**

1. Классификация и функция кровеносных сосудов, их общий план строения?
2. Капилляры, их типы, строение и функция ; понятие о микроциркуляции?
3. Типы артерий: строение артерий мышечного и эластического типа?
4. Особенности строения вен?
5. Артериоло-веноулярные анастомозы?

**Отчетность:** выполнение гистологического исследования препаратов органов, рисунков органов; заполнение таблиц, решение задач.

**Требования к оформлению отчета по практической работе:**

Отчет по практической работе выполняется письменно как домашнее задание в свободной форме. В работе студент должен отразить весь объем полученной информации и сделать заключение на основе выводов.

**Критерии оценки практического занятия:** Оцениваются правильность и последовательность действий после усвоения каждого этапа занятия, и подводится средний итоговый балл. (Приложение 1).

**МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ К ПРАКТИЧЕСКОМУ ЗАНЯТИЮ №8**  
**Гистологическое исследование органов кроветворения и иммунологической защиты**

<b>Цель:</b> формирование умений дифференцировать органы кроветворения и иммунологической защиты в гистологических препаратах, выявлять их структурные элементы		
<b>Тип занятия:</b> практическая работа		
<b>Планируемые результаты</b>	<b>Уметь</b>	<b>Знать</b>
	<ul style="list-style-type: none"> <li>- готовить материал, реактивы, лабораторную посуду и аппаратуру для гистологического исследования</li> <li>- проводить гистологическую обработку препаратов органов кроветворения и иммунологической защиты</li> <li>- регистрировать гистологические исследования в виде рисунка</li> <li>- архивировать оставшийся от исследования материал</li> <li>- оформлять учетно-отчетную документацию</li> <li>- проводить утилизацию отработанного материала, дезинфекцию и стерилизацию использованной лабораторной посуды, инструментария, средств защиты.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- задачи, структуру, оборудование, правила работы и техники безопасности в патогистологической лаборатории;</li> <li>- правила взятия, обработки и архивирования материала для гистологического и гистохимического исследований;</li> <li>- критерии качества гистологических и гистохимических препаратов;</li> <li>- морфофункциональную характеристику органов кроветворения и иммунологической защиты</li> </ul>

**Ход практического занятия:**

1. Подготовка рабочего места, проверка наличия, требуемого материально – технического оснащения.
2. Совместная постановка цели занятия и планируемых результатов освоения темы.
3. Проверка домашнего задания: теоретический разбор материала по теме.
4. Формирование умений готовить рабочее место для проведения гистологического исследования (микроскопии), микроскопировать гистопрепараты органов кроветворения и иммунологической защиты, дифференцировать виды органов и определять их характерные особенности, оформлять отчетно-учетную документацию, проводить дезинфекцию лабораторной посуды и инструментария, утилизацию отработанного материала
5. Контроль освоенных умений: демонстрация практических умений преподавателю на оценку.
6. Подведение итога занятия.
7. Домашнее задание

**Оснащение занятия:**

Материально-техническое оснащение: автоклав, микроскоп, термостат электрический, бактерицидная лампа, бикс медицинский, планшет, дозатор, шпатель бактериологический, петля бактериологическая, лабораторная посуда.

Учебно-методическое оснащение: презентация, методические рекомендации к практическому занятию, симуляционное оборудование.

Программное обеспечение: Microsoft Office Word

**Учебно-методическая литература:** основная, дополнительная литература, Интернет-ресурсы

### **Краткие теоретические и учебно-методические материалы по теме практической работы**

#### **1. Готовить материал, реактивы, лабораторную посуду и аппаратуру для гистологического исследования органов кроветворения и иммунологической защиты**

1. Подготовить микропрепараты красного костного мозга, тимуса, селезенки, лимфоузла, аппендикса
2. Подготовить микроскоп

#### **Подготовка материала, реактивов, лабораторной посуды и аппаратуры для гистологического исследования**

##### **1. Подготовка материала для гистологического исследования:**

- Проверить целостность упаковки, в которой находится биологический материал:
  - целостность бечевки, которой завязан материал;
  - наличие (целостность) пломбы
- Сверить данные в направлении с доставленным материалом
- Зарегистрировать в журнале доставленный материал

##### **2. Подготовка реактивов и лабораторной посуды для гистологической обработки тканей и органов:**

- Подготовить мерные колбы и цилиндры для приготовления рабочих растворов реактивов
- Подготовить емкость (бутыль с завинчивающейся крышкой) для хранения готового раствора формалина
- Подготовить широкогорлые емкости объемом не менее 0,5литра для проведения проводки материала по батарее спиртов восходящей концентрации
- Подготовить рабочий раствор формалина для фиксации кусочков органов и тканей
- Визуально проверить качество спиртов для проводки (на предмет отсутствия мути и изменения цвета. При помутнении растворов спиртов заменить их на свежеприготовленный раствор спирта соответствующей концентрации)
- Проверить качество растворов красителей (гематоксилина и эозина). При изменении цвета или выпадении осадка, заменить на свежий раствор соответствующего красителя

##### **3. Подготовка аппаратуры для проведения гистологического исследования:**

- Включить термостат и выставить температуру 56-58<sup>0</sup>С для расплавления парафина (при температуре, ниже указанной парафин не расплавится, при более высокой температуре - закипит)
- Подготовить санный микротом к приготовлению срезов: почистить от остатков парафина (при их наличии), заточить или править микротомный нож
- Подготовить микроскоп для микроскопического исследования гистопрепаратов

#### **Провести идентификации и описания органа в гистологическом микропрепарате**

##### **Порядок идентификации и описания органа в гистологическом микропрепарате**

При ответе по препарату необходимо указать:

1. Тип препарата.
  - Срез (основной тип)
  - Пленочный препарат

- Мазок
- Мазок-отпечаток (в нашем курсе не встречается)
- Тотальный препарат (объект или его часть помещены на стекло полностью)
- Соскоб (в нашем курсе не встречается)

2. Название препарата.

**Пример:** Данный препарат представляет собой <тип препарата> <название объекта>

3. Окраску или другой метод контрастирования препарата.

- Гематоксилин и эозин (абсолютное большинство препаратов).
- Азур-II и эозин (мазок крови).

При описании структур на препаратах, окрашенных кислыми и основными красителями (гематоксилин и эозин, азур-II и эозин) используйте термины:

- оксифильный (ацидофильный; иногда – эозинофильный)
- базофильный (иногда – азурофильный)
- нейтрофильный
- гетерофильный

4. Микроанатомическое описание основных структур органа на препарате.

5. Тканевой состав органа и его основных частей.

6. Детальное описание гистологических и цитологических структур, их функции и происхождение.

При описании микроскопического строения органа необходимо указать основную характеристику его строения:

Все органы можно разделить на три категории:

- Паренхиматозные
- Слоистые
- Органы со специфической (узнаваемой) структурой

#### **А. Описание органа, имеющего паренхиматозное строение:**

В начале необходимо описать общее строение органа при изучении его при малом увеличении микроскопа.

1. Указать то, что орган имеет паренхиматозное строение.
2. Паренхима органа может быть разделена на дольки (полностью или не полностью).
3. Необходимо указать тканевой состав паренхимы.

После общей характеристики необходимо перейти к детальному описанию структур, изучаемых при большом увеличении.

4. Указать, какие структуры характерны для паренхимы.
5. Описать их:

1. микроскопическое строение,
2. тканевой состав, особенности тканей,
3. клеточный состав, цитологические особенности.

Затем указать, чем представлены элементы стромы (основы) органа.

#### **Б. Описание органа, имеющего слоистое строение:**

1. Указать то, что орган имеет слоистое строение.
2. Указать какие оболочки (основные слои) выделяются в составе стенки органа. При рассмотрении препарата полого органа принято располагать препарат так, чтобы внутренняя поверхность органа располагалась в верхней части поля зрения, а наружная – снизу. При описании строения последовательно переходите от внутренней стороны к наружной.
3. Указать какие (тканевые) слои входят в состав каждой из оболочек.

4. Указать, какие структуры характерны для каждой из оболочек, дать их описание. Их тканевой и клеточный состав.

## **2. Оформлять учетно-отчетную документацию**

### **Регистрация поступившего биологического материала в журнале (форма №185/у, №186/у, № 014-2/у)**

1. Подготовить журнал (форма №185/у или № 186/у)  
Проверить целостность упаковки, в которой находится биологический материал:
  - целостность бечевки, которой завязан материал;
  - наличие (целостность) пломбы
2. Взять направление на исследование и сверить данные в направлении с доставленным материалом  
Зарегистрировать в журнале форма № 186/у «Журнал исследования трупной крови в лаборатории», указать данные:
  - присвоить порядковый номер;
  - Ф.И.О., возраст трупа, от которого взят материал;
  - фамилия эксперта, направившего материал;
  - № акта вскрытия;
  - дата вскрытия;
  - дата поступления материала в отделение;
  - упаковка, в которой поступил материал;
3. Зарегистрировать в журнале форма № 185/у «Журнал регистрации мазков и тампонов», указать данные:
  - присвоить порядковый номер
  - фамилия эксперта, направившего мазок, тампон;
  - № и дата направления
  - дата поступления
  - в каком виде поступил мазок, тампон
  - принадлежность мазка, тампона
  - возраст
4. Зарегистрировать в журнале форма № 014-2/у «Журнал регистрации поступления биопсийного (операционного) материала и выдачи результатов прижизненных патолого-анатомических исследований» указать данные:
  - присвоить порядковый номер
  - наименование направившей МО (структурное подразделение)
  - дата и время поступления (число, месяц, год, ч, мин) материала
  - Ф.И.О. пациента
  - дата рождения
  - порядковый номер флакона
  - количество объектов
  - Ф.И.О. врача-патологоанатома
  - дата выдачи
  - расписка в получении

### **2. Заполнение направления на судебно-гистологическое исследование объекта (форма № 180/у или № 179/у)»**

1. Подготовить журнал (форма №180/у или № 179/у)
2. Заполнить соответствующие графы направления:
  - подразделение, куда направляется объект
  - Ф.И.О. возраст (год рождения) и пол умершего
  - дата смерти

- номер и дата акта судебно-медицинской экспертизы трупа
- общее количество и перечень объектов, направленных на исследование
- опечатывание объекта и формы опечатывания
- краткие обстоятельства дела
- основные данные исследования трупа и установленный судебно-медицинский диагноз
- вопросы, подлежащие разрешению экспертом
- дата заполнения направления
- фамилия, инициалы и подпись судмедэксперта, направившего материала на исследование

3. Сделать надпись на направлении «Биологическая опасность» при направлении объектов от инфицированных трупов (туберкулез, гепатит, ВИЧ и др.)

### 3. Регистрация патологоанатомического заключения в журнал регистрации

1. Взять заполненный врачом протокол прижизненного патологоанатомического исследования биопсийного (операционного) материала
2. Взять журнал регистрации патологоанатомического исследования биопсийного (операционного) материала
3. Перенести все данные из протокола в журнал регистрации
4. Заполнить графы журнала согласно требованиям,
5. Поставить подпись, Ф.И.О. заполнявшего, дату

### 5. Проводить утилизацию отработанного материала, дезинфекцию и стерилизацию использованной лабораторной посуды, инструментария, средств защиты

#### Утилизация отработанного материала, дезинфекция и стерилизация лабораторной посуды, инструментария, средств защиты

- 1) *Приготовление дезинфицирующего раствора* (см. инструкцию, прилагаемую к используемому в лаборатории дезинфицирующему средству)
- 2) *Сбор и утилизация отходов (отработанного материала)* (см. СанПиН 3.3684-21" "Санитарно-эпидемиологические требования к содержанию территорий городских и сельских поселений, к водным объектам, питьевой воде и питьевому водоснабжению, атмосферному воздуху, почвам, жилым помещениям, эксплуатации производственных, общественных помещений, организации и проведению санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий".)
- 3) *Дезинфекция лабораторной посуды, инструментария, средств защиты* проводится в соответствии с инструкцией, прилагаемой к используемому дезинфицирующему средству (концентрация дез.раствора, экспозиция)
- 4) *Предстерилизационная очистка* лабораторной посуды и инструментария проводится путем механического удаления загрязнения. Контроль ПСО на наличие остатков дез.раствора.
- 5) *Стерилизация лабораторной посуды и инструментария:*
  - стерилизация сухим жаром 180<sup>0</sup>С - 60 минут
  - автоклавирование при давлении 1,5 атм. в течение 60 минут, для уничтожения споровой микрофлоры – 90 минут при 2 атм.

#### Типовые задания:

##### Симуляционное задание.

- Перечислить функции эозинофилов
- Дан препарат (мазок крови) охарактеризуйте его вид окраса

### **Проблемно-ситуационная задача.**

У ребенка диагностирована глистная инвазия. Какое изменение лейкоцитарной формулы следует ожидать

*Задания для студента:*

1. Проведите осмотр результатов анализов крови
2. Определите, какое изменение лейкоцитарной формулы
3. Какие изменения в лейкоцитарной формуле можно ожидать

*Образец выполнения проблемно-ситуационного задания:*

1. Проведите осмотр результатов анализов крови - изменение лейкоцитарной формулы
2. Определите, какое изменение лейкоцитарной формулы - повышение количества эозинофилов
3. Какие изменения в лейкоцитарной формуле можно ожидать - высокий уровень эозинофилии (от 20—30 до 80—90 %), сочетающийся при интенсивной инвазии с лейкоцитозом ( $12,0—30,0 \times 10^9/\text{л}$ ). Уровень эозинофилии соответствует интенсивности заражения и реактивности больного

### **Ведение учетной медицинской документации:**

1. Регистрация поступившего биологического материала в журнале (форма №185/у, №186/у, № 014-2/у)
2. Заполнение направления на судебно-гистологическое исследование объекта (форма № 180/у или № 179/у)»

### **Вопросы для закрепления теоретического материала:**

- 1.Центральные и периферические органы кроветворения. Их общая характеристика?
- 2.Костный мозг и его разновидности?
- 3.Красный костный мозг, его структура и функции. Понятие о миелограмме?
- 4.Вилочковая железа, ее возрастная и акцидентальная инволюция?
- 5.Лимфатический узел. Его барьерная и кроветворная функции?

**Отчетность:** выполнение практических заданий, заполнение сравнительных таблиц, решение ситуационных задач.

### **Требования к оформлению отчета по практической работе:**

Отчет по практической работе выполняется письменно как домашнее задание в свободной форме. В работе студент должен отразить весь объем полученной информации и сделать заключение на основе выводов.

**Критерии оценки практического занятия:** Оцениваются правильность и последовательность действий после усвоения каждого этапа занятия, и подводится средний итоговый балл. (Приложение 1).

## МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ К ПРАКТИЧЕСКОМУ ЗАНЯТИЮ №9

### Гистологическое исследование органов пищеварительной системы

<b>Цель:</b> формирование умений дифференцировать виды органов переднего, среднего и заднего отделов пищеварительной системы в гистологических препаратах, выявлять их структурные элементы		
<b>Тип занятия:</b> практическая работа		
<b>Планируемые результаты</b>	<b>Уметь</b>	<b>Знать</b>
	<ul style="list-style-type: none"> <li>- готовить материал, реактивы, лабораторную посуду и аппаратуру для гистологического исследования</li> <li>- проводить гистологическую обработку препаратов органов пищеварительной системы</li> <li>- регистрировать гистологические исследования в виде рисунка</li> <li>- архивировать оставшийся от исследования материал</li> <li>- оформлять учетно-отчетную документацию</li> <li>- проводить утилизацию отработанного материала, дезинфекцию и стерилизацию использованной лабораторной посуды, инструментария, средств защиты.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- задачи, структуру, оборудование, правила работы и техники безопасности в патогистологической лаборатории;</li> <li>- правила взятия, обработки и архивирования материала для гистологического и гистохимического исследований;</li> <li>- критерии качества гистологических и гистохимических препаратов;</li> <li>- морфофункциональную характеристику органов кроветворения и иммунологической защиты</li> </ul>

#### **Ход практического занятия:**

1. Подготовка рабочего места, проверка наличия, требуемого материально – технического оснащения.
2. Совместная постановка цели занятия и планируемых результатов освоения темы.
3. Проверка домашнего задания: теоретический разбор материала по теме.
4. Формирование умений: подготовить рабочее место для проведения гистологического исследования (микроскопии), микроскопировать гистопрепараты органов переднего, среднего и заднего отделов пищеварительной системы, дифференцировать виды органов и определять их характерные особенности, оформлять отчетно-учетную документацию, проводить дезинфекцию лабораторной посуды и инструментария, утилизацию отработанного материала
5. Контроль освоенных умений: демонстрация практических умений преподавателю на оценку.
6. Подведение итога занятия.
7. Домашнее задание

#### **Оснащение занятия:**

Материально-техническое оснащение: автоклав, микроскоп, термостат электрический, бактерицидная лампа, бикс медицинский, планшет, дозатор, шпатель бактериологический, петля бактериологическая, лабораторная посуда.

Учебно-методическое оснащение: презентация, методические рекомендации к практическому занятию, симуляционное оборудование.



Программное обеспечение: Microsoft Office Word

**Учебно-методическая литература:** основная, дополнительная литература, Интернет-ресурсы

### **Краткие теоретические и учебно-методические материалы по теме практической работы**

#### **1. Готовить материал, реактивы, лабораторную посуду и аппаратуру для гистологического исследования**

#### **Подготовка материала, реактивов, лабораторной посуды и аппаратуры для гистологического исследования**

##### **1. Подготовка материала для гистологического исследования:**

- Проверить целостность упаковки, в которой находится биологический материал:
  - целостность бечевки, которой завязан материал;
  - наличие (целостность) пломбы
- Сверить данные в направлении с доставленным материалом
- Зарегистрировать в журнале доставленный материал

##### **2. Подготовка реактивов и лабораторной посуды для гистологической обработки тканей и органов:**

- Подготовить мерные колбы и цилиндры для приготовления рабочих растворов реактивов
- Подготовить емкость (бутыль с завинчивающейся крышкой) для хранения готового раствора формалина
- Подготовить широкогорлые емкости объемом не менее 0,5литра для проведения проводки материала по батарее спиртов восходящей концентрации
- Подготовить рабочий раствор формалина для фиксации кусочков органов и тканей
- Визуально проверить качество спиртов для проводки (на предмет отсутствия мути и изменения цвета. При помутнении растворов спиртов заменить их на свежеприготовленный раствор спирта соответствующей концентрации)
- Проверить качество растворов красителей (гематоксилина и эозина). При изменении цвета или выпадении осадка, заменить на свежий раствор соответствующего красителя

##### **3. Подготовка аппаратуры для проведения гистологического исследования:**

- Включить термостат и выставить температуру 56-58<sup>0</sup>С для расплавления парафина (при температуре, ниже указанной парафин не расплавится, при более высокой температуре - закипит)
- Подготовить санный микротом к приготовлению срезов: почистить от остатков парафина (при их наличии), заточить или править микротомный нож

Подготовить микроскоп для микроскопического исследования гистопрепаратов

Так же подготовить:

1. Подготовить микропрепараты пищевода, желудка, тонкого, толстого кишечника
2. Подготовить микроскоп

#### **2. Оценивать качество приготовленных гистологических препаратов и провести гистологическое исследование тканей с последующим описанием структур:**

- форма и размер клеток
- интенсивность окраски цитоплазмы
- наличие/отсутствие включений в цитоплазме

- форма и размер ядра
- наличие/отсутствие ядрышек
- хроматин

#### **Оценка качества приготовленных гистологических препаратов**

1. Срез должен быть тонким (не более 10 мкм) для изучения структур в проходящем свете
2. Срез должен быть контрастным (тканевые и клеточные элементы должны быть хорошо прокрашены)
3. Тканевые и клеточные элементы не должны иметь признаков аутолиза (кусочек органа или ткани должен быть хорошо фиксирован)
4. Гистологический препарат после исследования должен подлежать архивному хранению

#### **Алгоритм проведения оценки качества приготовления гистопрепарата**

7. Взять гистологический препарат и установить его на предметный столик микроскоп
8. Поднять столик под визуальным наблюдением сбоку с помощью мароквинта
9. Добиться появления изображения с помощью макровинта
10. Добиться четкости изображения с помощью микровинта
11. Просмотреть весь препарат
12. Провести оценку качества приготовления препарата:
  - качественно приготовленный гистологический препарат должен иметь толщину не более 10 мкм,
  - хорошо расправлен без образования складок и разрывов,
  - окраска среза равномерная с четким дифференцированием различных структур,
  - срезу хорошо просветлены,
  - без загрязнения срезов инородными частицами, кристаллами красителя, а также попадания пузырьков воздуха под покровное стекло

#### **Провести идентификации и описание органа**

##### **Порядок идентификации и описания органа в гистологическом микропрепарате:**

При ответе по препарату необходимо указать:

1. Тип препарата.
  - Срез (основной тип)
  - Пленочный препарат
  - Мазок
  - Мазок-отпечаток (в нашем курсе не встречается)
  - Тотальный препарат (объект или его часть помещены на стекло полностью)
  - Соскоб (в нашем курсе не встречается)
2. Название препарата.
 

**Пример:** *Данный препарат представляет собой <тип препарата> <название объекта>*
3. Окраску или другой метод контрастирования препарата.
  - Гематоксилин и эозин (абсолютное большинство препаратов).
  - Азур-II и эозин (мазок крови).

При описании структур на препаратах, окрашенных кислыми и основными красителями (гематоксилин и эозин, азур-II и эозин) используйте термины:

- оксифильный (ацидофильный; иногда – эозинофильный)
  - базофильный (иногда – азурофильный)
  - нейтрофильный
  - гетерофильный
4. Микроанатомическое описание основных структур органа на препарате.

5. Тканевой состав органа и его основных частей.

6. Детальное описание гистологических и цитологических структур, их функции и происхождение.

При описании микроскопического строения органа необходимо указать основную характеристику его строения:

Все органы можно разделить на три категории:

4. Паренхиматозные

5. Слоистые

6. Органы со специфической (узнаваемой) структурой

**Порядок идентификации и описания органа в гистологическом микропрепарате:**

При ответе по препарату необходимо указать:

1. Тип препарата.

- Срез (основной тип)

- Пленочный препарат

- Мазок

- Мазок-отпечаток (в нашем курсе не встречается)

- Тотальный препарат (объект или его часть помещены на стекло полностью)

- Соскоб (в нашем курсе не встречается)

2. Название препарата.

**Пример:** Данный препарат представляет собой <тип препарата> <название объекта>

3. Окраску или другой метод контрастирования препарата.

- Гематоксилин и эозин (абсолютное большинство препаратов).

- Азур-П и эозин (мазок крови).

При описании структур на препаратах, окрашенных кислыми и основными красителями (гематоксилин и эозин, азур-П и эозин) используйте термины:

- оксифильный (ацидофильный; иногда – эозинофильный)

- базофильный (иногда – азуофильный)

- нейтрофильный

- гетерофильный

4. Микроанатомическое описание основных структур органа на препарате.

5. Тканевой состав органа и его основных частей.

6. Детальное описание гистологических и цитологических структур, их функции и происхождение.

При описании микроскопического строения органа необходимо указать основную характеристику его строения:

Все органы можно разделить на три категории:

7. Паренхиматозные

8. Слоистые

9. Органы со специфической (узнаваемой) структурой

**А. Описание органа, имеющего паренхиматозное строение:**

1. В начале необходимо описать общее строение органа при изучении его при малом увеличении микроскопа.

1. Указать то, что орган имеет паренхиматозное строение.

2. Паренхима органа может быть разделена на дольки (полностью или не полностью).

3. Необходимо указать тканевой состав паренхимы.

2. После общей характеристики необходимо перейти к детальному описанию структур, изучаемых при большом увеличении.

1. Указать, какие структуры характерны для паренхимы.

2. Описать их:
  1. микроскопическое строение,
  2. тканевой состав, особенности тканей,
  3. клеточный состав, цитологические особенности.
3. Затем указать, чем представлены элементы стромы (основы) органа.

#### **Б. Описание органа, имеющего слоистое строение:**

1. Указать то, что орган имеет слоистое строение.
2. Указать какие оболочки (основные слои) выделяются в составе стенки органа. При рассмотрении препарата полого органа принято располагать препарат так, чтобы внутренняя поверхность органа располагалась в верхней части поля зрения, а наружная – снизу. При описании строения последовательно переходите от внутренней стороны к наружной.
3. Указать какие (тканевые) слои входят в состав каждой из оболочек.
4. Указать, какие структуры характерны для каждой из оболочек, дать их описание. Их тканевой и клеточный состав.

#### **Гистоморфологическая характеристика пищеварительной трубки:**

Выделяют 3 отдела

1. передний (ротовая полость, глотка, пищевод)
2. средний (желудок, толстый и тонкий кишечник, печень, поджелудочная)
3. задний (каудальная часть прямой кишки) – эвакуация непереваренных остатков.

#### **Общий план строения пищеварительной трубки:**

##### 1. Слизистая оболочка

- эпителий: в переднем и заднем отделах – многослойный плоский, в среднем – однослойный призматический. Железы располагаются: эндоэпителиально (бокаловидные к-ки в кишечнике), экзоэпителиально (собственная пластинка слизистой – пищевод, желудок; подслизистая основа – пищевод, двенадцатиперстная кишка); за пределами пищеварительного канала – печень, поджелудочная железа

- собственная пластинка: отделена базальной мембраной, это рыхлая волокнистая соединительная ткань. Здесь есть кровеносные и лимфатические сосуды, нервные элементы, лимфоидная ткань.

- Мышечная пластинка: 1-3 слоя гладких мышечных клеток. В некоторых отделах (язык, десна) гадкие мышечные клетки отсутствуют.

Рельеф: гладкий (губы, щеки), с углублениями (ямочки в желудке, крипты в кишечнике), складки (все отделы), ворсинки (тонкий кишечник).

2. Подслизистая основа: рыхлая волокнистая соединительная ткань. Обеспечивает подвижность слизистой оболочки, образует складки. Имеются сплетения кровеносных и лимфатических сосудов, скопления лимфоидной ткани, подслизистые нервные сплетения.

3. Мышечная оболочка: 2 слоя: внутренний – циркулярный, наружный – продольный. В переднем и заднем отделах пищеварительной трубки – поперечно полосатая мускулатура, в среднем – гладкая.

- Ротовая полость
- Губы
- Щеки
- Десны
- Язык
- Пищевод:
- Желудок.
- Тонкий кишечник

- Прямая кишка

### **3. Оформлять учетно-отчетную документацию**

#### **1. Регистрация поступившего биологического материала в журнале (форма №185/у, №186/у, № 014-2/у)**

1. Подготовить журнал (форма №185/у или № 186/у)
2. Проверить целостность упаковки, в которой находится биологический материал:
  - целостность бечевки, которой завязан материал;
  - наличие (целостность) пломбы
3. Взять направление на исследование и сверить данные в направлении с доставленным материалом
4. Зарегистрировать в журнале форма № 186/у «Журнал исследования трупной крови в лаборатории», указать данные:
  - присвоить порядковый номер;
  - Ф.И.О., возраст трупа, от которого взят материал;
  - фамилия эксперта, направившего материал;
  - № акта вскрытия;
  - дата вскрытия;
  - дата поступления материала в отделение;
  - упаковка, в которой поступил материал;
5. Зарегистрировать в журнале форма № 185/у «Журнал регистрации мазков и тампонов», указать данные:
  - присвоить порядковый номер
  - фамилия эксперта, направившего мазок, тампон;
  - № и дата направления
  - дата поступления
  - в каком виде поступил мазок, тампон
  - принадлежность мазка, тампона
  - возраст
6. Зарегистрировать в журнале форма № 014-2/у «Журнал регистрации поступления биопсийного (операционного) материала и выдачи результатов прижизненных патолого-анатомических исследований» указать данные:
  - присвоить порядковый номер
  - наименование направившей МО (структурное подразделение)
  - дата и время поступления (число, месяц, год, ч, мин) материала
  - Ф.И.О. пациента
  - дата рождения
  - порядковый номер флакона
  - количество объектов
  - Ф.И.О. врача-патологоанатома
  - дата выдачи
  - расписка в получении

#### **2. Заполнение направления на судебно-гистологическое исследование объекта (форма № 180/у или № 179/у)»**

1. Подготовить журнал (форма №180/у или № 179/у)
2. Заполнить соответствующие графы направления:
  - подразделение, куда направляется объект
  - Ф.И.О. возраст (год рождения) и пол умершего
  - дата смерти
  - номер и дата акта судебно-медицинской экспертизы трупа
  - общее количество и перечень объектов, направленных на исследование

- опечатывание объекта и формы опечатывания
- краткие обстоятельства дела
- основные данные исследования трупа и установленный судебно-медицинский диагноз
- вопросы, подлежащие разрешению экспертом
- дата заполнения направления
- фамилия, инициалы и подпись судмедэксперта, направившего материала на исследование

3. Сделать надпись на направлении «Биологическая опасность» при направлении объектов от инфицированных трупов (туберкулез, гепатит, ВИЧ и др.)

### **3. Регистрация патологоанатомического заключения в журнал регистрации**

1. Взять заполненный врачом протокол прижизненного патологоанатомического исследования биопсийного (операционного) материала
2. Взять журнал регистрации патологоанатомического исследования биопсийного (операционного) материала
3. Перенести все данные из протокола в журнал регистрации
4. Заполнить графы журнала согласно требованиям,
5. Поставить подпись, Ф.И.О. заполнявшего, дату

#### **Типовые задания:**

##### **Симуляционное задание.**

- Даны препараты, приготовленные из слюнных желёз (околоушной, подчелюстной и подъязычной) охарактеризуйте их вид окрашивания
- Отдифференцировать препараты, приготовленные из слюнных желез

#### **Ведение учетной медицинской документации:**

1. Регистрация поступившего биологического материала в журнале (форма №185/у, №186/у, № 014-2/у)
2. Заполнение направления на судебно-гистологическое исследование объекта (форма № 180/у или № 179/у)»

#### **Вопросы для закрепления теоретического материала:**

1. Общая характеристика пищеварительной системы.
3. Строение языка. Сосочки языка их строение и значение. Вкусовые луковички.
4. Микроскопическое строение стенки пищевода.
5. Желудок, строение и функции слизистой оболочки.

**Отчетность:** выполнение гистологического исследования препаратов органов пищеварительного канала, рисунков органов; решение задач.

#### **Требования к оформлению отчета по практической работе:**

Отчет по практической работе выполняется письменно как домашнее задание в свободной форме. В работе студент должен отразить весь объем полученной информации и сделать заключение на основе выводов.

**Критерии оценки практического занятия:** Оцениваются правильность и последовательность действий после усвоения каждого этапа занятия, и подводится средний итоговый балл. Приложение 1.

**МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ К ПРАКТИЧЕСКОМУ ЗАНЯТИЮ №10**  
**Гистологическое исследование органов мочевыделительной и половой систем**

<b>Цель:</b> формирование умений проводить гистологическое исследование органов мочевыделительной и половой систем		
<b>Тип занятия:</b> практическая работа		
<b>Планируемые результаты</b>	<b>Уметь</b>	<b>Знать</b>
	<ul style="list-style-type: none"> <li>- готовить материал, реактивы, лабораторную посуду и аппаратуру для гистологического исследования</li> <li>- проводить гистологическую обработку препаратов органов мочевыделительной и половой систем</li> <li>- оценивать качество приготовленных гистологических препаратов</li> <li>- регистрировать гистологические исследования в виде рисунка</li> <li>- архивировать оставшийся от исследования материал</li> <li>- оформлять учетно-отчетную документацию</li> <li>- проводить утилизацию отработанного материала, дезинфекцию и стерилизацию использованной лабораторной посуды, инструментария, средств защиты.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- задачи, структуру, оборудование, правила работы и техники безопасности в патогистологической лаборатории;</li> <li>- правила взятия, обработки и архивирования материала для гистологического и гистохимического исследований;</li> <li>- критерии качества гистологических и гистохимических препаратов;</li> <li>- морфофункциональную характеристику органов кроветворения и иммунологической защиты</li> </ul>

**Ход практического занятия:**

1. Подготовка рабочего места, проверка наличия, требуемого материально – технического оснащения.
2. Совместная постановка цели занятия и планируемых результатов освоения темы.
3. Проверка домашнего задания: теоретический разбор материала по теме.
4. Формирование умений готовить рабочее место (материал, реактивы, инструментарий, оборудование) для проведения гистологического исследования, проводить гистологическую обработку органов мочевыделительной и половой систем и готовить микропрепараты, оценивать качество приготовленных гистопрепаратов, определять на микропрепаратах структурные компоненты почки, стенки мочеточника и мочевого пузыря, органов половой системы дифференцировать их; архивировать оставшийся материал, проводить дезинфекцию инструментария и утилизацию отработанного материала.
5. Контроль освоенных умений: демонстрация практических умений преподавателю на оценку.
6. Подведение итога занятия.
7. Домашнее задание

**Оснащение занятия:**

Материально-техническое оснащение: автоклав, микроскоп, термостат электрический, бактерицидная лампа, бикс медицинский, планшет, дозатор, шпатель бактериологический, петля бактериологическая, лабораторная посуда.

Учебно-методическое оснащение: презентация, методические рекомендации к практическому занятию, симуляционное оборудование.

Программное обеспечение: Microsoft Office Word

**Учебно-методическая литература:** основная, дополнительная литература, Интернет-ресурсы

**Краткие теоретические и учебно-методические материалы по теме практической работы**

**1. Готовить материал, реактивы, лабораторную посуду и аппаратуру для гистологического исследования**

**Подготовка материала, реактивов, лабораторной посуды и аппаратуры для гистологического исследования**

**1. Подготовка материала для гистологического исследования:**

- Проверить целостность упаковки, в которой находится биологический материал:
  - целостность бечевки, которой завязан материал;
  - наличие (целостность) пломбы
- Сверить данные в направлении с доставленным материалом
- Зарегистрировать в журнале доставленный материал

**2. Подготовка реактивов и лабораторной посуды для гистологической обработки тканей и органов:**

- Подготовить мерные колбы и цилиндры для приготовления рабочих растворов реактивов
- Подготовить емкость (бутыль с завинчивающейся крышкой) для хранения готового раствора формалина
- Подготовить широкогорлые емкости объемом не менее 0,5 литра для проведения проводки материала по батарее спиртов восходящей концентрации
- Подготовить рабочий раствор формалина для фиксации кусочков органов и тканей
- Визуально проверить качество спиртов для проводки (на предмет отсутствия мути и изменения цвета. При помутнении растворов спиртов заменить их на свежеприготовленный раствор спирта соответствующей концентрации)
- Проверить качество растворов красителей (гематоксилина и эозина). При изменении цвета или выпадении осадка, заменить на свежий раствор соответствующего красителя

**3. Подготовка аппаратуры для проведения гистологического исследования:**

- Включить термостат и выставить температуру 56-58<sup>0</sup>С для расплавления парафина (при температуре, ниже указанной парафин не расплавится, при более высокой температуре - закипит)
- Подготовить санный микротом к приготовлению срезов: почистить от остатков парафина (при их наличии), заточить или править микротомный нож

Подготовить микроскоп для микроскопического исследования гистопрепаратов

Так же подготовить:

4. Подготовить микропрепараты пищевода, желудка, тонкого, толстого кишечника
5. Подготовить микроскоп



## **2.Проводить гистологическую обработку тканей и готовить микропрепараты для исследований**

### **Проведение гистологической обработки тканей и приготовлении микропрепаратов для исследований**

1. Иссечение кусочков органов размером не более 1 см:
  - паренхиматозные органы иссекают следующим образом:
    - при наличии капсулы органа, чтобы попала и капсула, и сам орган
    - если орган имеет в своем строении корковое и мозговое вещество, то иссекают так, чтобы в кусочек попало и корковое и мозговое вещество
    - при наличии видимых изменений в структуре органа, иссекают здоровую часть на границе с измененной
  - полые мышечные органы и кожу иссекают таким образом, чтобы попали все слои органа
  - материал, имеющий размеры менее 1 см, дополнительного иссечения не требует.
2. Фиксация кусочков в растворе формалина 24 часа.
3. Промывка материала под проточной водой (1-2суток)
4. Проводка материала по батарее спиртов восходящей концентрации (обезвоживание).
5. Пропитывание и заливка материала в застывающие среды (уплотнение материала)
6. Подготовка предметных стекол (обработка адгезивной жидкостью- смесью яичного белка с глицерином)
7. Изготовление среза на микротоме и наклеивание среза на предметное стекло
8. Депарафинизация срезов
9. Окрашивание среза для обзорного метода исследования (окраска гематоксилином и эозином)
10. Заключение среза в оптически прозрачную среду

## **3.Оценивать качество приготовленных гистологических препаратов и провести гистологическое исследование тканей с последующим описанием структур:**

- форма и размер клеток
- интенсивность окраски цитоплазмы
- наличие/отсутствие включений в цитоплазме
- форма и размер ядра
- наличие/отсутствие ядрышек
- хроматин

### **Органы мочевыделительной системы**

- Почка.
- Мочеточники,
- Мочевой пузырь,
- Мочеиспускательный канал.

### **Органы мужской половой системы**

- Семенник
- Семявыносящие пути
- Простата
- Бульбоуретральные железы (куппера)

### **Органы женской половой системы**

- Яичник
- Маточные трубы

- Матка
- Влагалище

### **Оценка качества приготовленных гистологических препаратов**

1. Срез должен быть тонким (не более 10 мкм) для изучения структур в проходящем свете
2. Срез должен быть контрастным (тканевые и клеточные элементы должны быть хорошо прокрашены)
3. Тканевые и клеточные элементы не должны иметь признаков аутолиза (кусочек органа или ткани должен быть хорошо фиксирован)
4. Гистологический препарат после исследования должен подлежать архивному хранению

### **Алгоритм проведения оценки качества приготовления гистопрепарата**

1. Взять гистологический препарат и установить его на предметный столик микроскоп
2. Поднять столик под визуальным наблюдением сбоку с помощью мароквинта
3. Добиться появления изображения с помощью макровинта
4. Добиться четкости изображения с помощью микровинта
5. Просмотреть весь препарат
6. Провести оценку качества приготовления препарата:
  - качественно приготовленный гистологический препарат должен иметь толщину не более 10 мкм,
  - хорошо расправлен без образования складок и разрывов,
  - окраска среза равномерная с четким дифференцированием различных структур,
  - срезу хорошо просветлены,
  - без загрязнения срезов инородными частицами, кристаллами красителя, а также попадания пузырьков воздуха под покровное стекло

### **4. Провести идентификации и описание органа**

#### **Порядок идентификации и описания органа в гистологическом микропрепарате:**

При ответе по препарату необходимо указать:

1. Тип препарата.
  - Срез (основной тип)
  - Пленочный препарат
  - Мазок
  - Мазок-отпечаток (в нашем курсе не встречается)
  - Тотальный препарат (объект или его часть помещены на стекло полностью)
  - Соскоб (в нашем курсе не встречается)

2. Название препарата.

**Пример:** Данный препарат представляет собой <тип препарата><название объекта>

3. Окраску или другой метод контрастирования препарата.
  - Гематоксилин и эозин (абсолютное большинство препаратов).
  - Азур-II и эозин (мазок крови).

При описании структур на препаратах, окрашенных кислыми и основными красителями (гематоксилин и эозин, азур-II и эозин) используйте термины:

- оксифильный (ацидофильный; иногда – эозинофильный)
- базофильный (иногда – азурофильный)
- нейтрофильный
- гетерофильный

4. Микроанатомическое описание основных структур органа на препарате.
5. Тканевой состав органа и его основных частей.

6. Детальное описание гистологических и цитологических структур, их функции и происхождение.

При описании микроскопического строения органа необходимо указать основную характеристику его строения:

Все органы можно разделить на три категории:

1. Паренхиматозные
2. Слоистые
3. Органы со специфической (узнаваемой) структурой

#### **А. Описание органа, имеющего паренхиматозное строение:**

1. В начале необходимо описать общее строение органа при изучении его при малом увеличении микроскопа.
  1. Указать то, что орган имеет паренхиматозное строение.
  2. Паренхима органа может быть разделена на дольки (полностью или не полностью).
  3. Необходимо указать тканевой состав паренхимы.
2. После общей характеристики необходимо перейти к детальному описанию структур, изучаемых при большом увеличении.
  1. Указать, какие структуры характерны для паренхимы.
  2. Описать их:
    1. микроскопическое строение,
    2. тканевой состав, особенности тканей,
    3. клеточный состав, цитологические особенности.
3. Затем указать, чем представлены элементы стромы (основы) органа.

#### **Б. Описание органа, имеющего слоистое строение:**

1. Указать то, что орган имеет слоистое строение.
2. Указать какие оболочки (основные слои) выделяются в составе стенки органа. При рассмотрении препарата полого органа принято располагать препарат так, чтобы внутренняя поверхность органа располагалась в верхней части поля зрения, а наружная – снизу. При описании строения последовательно переходите от внутренней стороны к наружной.
3. Указать какие (тканевые) слои входят в состав каждой из оболочек.
4. Указать, какие структуры характерны для каждой из оболочек, дать их описание. Их тканевой и клеточный состав.

#### **5. Архивировать оставшийся от исследования материал**

##### **Архивация оставшегося от исследования материала**

1. Снять скальпелем материал с блока, завернуть в марлевую салфетку и индивидуальный пакет и присвоить номер исследования, указать дату
2. Поместить в выбранную тару парафиновый блок
3. К таре прикрепить бирку с датой и номером исследования
4. Поместить на специальный промаркированный стеллаж

#### **6. Оформлять учетно-отчетную документацию**

##### **1. Регистрация поступившего биологического материала в журнале (форма №185/у, №186/у, № 014-2/у)**

Подготовить журнал (форма №185/у или № 186/у)

1. Проверить целостность упаковки, в которой находится биологический материал:
  - целостность бечевки, которой завязан материал;
  - наличие (целостность) пломбы

2. Взять направление на исследование и сверить данные в направлении с доставленным материалом
3. Зарегистрировать в журнале форма № 186/у «Журнал исследования трупной крови в лаборатории», указать данные:
  - присвоить порядковый номер;
  - Ф.И.О., возраст трупа, от которого взят материал;
  - фамилия эксперта, направившего материал;
  - № акта вскрытия;
  - дата вскрытия;
  - дата поступления материала в отделение;
  - упаковка, в которой поступил материал;
4. Зарегистрировать в журнале форма № 185/у «Журнал регистрации мазков и тампонов», указать данные:
  - присвоить порядковый номер
  - фамилия эксперта, направившего мазок, тампон;
  - № и дата направления
  - дата поступления
  - в каком виде поступил мазок, тампон
  - принадлежность мазка, тампона
  - возраст
5. Зарегистрировать в журнале форма № 014-2/у «Журнал регистрации поступления биопсийного (операционного) материала и выдачи результатов прижизненных патолого-анатомических исследований» указать данные:
  - присвоить порядковый номер
  - наименование направившей МО (структурное подразделение)
  - дата и время поступления (число, месяц, год, ч, мин) материала
  - Ф.И.О. пациента
  - дата рождения
  - порядковый номер флакона
  - количество объектов
  - Ф.И.О. врача-патологоанатома
  - дата выдачи
  - расписка в получении

## **2. Заполнение направления на судебно-гистологическое исследование объекта (форма № 180/у или № 179/у)»**

Подготовить журнал (форма №180/у или № 179/у)

1. Заполнить соответствующие графы направления:
  - подразделение, куда направляется объект
  - Ф.И.О. возраст (год рождения) и пол умершего
  - дата смерти
  - номер и дата акта судебно-медицинской экспертизы трупа
  - общее количество и перечень объектов, направленных на исследование
  - опечатывание объекта и формы опечатывания
  - краткие обстоятельства дела
  - основные данные исследования трупа и установленный судебно-медицинский диагноз
  - вопросы, подлежащие разрешению экспертом
  - дата заполнения направления
  - фамилия, инициалы и подпись судмедэксперта, направившего материала на исследование

2. Сделать надпись на направлении «Биологическая опасность» при направлении объектов от инфицированных трупов (туберкулез, гепатит, ВИЧ и др.)

### **3. Регистрация патологоанатомического заключения в журнал регистрации**

1. Взять заполненный врачом протокол прижизненного патологоанатомического исследования биопсийного (операционного) материала
2. Взять журнал регистрации патологоанатомического исследования биопсийного (операционного) материала
3. Перенести все данные из протокола в журнал регистрации
4. Заполнить графы журнала согласно требованиям,
5. Поставить подпись, Ф.И.О. заполнявшего, дату

### **7. Проводить утилизацию отработанного материала, дезинфекцию и стерилизацию использованной лабораторной посуды, инструментария, средств защиты**

#### **Утилизация отработанного материала, дезинфекция и стерилизация лабораторной посуды, инструментария, средств защиты**

1) *Приготовление дезинфицирующего раствора* (см. инструкцию, прилагаемую к используемому в лаборатории дезинфицирующему средству)

2) *Сбор и утилизация отходов (отработанного материала)* (см. СанПиН 3.3684-21"

"Санитарно-эпидемиологические требования к содержанию территорий городских и сельских поселений, к водным объектам, питьевой воде и питьевому водоснабжению, атмосферному воздуху, почвам, жилым помещениям, эксплуатации производственных, общественных помещений, организации и проведению санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий".)

3) *Дезинфекция лабораторной посуды, инструментария, средств защиты* проводится в соответствии с инструкцией, прилагаемой к используемому дезинфицирующему средству (концентрация дез.раствора, экспозиция)

4) *Предстерилизационная очистка* лабораторной посуды и инструментария проводится путем механического удаления загрязнения. Контроль ПСО на наличие остатков дез.раствора.

5) *Стерилизация лабораторной посуды и инструментария:*

- стерилизация сухим жаром 180<sup>0</sup>С - 60 минут
- автоклавирование при давлении 1,5 атм. в течение 60 минут, для уничтожения споровой микрофлоры – 90 минут при 2 атм.

#### **Типовые задания:**

##### **Симуляционное задание.**

- Дан препарат (маточная труба, окраска гематоксилином и эозином). Дать характеристику приёма окраски данного препарата
- Перечислить требования к гистологическому препарату.

##### **Проблемно-ситуационная задача.**

Дан препарат (маточная труба, окраска гематоксилином и эозином).

*Задания для студента:*

1. Проведите осмотр препарата - маточная труба
2. Провести контроль качества гистологического микропрепарата.
3. Заполнить медицинскую документацию

*Образец выполнения проблемно-ситуационного задания:*

1. Осмотр препарата - маточная труба (окраска гематоксилином и эозином).
2. Контроль качества гистологического микропрепарата. Препарат достаточно тонкий и прозрачный, клетки расположены в один слой; контрастный, четко определяются изучаемые структуры (ядра и цитоплазма клеток, межклеточное вещество, границы

оболочек органа); препарат заключен в бальзам, потому может длительно храниться и использоваться повторно.

3. Заполнить медицинскую документацию

Зарегистрировать в журнале форма № 014-2/у «Журнал регистрации поступления биопсийного (операционного) материала и выдачи результатов прижизненных патолого-анатомических исследований» указать данные:

- присвоить порядковый номер
- наименование направившей МО (структурное подразделение)
- дата и время поступления (число, месяц, год, ч, мин) материала
- Ф.И.О. пациента
- дата рождения
- порядковый номер флакона
- количество объектов
- Ф.И.О. врача-патологоанатома
- дата выдачи
- расписка в получении

**Ведение учетной медицинской документации:**

1. Регистрация поступившего биологического материала в журнале (форма №185/у, №186/у, № 014-2/у)
2. Заполнение направления на судебно-гистологическое исследование объекта (форма № 180/у или № 179/у)»

**Вопросы для закрепления теоретического материала:**

1. Общая характеристика мочевыделительной системы?
2. Почка, ее строение и функции. Нефрон как структурно-функциональная единица почки?
3. Строение и кровоснабжение корковых и около мозговых нефронов?
4. Эндокринная система почки?
5. Общий план строения мочевыводящих путей?

**Отчетность:** выполнение рисунков органов; решение задач.

**Требования к оформлению отчета по практической работе**

Отчет по практической работе выполняется письменно как домашнее задание в свободной форме. В работе студент должен отразить весь объем полученной информации и сделать заключение на основе выводов.

**Критерии оценки практического занятия:** Оцениваются правильность и последовательность действий после усвоения каждого этапа занятия, и подводится средний итоговый балл. (Приложение 1).

**МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ К ПРАКТИЧЕСКОМУ ЗАНЯТИЮ №11**  
**Тема: Гистологическое исследование органов дыхательной системы и кожи**

<b>Цель:</b> формирование умений дифференцировать виды органов дыхательной системы и кожи в гистологических препаратах		
<b>Тип занятия :</b> практическая работа		
<b>Планируемые результаты</b>	<b>Уметь</b>	<b>Знать</b>
	<ul style="list-style-type: none"> <li>- готовить материал, реактивы, лабораторную посуду и аппаратуру для гистологического исследования органов дыхательной системы, и кожи;</li> <li>- проводить гистологическую обработку тканей и готовить микропрепараты для исследований;</li> <li>- оформлять учетно-отчетную документацию;</li> <li>- проводить утилизацию отработанного материала, дезинфекцию и стерилизацию использованной лабораторной посуды, инструментария, средств защиты.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- задачи, структуру, оборудование, правила работы и техники безопасности в патогистологической лаборатории;</li> <li>- правила взятия, обработки и архивирования материала для гистологического и гистохимического исследований;</li> <li>- критерии качества гистологических и гистохимических препаратов;</li> <li>- морфофункциональную характеристику органов дыхательной системы и кожи.</li> </ul>

**Ход практического занятия:**

1. Подготовка рабочего места, проверка наличия, требуемого материально – технического оснащения.
2. Совместная постановка цели занятия и планируемых результатов освоения темы.
3. Проверка домашнего задания: теоретический разбор материала по теме.
4. Формирование умений готовить рабочее место (материал, реактивы, инструментарий, оборудование) для проведения гистологического исследования, проводить гистологическую обработку органов дыхательной системы и кожи, и готовить микропрепараты, оценивать качество приготовленных гистопрепаратов, определять на микропрепаратах структурные компоненты органов дыхательной системы и кожи, дифференцировать их; оформлять учетно-отчетную документацию.
5. Контроль освоенных умений: демонстрация практических умений преподавателю на оценку.
6. Подведение итога занятия.
7. Домашнее задание

**Оснащение занятия:**

Материально-техническое оснащение: автоклав, микроскоп, термостат электрический, бактерицидная лампа, бикс медицинский, планшет, дозатор, шпатель бактериологический, петля бактериологическая, лабораторная посуда.

Учебно-методическое оснащение: презентация, методические рекомендации к практическому занятию, симуляционное оборудование.

Программное обеспечение: Microsoft Office Word

**Учебно-методическая литература:** основная, дополнительная литература, Интернет-ресурсы

**Учебно-методическая литература:** основная, дополнительная, интернет-ресурсы

**Краткие теоретические и учебно-методические материалы по теме практической работы**

**1. Готовить материал, реактивы, лабораторную посуду и аппаратуру для гистологического исследования**

**Подготовка материала, реактивов, лабораторной посуды и аппаратуры для гистологического исследования**

**1. Подготовка материала для гистологического исследования:**

- Проверить целостность упаковки, в которой находится биологический материал:
  - целостность бечевки, которой завязан материал;
  - наличие (целостность) пломбы
- Сверить данные в направлении с доставленным материалом
- Зарегистрировать в журнале доставленный материал

**2. Подготовка реактивов и лабораторной посуды для гистологической обработки тканей и органов:**

- Подготовить мерные колбы и цилиндры для приготовления рабочих растворов реактивов
- Подготовить емкость (бутыль с завинчивающейся крышкой) для хранения готового раствора формалина
- Подготовить широкогорлые емкости объемом не менее 0,5литра для проведения проводки материала по батарее спиртов восходящей концентрации
- Подготовить рабочий раствор формалина для фиксации кусочков органов и тканей
- Визуально проверить качество спиртов для проводки (на предмет отсутствия мути и изменения цвета. При помутнении растворов спиртов заменить их на свежеприготовленный раствор спирта соответствующей концентрации)
- Проверить качество растворов красителей (гематоксилина и эозина). При изменении цвета или выпадении осадка, заменить на свежий раствор соответствующего красителя

**3. Подготовка аппаратуры для проведения гистологического исследования:**

- Включить термостат и выставить температуру 56-58<sup>0</sup>С для расплавления парафина (при температуре, ниже указанной парафин не расплавится, при более высокой температуре - закипит)
- Подготовить санный микротом к приготовлению срезов: почистить от остатков парафина (при их наличии), заточить или править микротомный нож

Подготовить микроскоп для микроскопического исследования гистопрепаратов.

Так же подготовить:

1. Подготовить образцы тканей к гистологической обработке
2. Подготовить необходимые реактивы и красители:
  - 10% раствор формалина для фиксации
  - батарея спиртов восходящей концентрации
  - парафин
  - раствор гематоксилина и эозина
  - карбол-ксилол для просветления срезов
3. Подготовить аппаратуру для изготовления гистопрепаратов:
  - термостат



- термостол
- санный микротом
- микроскоп

## 2. Проводить гистологическую обработку тканей и готовить микропрепараты для исследований

### Проведение гистологической обработки тканей и приготовление микропрепаратов для исследований

1. Иссечение кусочков органов размером не более 1 см:

- паренхиматозные органы иссекают следующим образом:

- при наличии капсулы органа, чтобы попала и капсула, и сам орган
- если орган имеет в своем строении корковое и мозговое вещество, то иссекают так, чтобы в кусочек попало и корковое и мозговое вещество
- при наличии видимых изменений в структуре органа, иссекают здоровую часть на границе с измененной

- полые мышечные органы и кожу иссекают таким образом, чтобы попали все слои органа

- материал, имеющий размеры менее 1 см, дополнительного иссечения не требует.

2. Фиксация кусочков в растворе формалина 24 часа.
3. Промывка материала под проточной водой (1-2 суток)
4. Проводка материала по батарее спиртов восходящей концентрации (обезвоживание).
5. Пропитывание и заливка материала в застывающие среды (уплотнение материала)
6. Подготовка предметных стекол (обработка адгезивной жидкостью- смесью яичного белка с глицерином)
7. Изготовление среза на микротоме и наклеивание среза на предметное стекло
8. Депарафинизация срезов
9. Окрашивание среза для обзорного метода исследования (окраска гематоксилином и эозином)
10. Заключение среза в оптически прозрачную среду

### Рассмотреть и изучить микропрепараты:

1. Гортань
2. Трахея
3. Бронхи крупного, среднего и мелкого калибра
4. Легкие
5. Толстая кожа
6. Тонкая кожа

Порядок идентификации и описание органа см. далее.

### Порядок идентификации и описания органа в гистологическом микропрепарате:

При ответе по препарату необходимо указать:

1. Тип препарата.
  - Срез (основной тип)
  - Пленочный препарат
  - Мазок
  - Мазок-отпечаток (в нашем курсе не встречается)
  - Тотальный препарат (объект или его часть помещены на стекло полностью)
  - Соскоб (в нашем курсе не встречается)
2. Название препарата.

**Пример:** Данный препарат представляет собой <тип препарата> <название объекта>

3. Окраску или другой метод контрастирования препарата.

- Гематоксилин и эозин (абсолютное большинство препаратов).
- Азур-II и эозин (мазок крови).

При описании структур на препаратах, окрашенных кислыми и основными красителями (гематоксилин и эозин, азур-II и эозин) используйте термины:

- оксифильный (ацидофильный; иногда – эозинофильный)
- базофильный (иногда – азурофильный)
- нейтрофильный
- гетерофильный

4. Микроанатомическое описание основных структур органа на препарате.

5. Тканевой состав органа и его основных частей.

6. Детальное описание гистологических и цитологических структур, их функции и происхождение.

При описании микроскопического строения органа необходимо указать основную характеристику его строения:

Все органы можно разделить на три категории:

4. Паренхиматозные
5. Слоистые
6. Органы со специфической (узнаваемой) структурой

#### **А. Описание органа, имеющего паренхиматозное строение:**

1. В начале необходимо описать общее строение органа при изучении его при малом увеличении микроскопа.

1. Указать то, что орган имеет паренхиматозное строение.

2. Паренхима органа может быть разделена на дольки (полностью или не полностью).

3. Необходимо указать тканевой состав паренхимы.

2. После общей характеристики необходимо перейти к детальному описанию структур, изучаемых при большом увеличении.

1. Указать, какие структуры характерны для паренхимы.

2. Описать их:

1. микроскопическое строение,

2. тканевой состав, особенности тканей,

3. клеточный состав, цитологические особенности.

3. Затем указать, чем представлены элементы стромы (основы) органа.

#### **Б. Описание органа, имеющего слоистое строение:**

1. Указать то, что орган имеет слоистое строение.

2. Указать какие оболочки (основные слои) выделяются в составе стенки органа. При рассмотрении препарата полого органа принято располагать препарат так, чтобы внутренняя поверхность органа располагалась в верхней части поля зрения, а наружная – снизу. При описании строения последовательно переходите от внутренней стороны к наружной.

3. Указать какие (тканевые) слои входят в состав каждой из оболочек.

4. Указать, какие структуры характерны для каждой из оболочек, дать их описание. Их тканевой и клеточный состав.

### **3. Оформлять учетно-отчетную документацию**

**1. Регистрация поступившего биологического материала в журнале (форма №185/у, №186/у, № 014-2/у)**

Подготовить журнал (форма №185/у или № 186/у)

1. Проверить целостность упаковки, в которой находится биологический материал:

- целостность бечевки, которой завязан материал;
  - наличие (целостность) пломбы
2. Взять направление на исследование и сверить данные в направлении с доставленным материалом
  3. Зарегистрировать в журнале форма № 186/у «Журнал исследования трупной крови в лаборатории», указать данные:
    - присвоить порядковый номер;
    - Ф.И.О., возраст трупа, от которого взят материал;
    - фамилия эксперта, направившего материал;
    - № акта вскрытия;
    - дата вскрытия;
    - дата поступления материала в отделение;
    - упаковка, в которой поступил материал;
  4. Зарегистрировать в журнале форма № 185/у «Журнал регистрации мазков и тампонов», указать данные:
    - присвоить порядковый номер
    - фамилия эксперта. направившего мазок, тампон;
    - № и дата направления
    - дата поступления
    - в каком виде поступил мазок, тампон
    - принадлежность мазка, тампона
    - возраст
  5. Зарегистрировать в журнале форма № 014-2/у«Журнал регистрации поступления биопсийного (операционного) материала и выдачи результатов прижизненных патолого-анатомических исследований» указать данные:
    - присвоить порядковый номер
    - наименование направившей МО (структурное подразделение)
    - дата и время поступления (число, месяц, год, ч, мин) материала
    - Ф.И.О. пациента
    - дата рождения
    - порядковый номер флакона
    - количество объектов
    - Ф.И.О врача-патологоанатома
    - дата выдачи
    - расписка в получении

## **2. Заполнение направления на судебно-гистологическое исследование объекта (форма № 180/у или № 179/у)»**

Подготовить журнал (форма №180/у или № 179/у)

1. Заполнить соответствующие графы направления:
  - подразделение, куда направляется объект
  - Ф.И.О. возраст (год рождения) и пол умершего
  - дата смерти
  - номер и дата акта судебно-медицинской экспертизы трупа
  - общее количество и перечень объектов, направленных на исследование
  - опечатывание объекта и формы опечатывания
  - краткие обстоятельства дела
  - основные данные исследования трупа и установленный судебно-медицинский диагноз
  - вопросы, подлежащие разрешению экспертом
  - дата заполнения направления

- фамилия, инициалы и подпись судмедэксперта, направившего материала на исследование
- 2. Сделать надпись на направлении «Биологическая опасность» при направлении объектов от инфицированных трупов (туберкулез, гепатит, ВИЧ и др.)

### **3. Регистрация патологоанатомического заключения в журнал регистрации**

1. Взять заполненный врачом протокол прижизненного патологоанатомического исследования биопсийного (операционного) материала
2. Взять журнал регистрации патологоанатомического исследования биопсийного (операционного) материала
3. Перенести все данные из протокола в журнал регистрации
4. Заполнить графы журнала согласно требованиям,
5. Поставить подпись, Ф.И.О. заполнявшего, дату

#### **Типовые задания:**

##### **Симуляционное задание.**

1. Опишите препарат органа, имеющего слоистое строение (малый бронх)
2. Опишите препарат органа, имеющего слоистое строение (респираторная бронхиола)
3. Перечислить типы покровного эпителия.

##### **Проблемно-ситуационная задача.**

На 2-х гистологических препаратах даны разные структуры дыхательной системы. На первом – в эпителиальном пласте отсутствуют бокаловидные клетки, слабо развиты железы, хорошо выражена мышечная часть стенки; на втором – эпителий глубокий кубический, лишенный ресничек, местами сменяется дыхательными альвеолоцитами, тонкая пластинка соединительной ткани собственного слоя с единичными клетками гладкой мускулатуры.

##### **Задания для студента:**

1. Проведите осмотр 2-х гистологических препаратов с разными структурами дыхательной системы
2. Определить какие структуры представлены на первом и втором препаратах
3. Заполните медицинскую документацию.

##### **Образец выполнения проблемно-ситуационного задания:**

1. Осмотр 2-х гистологических препаратов с разными структурами дыхательной системы
2. Определение структуры представленных на первом и втором препаратах: на первом – малый бронх, на втором – респираторная бронхиола.
3. Заполнить медицинскую документацию.

Зарегистрировать в журнале форма № 014-2/у «Журнал регистрации поступления биопсийного (операционного) материала и выдачи результатов прижизненных патологоанатомических исследований» указать данные:

- присвоить порядковый номер
- наименование направившей МО (структурное подразделение)
- дата и время поступления (число, месяц, год, ч, мин) материала
- Ф.И.О. пациента
- дата рождения
- порядковый номер флакона
- количество объектов
- Ф.И.О. врача-патологоанатома
- дата выдачи

- расписка в получении

**Ведение учетной медицинской документации:**

1. Регистрация поступившего биологического материала в журнале (форма №185/у, №186/у, № 014-2/у)
2. Заполнение направления на судебно-гистологическое исследование объекта (форма № 180/у или № 179/у)»

**Вопросы для закрепления теоретического материала:**

1. Общая характеристика кожи и ее функции?
2. Происхождение и строение дермы?
3. Основные функции органов дыхания?
4. Трахея и бронхи их основные функции?
5. Респираторный отдел легких?

**Отчетность:** выполнение гистологического исследования препаратов органов, выполнение рисунков органов; решение задач.

**Требования к оформлению отчета по практической работе:**

Отчет по практической работе выполняется письменно как домашнее задание в свободной форме. В работе студент должен отразить весь объем полученной информации и сделать заключение на основе выводов.

**Критерии оценки практического занятия:** Оцениваются правильность и последовательность действий после усвоения каждого этапа занятия, и подводится средний итоговый балл. (Приложение 1).

**МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ К ПРАКТИЧЕСКОМУ ЗАНЯТИЮ №12**  
**Гистологическое исследование органов эндокринной системы**

<b>Цель:</b> формирование умений дифференцировать виды органов эндокринной системы: гипофиза, эпифиза, щитовидной и паращитовидных желез, надпочечников в гистологических препаратах		
<b>Тип занятия:</b> практическая работа		
<b>Планируемые результаты</b>	<b>Уметь</b>	<b>Знать</b>
	<ul style="list-style-type: none"> <li>- готовить материал, реактивы, лабораторную посуду и аппаратуру для гистологического исследования</li> <li>- проводить гистологическую обработку органов эндокринной системы</li> <li>- оценивать качество приготовленных гистологических препаратов</li> <li>- регистрировать гистологические исследования в виде рисунка</li> <li>- архивировать оставшийся от исследования материал</li> <li>- оформлять учетно-отчетную документацию</li> <li>утилизировать отработанный материал, дезинфицировать приборы, посуду, инструментарий, средства защиты</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- задачи, структуру, оборудование, правила работы и техники безопасности в патогистологической лаборатории;</li> <li>- правила взятия, обработки и архивирования материала для гистологического и гистохимического исследований;</li> <li>- критерии качества гистологических и гистохимических препаратов;</li> <li>- морфофункциональную характеристику тканей и органов человека.</li> </ul>

**Ход практического занятия:**

1. Подготовка рабочего места, проверка наличия, требуемого материально – технического оснащения.
2. Совместная постановка цели занятия и планируемых результатов освоения темы.
3. Проверка домашнего задания: теоретический разбор материала по теме.
4. Формирование умений готовить рабочее место (материал, реактивы, инструментарий, оборудование) для проведения гистологического исследования, проводить гистологическую обработку органов эндокринной системы, и готовить микропрепараты, оценивать качество приготовленных гистопрепаратов, определять на микропрепаратах структурные компоненты гипофиза, эпифиза, щитовидной и паращитовидных желез, надпочечников, дифференцировать их; оформлять учетно-отчетную документацию.
5. Контроль освоенных умений: демонстрация практических умений преподавателю на оценку.
6. Подведение итога занятия.
7. Домашнее задание

**Оснащение занятия:**

Материально-техническое оснащение: автоклав, микроскоп, термостат электрический, бактерицидная лампа, бикс медицинский, планшет, дозатор, лабораторная посуда.

Учебно-методическое оснащение: презентация, методические рекомендации к практическому занятию, симуляционное оборудование.

Программное обеспечение: Microsoft Office Word

**Учебно-методическая литература:** основная, дополнительная литература, Интернет-ресурсы

## Краткие теоретические и учебно-методические материалы по теме практической работы

### 1. Готовить материал, реактивы, лабораторную посуду и аппаратуру для гистологического исследования

#### Подготовка материала, реактивов, лабораторной посуды и аппаратуры для гистологического исследования

##### 1. Подготовка материала для гистологического исследования:

- Проверить целостность упаковки, в которой находится биологический материал:
  - целостность бечевки, которой завязан материал;
  - наличие (целостность) пломбы
- Сверить данные в направлении с доставленным материалом
- Зарегистрировать в журнале доставленный материал

##### 2. Подготовка реактивов и лабораторной посуды для гистологической обработки тканей и органов:

- Подготовить мерные колбы и цилиндры для приготовления рабочих растворов реактивов
- Подготовить емкость (бутыль с завинчивающейся крышкой) для хранения готового раствора формалина
- Подготовить широкогорлые емкости объемом не менее 0,5 литра для проведения проводки материала по батарее спиртов восходящей концентрации
- Подготовить рабочий раствор формалина для фиксации кусочков органов и тканей
- Визуально проверить качество спиртов для проводки (на предмет отсутствия мути и изменения цвета. При помутнении растворов спиртов заменить их на свежеприготовленный раствор спирта соответствующей концентрации)
- Проверить качество растворов красителей (гематоксилина и эозина). При изменении цвета или выпадении осадка, заменить на свежий раствор соответствующего красителя

##### 3. Подготовка аппаратуры для проведения гистологического исследования:

- Включить термостат и выставить температуру 56-58<sup>0</sup>С для расплавления парафина (при температуре, ниже указанной парафин не расплавится, при более высокой температуре - закипит)
- Подготовить санный микротом к приготовлению срезов: почистить от остатков парафина (при их наличии), заточить или править микротомный нож

Подготовить микроскоп для микроскопического исследования гистопрепаратов.

Так же подготовить:

#### 4. Подготовить образцы тканей к гистологической обработке

#### 5. Подготовить необходимые реактивы и красители:

- 10% раствор формалина для фиксации
- батарея спиртов восходящей концентрации
- парафин
- раствор гематоксилина и эозина
- карбол-ксилол для просветления срезов

#### 6. Подготовить аппаратуру для изготовления гистопрепаратов:

- термостат
- термостол
- санный микротом
- микроскоп

## **2. Проводить гистологическую обработку тканей и готовить микропрепараты для исследований**

### **Проведение гистологической обработки тканей и приготовление микропрепаратов для исследований**

1. Иссечение кусочков органов размером не более 1 см:
  - паренхиматозные органы иссекают следующим образом:
    - при наличии капсулы органа, чтобы попала и капсула, и сам орган
    - если орган имеет в своем строении корковое и мозговое вещество, то иссекают так, чтобы в кусочек попало и корковое и мозговое вещество
    - при наличии видимых изменений в структуре органа, иссекают здоровую часть на границе с измененной
  - полые мышечные органы и кожу иссекают таким образом, чтобы попали все слои органа
  - материал, имеющий размеры менее 1 см, дополнительного иссечения не требует.
2. Фиксация кусочков в растворе формалина 24 часа.
3. Промывка материала под проточной водой (1-2 суток)
4. Проводка материала по батарее спиртов восходящей концентрации (обезвоживание).
5. Пропитывание и заливка материала в застывающие среды (уплотнение материала)
6. Подготовка предметных стекол (обработка адгезивной жидкостью- смесью яичного белка с глицерином)
7. Изготовление среза на микротоме и наклеивание среза на предметное стекло
8. Депарафинизация срезов
9. Окрашивание среза для обзорного метода исследования (окраска гематоксилином и эозином)
10. Заключение среза в оптически прозрачную среду

### **3. Оценивать качество приготовленных гистологических препаратов и провести гистологическое исследование тканей с последующим описанием структур:**

- форма и размер клеток
- интенсивность окраски цитоплазмы
- наличие/отсутствие включений в цитоплазме
- форма и размер ядра
- наличие/отсутствие ядрышек
- хроматин

### **Оценка качества приготовленных гистологических препаратов**

1. Срез должен быть тонким (не более 10 мкм) для изучения структур в проходящем свете
2. Срез должен быть контрастным (тканевые и клеточные элементы должны быть хорошо прокрашены)
3. Тканевые и клеточные элементы не должны иметь признаков аутолиза (кусочек органа или ткани должен быть хорошо фиксирован)
4. Гистологический препарат после исследования должен подлежать архивному хранению

### **Алгоритм проведения оценки качества приготовления гистопрепарата**

1. Взять гистологический препарат и установить его на предметный столик микроскоп
2. Поднять столик под визуальным наблюдением сбоку с помощью макровинта
3. Добиться появления изображения с помощью макровинта
4. Добиться четкости изображения с помощью микровинта
5. Просмотреть весь препарат
6. Провести оценку качества приготовления препарата:
  - качественно приготовленный гистологический препарат должен иметь толщину не более 10 мкм,
  - хорошо расправлен без образования складок и разрывов,



- окраска среза равномерная с четким дифференцированием различных структур,
- срезу хорошо просветлены,
- без загрязнения срезов инородными частицами, кристаллами красителя, а также попадания пузырьков воздуха под покровное стекло

#### **4. Оформлять учетно-отчетную документацию**

##### **1. Регистрация поступившего биологического материала в журнале (форма №185/у, №186/у, № 014-2/у)**

Подготовить журнал (форма №185/у или № 186/у)

1. Проверить целостность упаковки, в которой находится биологический материал:
  - целостность бечевки, которой завязан материал;
  - наличие (целостность) пломбы
2. Взять направление на исследование и сверить данные в направлении с доставленным материалом
3. Зарегистрировать в журнале, указав данные:
  - присвоить порядковый номер;
  - Ф.И.О., возраст трупа, от которого взят материал;
  - фамилия эксперта, направившего материал;
  - № акта вскрытия;
  - дата вскрытия;
  - дата поступления материала в отделение;
  - упаковка, в которой поступил материал;

##### **2. Заполнение направления на судебно-гистологическое исследование объекта (форма № 180/у или № 179/у)»**

Подготовить журнал (форма №180/у или № 179/у)

1. Заполнить соответствующие графы направления:
  - подразделение, куда направляется объект
  - Ф.И.О. возраст (год рождения) и пол умершего
  - дата смерти
  - номер и дата акта судебно-медицинской экспертизы трупа
  - общее количество и перечень объектов, направленных на исследование
  - опечатывание объекта и формы опечатывания
  - краткие обстоятельства дела
  - основные данные исследования трупа и установленный судебно-медицинский диагноз
  - вопросы, подлежащие разрешению экспертом
  - дата заполнения направления
  - фамилия, инициалы и подпись судмедэксперта, направившего материала на исследование
2. Сделать надпись на направлении «Биологическая опасность» при направлении объектов от инфицированных трупов (туберкулез, гепатит, ВИЧ и др.)

##### **3. Регистрация патологоанатомического заключения в журнал регистрации**

1. Взять заполненный врачом протокол патологоанатомического исследования аутопсийного материала
2. Взять журнал регистрации патологоанатомического исследования аутопсийного материала
3. Перенести все данные из протокола в журнал регистрации
4. Заполнить графы журнала согласно требованиям,
5. Поставить подпись, Ф.И.О. заполнявшего, дату

#### **Типовые задания:**

1. Изучить под микроскоп гистологические препараты органов эндокринной системы: гипофиза, эпифиза, щитовидной и паращитовидной желез, надпочечников.

2. Оформить результаты исследования в бланк и внести данные в журнал.

**Вопросы для закрепления теоретического материала:**

1. Общая характеристика и структурно-функциональная организация эндокринной системы.
2. Аденогипофиз. Клетки и гормоны передней доли гипофиза.
3. Нейрогипофиз и понятие о нейрогемальных органах.
4. Эпифиз. Строение, две основные группы гормонов.
5. Щитовидная железа. Фолликулярные и парафолликулярные клетки. Их гормоны и значение.
6. Паращитовидная железа. Строение, гормоны, функция.
7. Надпочечники: корковое вещество, мозговое вещество, гормоны и их значение. Понятие о неспецифическом адаптационном синдроме.

**Отчетность:** результаты базового контроля знаний по теме, тренировочное и контрольное выполнение симуляционных заданий, самостоятельная работа студента при подготовке к практическому занятию.

**Требования к оформлению отчета по практическому занятию:**

Отчет по практической работе выполняется письменно как домашнее задание в свободной форме. В работе студент должен отразить весь объем полученной информации и сделать заключение на основе выводов по теме занятия.

**Критерии оценки практического занятия:** Оцениваются правильность и последовательность действий после усвоения каждого этапа занятия, и подводится средний итоговый балл (см. Приложение 1.).

**МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ К ПРАКТИЧЕСКОМУ ЗАНЯТИЮ №13**  
**Гистологическое исследование органов нервной системы и органов чувств**

<b>Цель:</b> формирование умений определять и дифференцировать на микропрепаратах структурные компоненты спинномозгового ганглия, спинного мозга, коры больших полушарий, мозжечка; структурные компоненты органов чувств: органа зрения, органа слуха и равновесия, органа обоняния, органа вкуса и органа осязания.		
<b>Тип занятия:</b> практическая работа		
<b>Планируемые результаты</b>	<b>Уметь</b>	<b>Знать</b>
	<ul style="list-style-type: none"> <li>- готовить материал, реактивы, лабораторную посуду и аппаратуру для гистологического исследования</li> <li>- проводить гистологическую обработку препаратов органов нервной системы и органов чувств</li> <li>- оценивать качество приготовленных гистологических препаратов</li> <li>- регистрировать гистологические исследования в виде рисунка</li> <li>- архивировать оставшийся от исследования материал</li> <li>- оформлять учетно-отчетную документацию</li> <li>утилизировать отработанный материал, дезинфицировать приборы, посуду, инструментарий, средства защиты</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- задачи, структуру, оборудование, правила работы и техники безопасности в патогистологической лаборатории;</li> <li>- правила взятия, обработки и архивирования материала для гистологического и гистохимического исследований;</li> <li>- критерии качества гистологических и гистохимических препаратов;</li> <li>- морфофункциональную характеристику тканей и органов человека.</li> </ul>

**Ход практического занятия:**

1. Подготовка рабочего места, проверка наличия, требуемого материально – технического оснащения.
2. Совместная постановка цели занятия и планируемых результатов освоения темы.
3. Проверка домашнего задания: теоретический разбор материала по теме.
4. Формирование умений готовить рабочее место (материал, реактивы, инструментарий, оборудование) для проведения гистологического исследования, проводить гистологическую обработку органов нервной системы и органов чувств, и готовить микропрепараты, оценивать качество приготовленных гистопрепаратов, определять на микропрепаратах структурные компоненты спинномозгового ганглия, спинного мозга, коры больших полушарий, мозжечка, структурные компоненты органов чувств: органа зрения, органа слуха и равновесия, органа обоняния, органа вкуса и органа осязания, дифференцировать их; оформлять учетно-отчетную документацию.
5. Контроль освоенных умений: демонстрация практических умений преподавателю на оценку.
6. Подведение итога занятия.
7. Домашнее задание

**Оснащение занятия:**

Материально-техническое оснащение: автоклав, микроскоп, термостат электрический, бактерицидная лампа, бикс медицинский, планшет, дозатор, шпатель, лабораторная посуда.

Учебно-методическое оснащение: презентация, методические рекомендации к практическому занятию, симуляционное оборудование.

Программное обеспечение: Microsoft Office Word

**Учебно-методическая литература:** основная, дополнительная литература, Интернет-ресурсы

**Краткие теоретические и учебно-методические материалы по теме практической работы**

**1. Готовить материал, реактивы, лабораторную посуду и аппаратуру для гистологического исследования**

**Подготовка материала, реактивов, лабораторной посуды и аппаратуры для гистологического исследования**

**1. Подготовка материала для гистологического исследования:**

- Проверить целостность упаковки, в которой находится биологический материал:
  - целостность бечевки, которой завязан материал;
  - наличие (целостность) пломбы
- Сверить данные в направлении с доставленным материалом
- Зарегистрировать в журнале доставленный материал

**2. Подготовка реактивов и лабораторной посуды для гистологической обработки тканей и органов:**

- Подготовить мерные колбы и цилиндры для приготовления рабочих растворов реактивов
- Подготовить емкость (бутыль с завинчивающейся крышкой) для хранения готового раствора формалина
- Подготовить широкогорлые емкости объемом не менее 0,5 литра для проведения проводки материала по батарее спиртов восходящей концентрации
- Подготовить рабочий раствор формалина для фиксации кусочков органов и тканей
- Визуально проверить качество спиртов для проводки (на предмет отсутствия мути и изменения цвета. При помутнении растворов спиртов заменить их на свежеприготовленный раствор спирта соответствующей концентрации)
- Проверить качество растворов красителей (гематоксилина и эозина). При изменении цвета или выпадении осадка, заменить на свежий раствор соответствующего красителя

**3. Подготовка аппаратуры для проведения гистологического исследования:**

- Включить термостат и выставить температуру 56-58<sup>0</sup>С для расплавления парафина (при температуре, ниже указанной парафин не расплавится, при более высокой температуре - закипит)
- Подготовить санный микротом к приготовлению срезов: почистить от остатков парафина (при их наличии), заточить или править микротомный нож

Подготовить микроскоп для микроскопического исследования гистопрепаратов.

Так же подготовить:

1. Подготовить образцы тканей к гистологической обработке
2. Подготовить необходимые реактивы и красители:
  - 10% раствор формалина для фиксации
  - батарея спиртов восходящей концентрации
  - парафин
  - раствор гематоксилина и эозина
  - карбол-ксилол для просветления срезов
3. Подготовить аппаратуру для изготовления гистопрепаратов:
  - термостат
  - термостол
  - санный микротом
  - микроскоп

## **2.Проводить гистологическую обработку тканей и готовить микропрепараты для исследований**

### **Проведение гистологической обработки тканей и приготовление микропрепаратов для исследований**

1. Иссечение кусочков органов размером не более 1 см:
  - паренхиматозные органы иссекают следующим образом:
  - материал, имеющий размеры менее 1 см, дополнительного иссечения не требует.
2. Фиксация кусочков в растворе формалина 24 часа.
3. Промывка материала под проточной водой (1-2суток)
4. Проводка материала по батарее спиртов восходящей концентрации (обезвоживание).
5. Пропитывание и заливка материала в застывающие среды (уплотнение материала)
6. Подготовка предметных стекол (обработка адгезивной жидкостью- смесью яичного белка с глицерином)
7. Изготовление среза на микротоме и наклеивание среза на предметное стекло
8. Депарафинизация срезов
9. Окрашивание среза для обзорного метода исследования (окраска гематоксилином и эозином)
10. Заключение среза в оптически прозрачную среду

### **3. Оценивать качество приготовленных гистологических препаратов и провести гистологическое исследование тканей с последующим описанием структур:**

- форма и размер клеток
- интенсивность окраски цитоплазмы
- наличие/отсутствие включений в цитоплазме
- форма и размер ядра
- наличие/отсутствие ядрышек
- хроматин

### **Оценка качества приготовленных гистологических препаратов**

1. Срез должен быть тонким (не более 10 мкм) для изучения структур в проходящем свете
2. Срез должен быть контрастным (тканевые и клеточные элементы должны быть хорошо прокрашены)
3. Тканевые и клеточные элементы не должны иметь признаков аутолиза (кусочек органа или ткани должен быть хорошо фиксирован)
4. Гистологический препарат после исследования должен подлежать архивному хранению

### **Алгоритм проведения оценки качества приготовления гистопрепарата**

1. Взять гистологический препарат и установить его на предметный столик микроскоп
2. Поднять столик под визуальным наблюдением сбоку с помощью макровинта
3. Добиться появления изображения с помощью макровинта
4. Добиться четкости изображения с помощью микровинта
5. Просмотреть весь препарат
6. Провести оценку качества приготовления препарата:
  - качественно приготовленный гистологический препарат должен иметь толщину не более 10 мкм,
  - хорошо расправлен без образования складок и разрывов,
  - окраска среза равномерная с четким дифференцированием различных структур,
  - срезу хорошо просветлены,
  - без загрязнения срезов инородными частицами, кристаллами красителя, а также попадания пузырьков воздуха под покровное стекло

### **3.Рассмотреть и изучить микропрепараты:**

#### **Рассмотреть и изучить микропрепараты органов нервной системы:**

1. Спинномозгового ганглия

2. Спинного мозга,
3. Кору больших полушарий,
4. Мозжечка

### **Оформлять учетно-отчетную документацию**

#### **1. Регистрация поступившего биологического материала в журнале (форма №185/у, №186/у, № 014-2/у)**

Подготовить журнал (форма №185/у или № 186/у)

1. Проверить целостность упаковки, в которой находится биологический материал:
  - целостность бечевки, которой завязан материал;
  - наличие (целостность) пломбы
2. Взять направление на исследование и сверить данные в направлении с доставленным материалом
3. Зарегистрировать в журнале, указав данные:
  - присвоить порядковый номер;
  - Ф.И.О., возраст трупа, от которого взят материал;
  - фамилия эксперта, направившего материал;
  - № акта вскрытия;
  - дата вскрытия;
  - дата поступления материала в отделение;
  - упаковка, в которой поступил материал;

#### **2. Заполнение направления на судебно-гистологическое исследование объекта (форма № 180/у или № 179/у)»**

Подготовить журнал (форма №180/у или № 179/у)

1. Заполнить соответствующие графы направления:
  - подразделение, куда направляется объект
  - Ф.И.О. возраст (год рождения) и пол умершего
  - дата смерти
  - номер и дата акта судебно-медицинской экспертизы трупа
  - общее количество и перечень объектов, направленных на исследование
  - опечатывание объекта и формы опечатывания
  - краткие обстоятельства дела
  - основные данные исследования трупа и установленный судебно-медицинский диагноз
  - вопросы, подлежащие разрешению экспертом
  - дата заполнения направления
  - фамилия, инициалы и подпись судмедэксперта, направившего материал на исследование
2. Сделать надпись на направлении «Биологическая опасность» при направлении объектов от инфицированных трупов (туберкулез, гепатит, ВИЧ и др.)

#### **3. Регистрация патологоанатомического заключения в журнал регистрации**

1. Взять заполненный врачом протокол прижизненного патологоанатомического исследования аутопсийного материала
2. Взять журнал регистрации патологоанатомического исследования аутопсийного материала
3. Перенести все данные из протокола в журнал регистрации
4. Заполнить графы журнала согласно требованиям,
5. Поставить подпись, Ф.И.О. заполнявшего, дату

#### **Типовые задания:**

1. Изучить под микроскопом гистоморфологические особенности органов ЦНС (спинномозгового ганглия, спинного мозга, коры больших полушарий, мозжечка).

2. Изучить под микроскопом гистоморфологические особенности органов чувств (орган зрения, орган слуха и равновесия, орган обоняния, орган вкуса, орган осязания).
3. Записать результаты гистологического исследования в бланк и в журнал исследований.

**Проблемно-ситуационная задача:**

Для судебно-медицинского исследования приготовлены препараты мозга двух погибших людей. Установлено, что в затылочной доле коры больших полушарий у первого из них хорошо выражены все зернистые слои. У второго зернистые слои выражены слабо. Нейроцитов мало. Увеличено содержание глиоцитов.

**Задания для студента:**

1. Проведите осмотр приготовленных препаратов мозга
2. Провести контроль качества гистологического микропрепарата.
3. Кто из них был слепым от рождения.

**Образец выполнения проблемно-ситуационного задания:**

1. Осмотр препарата затылочной доли коры больших полушарий г/м:  
1 субъект - в затылочной доле коры больших полушарий у первого из них хорошо выражены все зернистые слои.  
2 субъект - зернистые слои выражены слабо. Нейроцитов мало. Увеличено содержание глиоцитов.
2. Контроль качества гистологического микропрепарата:  
Препарат достаточно тонкий и прозрачный, клетки расположены в один слой; контрастный, четко определяются изучаемые структуры. Препарат заключен в бальзам, потому может длительно храниться и использоваться повторно.
3. Кто из них был слепым от рождения. Второй субъект.

**Ведение учетной медицинской документации:**

1. Регистрация поступившего биологического материала в журнале (форма №185/у, №186/у, № 014-2/у)
2. Заполнение направления на судебно-гистологическое исследование объекта (форма № 180/у или № 179/у)»

**Вопросы для закрепления теоретического материала:**

1. Корковая колонка как функциональная единица коры большого мозга.
2. Строение коры больших полушарий головного мозга.
3. Миелоархитектоника и миелогенез коры большого мозга.
4. Структурно – функциональные особенности склеры и роговицы; факторы, обуславливающие прозрачность роговицы.
5. Улитковый канал перепончатого лабиринта. Строение спирального органа. Гистофизиология органа слуха.
6. Орган вкуса. Строение, гистофизиология.

**Отчетность:** результаты базового контроля знаний по теме, тренировочное и контрольное выполнение симуляционных заданий, самостоятельная работа студента при подготовке к практическому занятию.

**Требования к оформлению отчета по практическому занятию:**

Отчет по практической работе выполняется письменно как домашнее задание в свободной форме. В работе студент должен отразить весь объем полученной информации и сделать заключение на основе выводов по теме занятия.

**Критерии оценки практического занятия:** Оцениваются правильность и последовательность действий после усвоения каждого этапа занятия, и подводится средний итоговый балл (см. Приложение 1.).

**МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ К ПРАКТИЧЕСКОМУ ЗАНЯТИЮ №14**  
**Подготовка материала к гистологическому исследованию.**  
**Фиксация и промывка материала для гистологического исследования**

<b>Цель:</b> формирование умений проводить подготовку биологического материала для гистологического исследования, взятия и этикетирования материала. Готовить простые и сложные фиксаторы и фиксировать взятый материал, проводить промывку фиксированного материала.		
<b>Тип занятия:</b> практическая работа		
<b>Планируемые результаты</b>	<b>Уметь</b>	<b>Знать</b>
	<ul style="list-style-type: none"> <li>- готовить материал, реактивы, лабораторную посуду и аппаратуру для гистологического исследования</li> <li>- готовить микропрепараты для исследований</li> <li>- готовить простые и сложные фиксаторы</li> <li>- проводить обработку материала после простых и сложных фиксаторов</li> <li>- собирать систему для промывки материала</li> <li>- оценивать качество приготовленных гистологических препаратов</li> <li>- регистрировать гистологические исследования в виде рисунка</li> <li>- архивировать оставшийся от исследования материал</li> <li>- проводить утилизацию отработанного материала, дезинфекцию и стерилизацию использованной лабораторной посуды, инструментария, средств защиты</li> <li>- оформлять учетно-отчетную документацию</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- задачи, структуру, оборудование, правила работы и техники безопасности в патогистологической лаборатории;</li> <li>- правила взятия, обработки и архивирования материала для гистологического и гистохимического исследований;</li> </ul>

**Ход практического занятия:**

1. Подготовка рабочего места, проверка наличия, требуемого материально – технического оснащения.
2. Совместная постановка цели занятия и планируемых результатов освоения темы.
3. Проверка домашнего задания: теоретический разбор материала по теме.
4. Формирование умений при проведении гистологической обработки материала: подготовка рабочего места для проведения гистологической обработки материала (биологический материал, реактивы, лабораторную посуду, аппаратуру); приготовление рабочих растворов ДС для дезинфекции использованной лабораторной посуды, инструментария, отработанного биоматериала; осуществление приема и регистрации материала для гистологического исследования, заполнение журнала регистрации; подготовки материала для гистологического исследования; архивирование материала; проведение утилизации отработанного материала, дезинфекции рабочего места, посуды, инструментария и средств защиты.
5. Контроль освоенных умений: демонстрация практических умений преподавателю на оценку.
6. Подведение итога занятия. Тестирование
7. Домашнее задание



**Оснащение занятия:**

Материально-техническое оснащение: автоклав, микроскоп, термостат электрический, бактерицидная лампа, бикс медицинский, планшет, дозатор, шпатель бактериологический, петля бактериологическая, лабораторная посуда.

Учебно-методическое оснащение: презентация, методические рекомендации к практическому занятию, симуляционное оборудование.

Программное обеспечение: Microsoft Office Word

**Учебно-методическая литература:** основная, дополнительная литература, Интернет-ресурсы

**Краткие теоретические и учебно-методические материалы по теме практической работы****1. Готовить материал, реактивы, лабораторную посуду и аппаратуру для гистологического исследования****Подготовка материала, реактивов, лабораторной посуды и аппаратуры для гистологического исследования****1. Подготовка материала для гистологического исследования:**

- Проверить целостность упаковки, в которой находится биологический материал:
  - целостность бечевки, которой завязан материал;
  - наличие (целостность) пломбы
- Сверить данные в направлении с доставленным материалом
- Зарегистрировать в журнале доставленный материал

**2. Подготовка реактивов и лабораторной посуды для гистологической обработки тканей и органов:**

- Подготовить мерные колбы и цилиндры для приготовления рабочих растворов реактивов
- Подготовить емкость (бутыль с завинчивающейся крышкой) для хранения готового раствора формалина
- Подготовить широкогорлые емкости объемом не менее 0,5литра для проведения проводки материала по батарее спиртов восходящей концентрации
- Подготовить рабочий раствор формалина для фиксации кусочков органов и тканей
- Визуально проверить качество спиртов для проводки (на предмет отсутствия мути и изменения цвета. При помутнении растворов спиртов заменить их на свежеприготовленный раствор спирта соответствующей концентрации)
- Проверить качество растворов красителей (гематоксилина и эозина). При изменении цвета или выпадении осадка, заменить на свежий раствор соответствующего красителя

**3. Подготовка аппаратуры для проведения гистологического исследования:**

- Включить термостат и выставить температуру 56-58<sup>0</sup>С для расплавления парафина (при температуре, ниже указанной парафин не расплавится, при более высокой температуре - закипит)
- Подготовить санний микротом к приготовлению срезов: почистить от остатков парафина (при их наличии), заточить или править микротомный нож

Подготовить микроскоп для микроскопического исследования гистопрепаратов.

Так же подготовить:

7. Подготовить образцы тканей к гистологической обработке
8. Подготовить необходимые реактивы и красители:
  - 10% раствор формалина для фиксации
  - батарея спиртов восходящей концентрации

- парафин
- раствор гематоксилина и эозина
- карбол-ксилол для просветления срезов

9. Подготовить аппаратуру для изготовления гистопрепаратов:

- термостат
- термостол
- санный микротом
- микроскоп

## **2. Проводить гистологическую обработку тканей и готовить микропрепараты для исследований**

### **Проведение гистологической обработки тканей и приготовление микропрепаратов для исследований**

1. Иссечение кусочков органов размером не более 1 см:

- паренхиматозные органы иссекают следующим образом:

- при наличии капсулы органа, чтобы попала и капсула, и сам орган
- если орган имеет в своем строении корковое и мозговое вещество, то иссекают так, чтобы в кусочек попало и корковое и мозговое вещество
- при наличии видимых изменений в структуре органа, иссекают здоровую часть на границе с измененной

- полые мышечные органы и кожу иссекают таким образом, чтобы попали все слои органа
- материал, имеющий размеры менее 1 см, дополнительного иссечения не требует.

2. Фиксация кусочков в растворе формалина 24 часа.

3. Промывка материала под проточной водой (1-2 суток)

4. Проводка материала по батарее спиртов восходящей концентрации (обезвоживание).

5. Пропитывание и заливка материала в застывающие среды (уплотнение материала)

6. Подготовка предметных стекол (обработка адгезивной жидкостью- смесью яичного белка с глицерином)

7. Изготовление среза на микротоме и наклеивание среза на предметное стекло

8. Депарафинизация срезов

9. Окрашивание среза для обзорного метода исследования (окраска гематоксилином и эозином)

10. Заключение среза в оптически прозрачную среду

### **3. Оценивать качество приготовленных гистологических препаратов и провести гистологическое исследование тканей с последующим описанием структур:**

- форма и размер клеток
- интенсивность окраски цитоплазмы
- наличие/отсутствие включений в цитоплазме
- форма и размер ядра
- наличие/отсутствие ядрышек
- хроматин

### **Оценка качества приготовленных гистологических препаратов**

1. Срез должен быть тонким (не более 10 мкм) для изучения структур в проходящем свете
2. Срез должен быть контрастным (тканевые и клеточные элементы должны быть хорошо прокрашены)
3. Тканевые и клеточные элементы не должны иметь признаков аутолиза (кусочек органа или ткани должен быть хорошо фиксирован)
4. Гистологический препарат после исследования должен подлежать архивному хранению

### Алгоритм проведения оценки качества приготовления гистопрепарата

1. Взять гистологический препарат и установить его на предметный столик микроскоп
2. Поднять столик под визуальным наблюдением сбоку с помощью мароквинта
3. Добиться появления изображения с помощью макровинта
4. Добиться четкости изображения с помощью микровинта
5. Просмотреть весь препарат
6. Провести оценку качества приготовления препарата:
  - качественно приготовленный гистологический препарат должен иметь толщину не более 10 мкм,
  - хорошо расправлен без образования складок и разрывов,
  - окраска среза равномерная с четким дифференцированием различных структур,
  - срезу хорошо просветлены,
  - без загрязнения срезов инородными частицами, кристаллами красителя, а также попадания пузырьков воздуха под покровное стекло

### 3. Рассмотреть и изучить микропрепараты:

#### Рассмотреть и изучить микропрепараты органов нервной системы:

1. Спинномозгового ганглия
2. Спинного мозга,
3. Кору больших полушарий,
4. Мозжечка

#### Рассмотреть и изучить микропрепараты органов чувств:

1. Орган зрения,
2. Орган слуха и равновесия,
3. Орган обоняния,
4. Орган вкуса
5. Орган осязания

Порядок идентификации и описание органа см. далее.

#### Порядок идентификации и описания органа в гистологическом микропрепарате:

При ответе по препарату необходимо указать:

1. Тип препарата.
  - Срез (основной тип)
  - Пленочный препарат
  - Мазок
  - Мазок-отпечаток (в нашем курсе не встречается)
  - Тотальный препарат (объект или его часть помещены на стекло полностью)
  - Соскоб (в нашем курсе не встречается)

2. Название препарата.

**Пример:** Данный препарат представляет собой <тип препарата> <название объекта>

3. Окраску или другой метод контрастирования препарата.
  - Гематоксилин и эозин (абсолютное большинство препаратов).
  - Азур-II и эозин (мазок крови).

При описании структур на препаратах, окрашенных кислыми и основными красителями (гематоксилин и эозин, азур-II и эозин) используйте термины:

- оксифильный (ацидофильный; иногда – эозинофильный)
- базофильный (иногда – азурофильный)
- нейтрофильный
- гетерофильный

4. Микроанатомическое описание основных структур органа на препарате.

5. Тканевой состав органа и его основных частей.

6. Детальное описание гистологических и цитологических структур, их функции и происхождение.

При описании микроскопического строения органа необходимо указать основную характеристику его строения:

Все органы можно разделить на три категории:

1. Паренхиматозные
2. Слоистые
3. Органы со специфической (узнаваемой) структурой

#### **4. Оформлять учетно-отчетную документацию**

##### **1. Регистрация поступившего биологического материала в журнале (форма №185/у, №186/у, № 014-2/у)**

Подготовить журнал (форма №185/у или № 186/у)

1. Проверить целостность упаковки, в которой находится биологический материал:
  - целостность бечевки, которой завязан материал;
  - наличие (целостность) пломбы
2. Взять направление на исследование и сверить данные в направлении с доставленным материалом
3. Зарегистрировать в журнале форма № 186/у «Журнал исследования трупной крови в лаборатории», указать данные:
  - присвоить порядковый номер;
  - Ф.И.О., возраст трупа, от которого взят материал;
  - фамилия эксперта, направившего материал;
  - № акта вскрытия;
  - дата вскрытия;
  - дата поступления материала в отделение;
  - упаковка, в которой поступил материал;
4. Зарегистрировать в журнале форма № 185/у «Журнал регистрации мазков и тампонов», указать данные:
  - присвоить порядковый номер
  - фамилия эксперта, направившего мазок, тампон;
  - № и дата направления
  - дата поступления
  - в каком виде поступил мазок, тампон
  - принадлежность мазка, тампона
  - возраст
5. Зарегистрировать в журнале форма № 014-2/у «Журнал регистрации поступления биопсийного (операционного) материала и выдачи результатов прижизненных патолого-анатомических исследований» указать данные:
  - присвоить порядковый номер
  - наименование направившей МО (структурное подразделение)
  - дата и время поступления (число, месяц, год, ч, мин) материала
  - Ф.И.О. пациента
  - дата рождения
  - порядковый номер флакона
  - количество объектов
  - Ф.И.О. врача-патологоанатома
  - дата выдачи
  - расписка в получении

## 2. Заполнение направления на судебно-гистологическое исследование объекта (форма № 180/у или № 179/у)»

Подготовить журнал (форма №180/у или № 179/у)

1. Заполнить соответствующие графы направления:
  - подразделение, куда направляется объект
  - Ф.И.О. возраст (год рождения) и пол умершего
  - дата смерти
  - номер и дата акта судебно-медицинской экспертизы трупа
  - общее количество и перечень объектов, направленных на исследование
  - опечатывание объекта и формы опечатывания
  - краткие обстоятельства дела
  - основные данные исследования трупа и установленный судебно-медицинский диагноз
  - вопросы, подлежащие разрешению экспертом
  - дата заполнения направления
  - фамилия, инициалы и подпись судмедэксперта, направившего материала на исследование
2. Сделать надпись на направлении «Биологическая опасность» при направлении объектов от инфицированных трупов (туберкулез, гепатит, ВИЧ и др.)

## 3. Регистрация патологоанатомического заключения в журнал регистрации

1. Взять заполненный врачом протокол прижизненного патологоанатомического исследования биопсийного (операционного) материала
2. Взять журнал регистрации патологоанатомического исследования биопсийного (операционного) материала
3. Перенести все данные из протокола в журнал регистрации
4. Заполнить графы журнала согласно требованиям,
5. Поставить подпись, Ф.И.О. заполнявшего, дату

### *Типовые задания:*

#### **Симуляционное задание.**

1. Изучить общие правила фиксации (при работе с фиксирующими жидкостями)
2. Повторить использование системы контроля за реагентами, применяемой в современных гистологических процессорах.
3. Повторить возможные погрешности при изготовлении парафиновых срезов

#### **Проблемно-ситуационная задача.**

При помощи меченых антител к кальцитонину на гистопрепарате щитовидной железы выявлены определенные клетки.

*Задания для студента:*

1. Проведите осмотр препарата щитовидной железы
2. Запишите план строения железы
3. Клетки выявлены на гистопрепарате щитовидной железы

*Образец выполнения проблемно-ситуационного задания:*

1. Осмотр препарата щитовидной железы - на гистопрепарате щитовидной железы выявлены определенные клетки
2. План строения железы. В щитовидной железе имеются два типа эндокринных клеток, разных по происхождению и вырабатываемым гормонам. Фолликулярные эндокриноциты - тироциты вырабатывают йодсодержащие гормоны (тетрайодтиронин - тироксин и трийодтиронин), влияющие на основной обмен. Парафолликулярные клетки продуцируют кальцитонин, снижающий уровень кальция в крови и вместе с паратгормоном паращитовидных желез, повышающим кальций в крови, регулирует гомеостаз кальция в организме

3. Клетки выявленные на гистопрепарате щитовидной железы. Парафолликулярные клетки. Клетки имеют осмиофильные и аргирофильные гранулы. Гранулы клеток, вырабатывающих кальцитонин, мелкие, осмиофильные. Деятельность парафолликулярных клеток не регулируется гормонами гипофиза. При помощи меченых антител к кальцитонину на гистопрепарате щитовидной - железы выявляются эти парафолликулярные клетки.

**Ведение учетной медицинской документации:**

1. Регистрация поступившего биологического материала в журнале (форма №185/у, №186/у, № 014-2/у)
2. Заполнение направления на судебно-гистологическое исследование объекта (форма № 180/у или № 179/у)»

**Вопросы для закрепления теоретического материала:**

1. Нейросекреторные ядра гипоталамуса, их гормоны, значение?
2. Нейрогипофиз и понятие о нейрогемальных органах?
3. Эпифиз. Строение, две основные группы гормонов?
4. Щитовидная железа. Фолликулярные и парафолликулярные клетки. Их гормоны и значение?
5. Паращитовидная железа. Строение, гормоны, функция?
6. Надпочечники: корковое вещество, мозговое вещество, гормоны и их значение. Понятие о неспецифическом адаптационном синдроме?

**Отчетность:** выполнение гистологического исследования микропрепаратов органов, выполнение рисунков органов; решение задач.

**Требования к оформлению отчета по практической работе:**

Отчет по практической работе выполняется письменно как домашнее задание в свободной форме. В работе студент должен отразить весь объем полученной информации и сделать заключение на основе выводов.

**Критерии оценки практического занятия:** Оцениваются правильность и последовательность действий после усвоения каждого этапа занятия, и подводится средний итоговый балл. (Приложение 1).

**МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ К ПРАКТИЧЕСКОМУ ЗАНЯТИЮ №15**  
**Пропитывание и заливка материала в парафин. Формирование парафиновых блоков**

<b>Цель:</b> формирование умений пропитывать и заливать материал в застывающие среды		
<b>Тип занятия:</b> практическая работа		
<b>Планируемые результаты</b>	<b>Уметь</b>	<b>Знать</b>
	<ul style="list-style-type: none"> <li>- готовить материал, реактивы, лабораторную посуду и аппаратуру для пропитывания и заливки материала в застывающие среды</li> <li>- проводить гистологическую обработку биологического материала</li> <li>- готовить парафин к работе</li> <li>- пропитывать и осуществлять заливку материала в парафин и целлоидин</li> <li>- формировать и наклеивать парафиновые блоки</li> <li>- оценивать качество приготовленных гистологических препаратов</li> <li>- регистрировать гистологические исследования в виде рисунка</li> <li>- архивировать оставшийся от исследования материал</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- задачи, структуру, оборудование, правила работы и техники безопасности в патогистологической лаборатории;</li> <li>- правила взятия, обработки и архивирования материала для гистологического и гистохимического исследований;</li> </ul>

**Ход практического занятия:**

1. Подготовка рабочего места, проверка наличия, требуемого материально – технического оснащения.
2. Совместная постановка цели занятия и планируемых результатов освоения темы.
3. Проверка домашнего задания: теоретический разбор материала по теме.
4. Формирование умений при проведении гистологической обработки материала: подготовка рабочего места для проведения гистологической обработки материала (биологический материал, реактивы, лабораторную посуду, аппаратуру); осуществление пропитывания и заливки материала в парафин; формирование и наклеивание блоков; архивирование материала.
5. Контроль освоенных умений: демонстрация практических умений преподавателю на оценку.
6. Подведение итога занятия.
7. Домашнее задание

**Оснащение занятия:**

Материально-техническое оснащение: автоклав, микроскоп, термостат электрический, бактерицидная лампа, бикс медицинский, планшет, дозатор, шпатель бактериологический, петля бактериологическая, лабораторная посуда.

Учебно-методическое оснащение: презентация, методические рекомендации к практическому занятию, симуляционное оборудование.

Программное обеспечение: Microsoft Office Word

**Учебно-методическая литература:** основная, дополнительная литература, Интернет-ресурсы

## Краткие теоретические и учебно-методические материалы по теме практической работы

### 1. Готовить материал, реактивы, лабораторную посуду и аппаратуру для гистологического исследования

#### Подготовка материала, реактивов, лабораторной посуды и аппаратуры для гистологического исследования

##### 1. Подготовка материала для гистологического исследования:

- Проверить целостность упаковки, в которой находится биологический материал:
  - целостность бечевки, которой завязан материал;
  - наличие (целостность) пломбы
- Сверить данные в направлении с доставленным материалом
- Зарегистрировать в журнале доставленный материал

##### 2. Подготовка реактивов и лабораторной посуды для гистологической обработки тканей и органов:

- Подготовить мерные колбы и цилиндры для приготовления рабочих растворов реактивов
- Подготовить емкость (бутыль с завинчивающейся крышкой) для хранения готового раствора формалина
- Подготовить широкогорлые емкости объемом не менее 0,5литра для проведения проводки материала по батарее спиртов восходящей концентрации
- Подготовить рабочий раствор формалина для фиксации кусочков органов и тканей
- Визуально проверить качество спиртов для проводки (на предмет отсутствия мути и изменения цвета. При помутнении растворов спиртов заменить их на свежеприготовленный раствор спирта соответствующей концентрации)
- Проверить качество растворов красителей (гематоксилина и эозина). При изменении цвета или выпадении осадка, заменить на свежий раствор соответствующего красителя

##### 3. Подготовка аппаратуры для проведения гистологического исследования:

- Включить термостат и выставить температуру 56-58<sup>0</sup>С для расплавления парафина (при температуре, ниже указанной парафин не расплавится, при более высокой температуре - закипит)
- Подготовить санный микротом к приготовлению срезов: почистить от остатков парафина (при их наличии), заточить или править микротомный нож

Подготовить микроскоп для микроскопического исследования гистопрепаратов.

Так же подготовить:

10. Подготовить образцы тканей к гистологической обработке

11. Подготовить необходимые реактивы и красители:

- 10% раствор формалина для фиксации
- батарея спиртов восходящей концентрации
- парафин
- раствор гематоксилина и эозина
- карбол-ксилол для просветления срезов

12. Подготовить аппаратуру для изготовления гистопрепаратов:

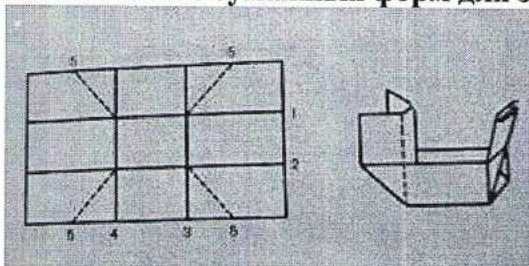
- термостат
- термостол ,
- санный микротом
- микроскоп



### Так же подготовить:

1. Подготовить образцы тканей к гистологической обработке
2. Подготовить необходимые реактивы:
  - смесь парафин-ксилол
  - парафин
3. Подготовить аппаратуру для изготовления гистопрепаратов:
  - термостат
  - термостол
  - форма для изготовления парафиновых блоков

### Изготовление бумажных форм для заливки материала в парафин по схеме (см.рисунок).



## 2.Проводить гистологическую обработку тканей и готовить микропрепараты для исследований

### Проведение гистологической обработки тканей и приготовление микропрепаратов для исследований

1. Иссечение кусочков органов размером не более 1 см:
  - паренхиматозные органы иссекают следующим образом:
    - при наличии капсулы органа, чтобы попала и капсула, и сам орган
    - если орган имеет в своем строении корковое и мозговое вещество, то иссекают так, чтобы в кусочек попало и корковое и мозговое вещество
    - при наличии видимых изменений в структуре органа, иссекают здоровую часть на границе с измененной
  - полые мышечные органы и кожу иссекают таким образом, чтобы попали все слои органа
  - материал, имеющий размеры менее 1 см, дополнительного иссечения не требует.
2. Фиксация кусочков в растворе формалина 24 часа.
3. Промывка материала под проточной водой (1-2суток)
4. Проводка материала по батарее спиртов восходящей концентрации (обезвоживание).
5. Пропитывание и заливка материала в застывающие среды (уплотнение материала)
6. Подготовка предметных стекол (обработка адгезивной жидкостью- смесью яичного белка с глицерином)
7. Изготовление среза на микротоме и наклеивание среза на предметное стекло
8. Депарафинизация срезов
9. Окрашивание среза для обзорного метода исследования (окраска гематоксилином и эозином)
10. Заключение среза в оптически прозрачную среду

## 3.Проводить пропитывания материала и заливки в парафин

### Алгоритм пропитывания материала и заливки в парафин

#### Оснащение:

1. Термостат
2. Пинцет, лоток, марлевые салфетки, ножницы, карандаш, бумага для этикетирования
3. Емкости с парафином I и II порции. Емкость с парафином с добавлением воска для заливки

4. Емкость с насыщенным раствором парафина в ксилоле

*Подготовка к процедуре:*

5. Подготовить парафин и смесь парафин-ксилол: растопить в термостате при температуре 58<sup>0</sup>С

*Выполнение процедуры:*

6. Переместить кусочки с помощью пинцета из ксилола в раствор парафин-ксилол на 2-4 часа

7. Переместить кусочки с помощью пинцета из раствора парафин-ксилол в емкость с парафином I. Время пропитывания 4-6 часов при 58<sup>0</sup>С

8. Переместить кусочки из емкости I в емкость II. Время пропитывания 4-6 часов при 58<sup>0</sup>С

9. С помощью пинцета извлечь кусочки из парафина на термостолик. Освободить от марлевых салфеток.

10. Аккуратно переместить кусочки в форму для заливки. С помощью пинцета ориентировать кусочки в нужном направлении: плоскость резки ко дну формочки. Каждый кусочек в отдельную форму!!!

11. Залить кусочки расплавленным парафином с воском.

12. Карандашом на листе написать порядковый номер исследуемого материала. Один край этикетки неглубоко поместить в блок с жидким парафином таким образом, чтобы был виден номер.

13. Охладить форму с блоками при комнатной температуре. (при срочном исследовании допускается охлаждение в холодильнике)

14. После полного застывания парафина извлечь блоки из формы.

15. Подготовить парафиновые блоки к приготовлению срезов на микротоме: удалить скальпелем с краев блока излишки парафина, не повреждая кусочек органа.

*Завершение процедуры:*

16. Убрать рабочее место: очистить поверхности стола, инструментария от остатков парафина

17. Снять перчатки, погрузить их в дез.раствор. Вымыть руки.

#### **1. Оценивать качество приготовленных парафиновых блоков**

- материал полностью пропитан парафином
- в парафиновом блоке нет пустот и пузырьков воздуха
- отсутствуют беловатые участки
- кусочек органа не выпадает из парафинового блока

#### **2. Архивировать оставшийся от исследования материал**

Оставшийся после исследования материал подготовить для архивного хранения:

- Снять скальпелем материал с блока, завернуть в марлевую салфетку и индивидуальный пакет и присвоить номер исследования, указать дату.
- Поместить в выбранную тару парафиновый блок
- К таре прикрепить бирку с датой и номером исследования
- Поместить на специальный промаркированный стеллаж

#### **4. Проводить утилизацию отработанного материала, дезинфекцию и стерилизацию использованной лабораторной посуды, инструментария, средств защиты**

**Утилизация отработанного материала, дезинфекция и стерилизация лабораторной посуды, инструментария, средств защиты**

**1) Приготовление дезинфицирующего раствора** (см. инструкцию, прилагаемую к используемому в лаборатории дезинфицирующему средству)

**2) Сбор и утилизация отходов (отработанного материала)** (см. СанПиН 3.3684-21"

"Санитарно-эпидемиологические требования к содержанию территорий городских и сельских поселений, к водным объектам, питьевой воде и питьевому водоснабжению, атмосферному воздуху, почвам, жилым помещениям, эксплуатации производственных, общественных помещений, организации и проведению санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий".)

**3) Дезинфекция лабораторной посуды, инструментария, средств защиты** проводится в соответствии с инструкцией, прилагаемой к используемому дезинфицирующему средству (концентрация дез.раствора, экспозиция)

**4) Предстерилизационная очистка** лабораторной посуды и инструментария проводится путем механического удаления загрязнения. Контроль ПСО на наличие остатков дез.раствора.

**5) Стерилизация лабораторной посуды и инструментария:**

- стерилизация сухим жаром 180<sup>0</sup>С - 60 минут
- автоклавирование при давлении 1,5 атм. в течение 60 минут, для уничтожения споровой микрофлоры – 90 минут при 2 атм.

**Типовые задания:**

**Симуляционное задание.**

- Провести контроль застывания блока с парафином
- Повторить правила при работе с большим количеством кассет для заливки парафина
- Повторить чему равен средний уровень продуктивности на заливке блоков с парафином

**Проблемно-ситуационная задача.**

Вам предстоит продемонстрировать заливку объектов в парафин. Ваши действия.

**Задания для студента:**

1. Проведите выбор парафина с температурой плавления 52 – 56 °С.
2. Проведите пропитку парафином в термостате
3. Какие схемы ручной проводки и пропитывания материала.

**Образец выполнения проблемно-ситуационного задания:**

1. Выбор парафина с температурой плавления 52 – 56 °С. Сорты парафина, используемые в качестве среды для гистологической заливки, имеют температуру плавления от 48 до 60 °С. Наиболее удобен в повседневной работе парафин с температурой плавления 52 – 56 °С. Без дополнительной подготовки технический, пищевой и медицинский парафины не позволяют производить заливку, обеспечивающую высокое качество срезов. В гистологической лаборатории желательно использовать очищенные сорта парафина с добавлением восков или специально разработанные на основе парафина среды с модифицирующими добавками, такие как гистомикс («БиоВитрум», Россия)

2. Пропитку парафином проводят в термостате, обеспечивающем поддержание температуры на 1 – 2 °С выше температуры плавления используемого парафина (обычно устанавливают температуру 58 °С). Поскольку расплавленный парафин и этанол не смешиваются, из обезвоженного материала следует удалить спирт (или метилсалицилат, если он был использован для длительного хранения объектов) при помощи промежуточной среды – растворителя парафина, смешивающегося с этанолом.

**3. Рекомендуемые схемы ручной проводки и пропитывания материала:**

1. Заливка в парафин с использованием хлороформа.

Обезвоженные объекты помещают последовательно в следующие среды:

- смесь абсолютного этанола с хлороформом 1: 1 – 1 – 2 ч;
- хлороформ (I) – 1 ч;

- хлороформ (II) – 1 ч;
- хлороформ (III) – 1 ч;
- хлороформ – парафин (1: 1) в термостате при 37 °С – 12 – 24 ч;
- парафин (I) в термостате при 56 – 58 °С – 40 – 60 мин;

## 2. Заливка в парафин с использованием петролейного эфира.

Обезвоженные объекты помещают последовательно в следующие среды:

- петролейный эфир (I), – 30 – 60 мин;
- петролейный эфир (II) – 30 – 60 мин;
- петролейный эфир (III) – 30 – 60 мин
- петролейный эфир-парафин (1:1) в термостате при 37 °С – 3 – 24 ч;
- парафин (I) в термостате при 56 – 58 °С – 60 мин;
- парафин (II) в термостате при 56 – 58 °С – 60 мин.

3. Схема проводки материала и заливки в парафин после фиксации объектов в жидкости Буэна. Перед фиксацией мелкие, тонкие и легко деформирующиеся объекты необходимо поместить на кусочек плотной бумаги. Обезвоженные объекты помещают последовательно в следующие среды:

- жидкость Буэна для фиксации – 1 сут;
- короткая промывка в водопроводной воде – 1 – 15 мин;
- этанол 70 %-й – 1 сут; – этанол 80 %-й – 1 – 7 сут;
- этанол 90 %-й – 1 сут; – этанол 96 %-й - 1 сут;

По окончании проводки осуществляется заливка. Объект помещают в бумажную или подогретую в термостате специальную пластиковую (из полипропилена, полистирола и т. п.) или металлическую формочку. Далее в нее наливают свежую порцию разогретого до 58 – 65 °С парафина. Разогрев заливочного парафина свыше 56 °С рекомендуется в связи с возможностью быстрого застывания парафина, вынутого из термостата, что приводит к неравномерной заливке блока с сохранением пустот

### Вопросы для закрепления теоретического материала:

1. Охарактеризуйте свойства парафина и назовите его сорта?
2. Поясните методику подготовки парафина к заливке?
3. Назовите растворители парафина и особенности работы с ними?
4. Укажите время пропитывания материала парафином по обычной и ускоренной схемам?
5. Охарактеризуйте формы для заливки материала в парафин?

**Отчетность:** подготовка реактивов, выполнение манипуляций

### Требования к оформлению отчета по практической работе:

Отчет по практической работе выполняется письменно как домашнее задание в свободной форме. В работе студент должен отразить весь объем полученной информации и сделать заключение на основе выводов.

**Критерии оценки практического занятия:** Оцениваются правильность и последовательность действий после усвоения каждого этапа занятия, и подводится средний итоговый балл. (Приложение 1).

**МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ К ПРАКТИЧЕСКОМУ ЗАНЯТИЮ №16**  
**Изготовление гистологических срезов на микротоме,**  
**наклеивание срезов на предметное стекло**

<b>Цель:</b> формирование умений изготовления гистологических срезов на микротоме и наклеивание их на предметное стекло, затачивания и правки микротомных ножей		
<b>Тип занятия:</b> практическая работа		
<b>Планируемые результаты</b>	<b>Уметь</b>	<b>Знать</b>
	<ul style="list-style-type: none"> <li>- готовить материал, реактивы, лабораторную посуду и аппаратуру для изготовления гистологических срезов</li> <li>- работать на микротоме</li> <li>- изготавливать гистологические срезы на санном и ротационном микротоме</li> <li>- наклеивать срезы на предметное стекло</li> <li>- оценивать качество приготовленных гистологических препаратов</li> <li>- архивировать оставшийся от исследования материал</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- задачи, структуру, оборудование, правила работы и техники безопасности в патогистологической лаборатории;</li> <li>- правила взятия, обработки и архивирования материала для гистологического и гистохимического исследований;</li> <li>- критерии качества гистологических и гистохимических препаратов;</li> </ul>

**Ход практического занятия:**

1. Подготовка рабочего места, проверка наличия, требуемого материально – технического оснащения.
2. Совместная постановка цели занятия и планируемых результатов освоения темы.
3. Проверка домашнего задания: теоретический разбор материала по теме.
4. Формирование умений при проведении гистологической обработки материала: подготовка рабочего места для проведения гистологической обработки материала (биологический материал, реактивы, лабораторную посуду, аппаратуру); подготовка предметных стекол для приклеивания гистологических срезов; изготовление гистологических срезов на санном и ротационном микротоме и наклеивание их на предметное стекло; архивирование материала.
5. Контроль освоенных умений: демонстрация практических умений преподавателю на оценку.
6. Подведение итога занятия.
7. Домашнее задание

**Оснащение занятия:**

Материально-техническое оснащение: автоклав, микроскоп, термостат электрический, бактерицидная лампа, бикс медицинский, планшет, дозатор, шпатель бактериологический, петля бактериологическая, лабораторная посуда.

Учебно-методическое оснащение: презентация, методические рекомендации к практическому занятию, симуляционное оборудование.

Программное обеспечение: Microsoft Office Word

**Учебно-методическая литература:** основная, дополнительная литература, Интернет-ресурсы

## Краткие теоретические и учебно-методические материалы по теме практической работы

**1. Готовить материал, реактивы, лабораторную посуду и аппаратуру для гистологического исследования**

**Подготовка материала, реактивов, лабораторной посуды и аппаратуры для гистологического исследования**

1. Подготовка материала для гистологического исследования:

- Проверить целостность упаковки, в которой находится биологический материал:
  - целостность бечевки, которой завязан материал;
  - наличие (целостность) пломбы
- Сверить данные в направлении с доставленным материалом
- Зарегистрировать в журнале доставленный материал

2. Подготовка реактивов и лабораторной посуды для гистологической обработки тканей и органов:

- Подготовить мерные колбы и цилиндры для приготовления рабочих растворов реактивов
- Подготовить емкость (бутыль с завинчивающейся крышкой) для хранения готового раствора формалина
- Подготовить широкогорлые емкости объемом не менее 0,5 литра для проведения проводки материала по батарее спиртов восходящей концентрации
- Подготовить рабочий раствор формалина для фиксации кусочков органов и тканей
- Визуально проверить качество спиртов для проводки (на предмет отсутствия мути и изменения цвета. При помутнении растворов спиртов заменить их на свежеприготовленный раствор спирта соответствующей концентрации)
- Проверить качество растворов красителей (гематоксилина и эозина). При изменении цвета или выпадении осадка, заменить на свежий раствор соответствующего красителя

3. Подготовка аппаратуры для проведения гистологического исследования:

- Включить термостат и выставить температуру 56-58<sup>0</sup>С для расплавления парафина (при температуре, ниже указанной парафин не расплавится, при более высокой температуре - закипит)
- Подготовить санний микротом к приготовлению срезов: почистить от остатков парафина (при их наличии), заточить или править микротомный нож

Подготовить микроскоп для микроскопического исследования гистопрепаратов.

Так же подготовить:

13. Подготовить образцы тканей к гистологической обработке

14. Подготовить необходимые реактивы и красители:

- 10% раствор формалина для фиксации
- батарея спиртов восходящей концентрации
- парафин
- раствор гематоксилина и эозина
- карбол-ксилол для просветления срезов

15. Подготовить аппаратуру для изготовления гистопрепаратов:

- термостат
- термостолик
- санний микротом
- микроскоп

## 2. Подготовка предметного стекла к наклеиванию срезов

1. Подготовить парафиновые блоки к изготовлению срезов
2. Подготовить предметные стекла к наклеиванию срезов: обработать предметные стекла адгезивной смесью (смесь яичного белка с глицерином)

### Подготовка стекол к наклеиванию срезов

Берут свежий яичный белок (без примеси желтка), взбивают вилкой или шпателем до состояния пены и выливают на большой широкопористый фильтр, предварительно смоченный дистиллированной водой. Фильтрация продолжается около 24 часов. К профильтрованному белку прибавляют равный объем глицерина, размешивают и добавляют кусочек тимола для предупреждения загнивания.

Ход наклейки

1. Обезжиривание предметных стекол проводится при помощи обработки их поверхности: спирт-эфиром или мылом.
  2. Наносят каплю клея, растирают ее пальцем на поверхности предметного стекла до ощущения сухости.
  3. Коагулируют белок на пламени горелки.
  4. Вылавливают срез из воды на стекло или сухой срез кладут на предметное стекло и подливают под него пипеткой несколько капель теплой воды. Благодаря этому уничтожаются складки, среза.
  5. Остатки воды вокруг среза тщательно удаляют тряпочкой и проглаживают пальцем через 2-3 слоя сухой и теплой тряпочкой.
  6. Стекло со срезом проэтикетировать: указать порядковый номер исследования
- Наклеенные срезы могут храниться неопределенный период времени.

3. Подготовить аппаратуру для изготовления гистопрепаратов:  
- микротом

**Проводить гистологическую обработку тканей и готовить микропрепараты для исследований**

**Проведение гистологической обработки тканей и приготовление микропрепаратов для исследований**

1. Иссечение кусочков органов размером не более 1 см:
  - паренхиматозные органы иссекают следующим образом:
    - при наличии капсулы органа, чтобы попала и капсула, и сам орган
    - если орган имеет в своем строении корковое и мозговое вещество, то иссекают так, чтобы в кусочек попало и корковое и мозговое вещество
    - при наличии видимых изменений в структуре органа, иссекают здоровую часть на границе с измененной
  - полые мышечные органы и кожу иссекают таким образом, чтобы попали все слои органа
  - материал, имеющий размеры менее 1 см, дополнительного иссечения не требует.
2. Фиксация кусочков в растворе формалина 24 часа.
3. Промывка материала под проточной водой (1-2 суток)
4. Проводка материала по батарее спиртов восходящей концентрации (обезвоживание).
5. Пропитывание и заливка материала в застывающие среды (уплотнение материала)
6. Подготовка предметных стекол (обработка адгезивной жидкостью- смесью яичного белка с глицерином)
7. Изготовление среза на микротоме и наклеивание среза на предметное стекло
8. Депарафинизация срезов

9. Окрашивание среза для обзорного метода исследования (окраска гематоксилином и эозином)

Заключение среза в оптически прозрачную среду

#### Алгоритм изготовления среза на санном микротоме

1. Парафиновый блок зажать в объектодержатель.
2. Установить нужный угол наклона ножа (оптимальный 13-15°) в зависимости от плотности ткани,
3. Медленно подвести нож к блоку, регулируют его высоту до соприкосновения с ножом.
4. Сначала выравнять поверхность блока, установив микрометрическую шкалу на получение толстых (20-25 мкм) срезов,
5. Затем шкалу перевести на 2-5 мкм
6. Приступить к резанию материала.
7. Полученный срез, аккуратно с помощью препаровальной иглы снять с ножа
8. Для расправления поместить срез в чашку Петри с теплой водой (35-40°C)

Как правило, нож располагается перпендикулярно, но возможно также получение срезов (особенно с более плотных объектов) ножом, который установлен под углом к станине микротоме.

#### Демонстрация техники заточки и правки микротомного ножа

Вручную микротомные ножи точат на камне, имеющем форму бруска. **Желтый**, так называемый **бельгийский камень** используют для заточки первым, затем продолжают заточку на **белом камне (арканзасе)**, который имеет более мелкую зернистость. Можно использовать **природный аспидный камень**, который также имеет крупнозернистую и мелкозернистую поверхность.

#### Алгоритм заточки микротомных ножей.

1. Перед заточкой на поверхность камня наносят машинное масло или керосин, глицерин, разведенный 70 % спиртом (1:1), мыльную воду.
  2. На спинку ножа надевают специальный обушок (желательно постоянно используемый для заточки одних и тех же ножей — это определяет угол заточки), а в стержень или отверстие в торцевой части ножа вкручивают ручку.
  3. Затем нож кладут обушком на камень, по которому скользит и лезвие под действием собственной тяжести.
  4. Нож проводят по камню с одного конца на другой, а затем, поворачивая через обушок, осуществляют движение в обратном направлении.
- Продолжительность процесса зависит от квалификации лаборанта и состояния режущей кромки ножа. В среднем она составляет от 30 мин до 1 ч. Периодически контролируют качество заточки, осторожно укладывая нож на предметный столик микроскоп и перемещая его так, чтобы режущая кромка проходила через поле зрения при малом увеличении. Затем нож правят на широком ремне, натянутом на деревянную колодку. Правку проводят так же, как и заточку (через обушок).

#### 1. Оценивать качество приготовленных гистологических препаратов:

Качественно приготовленный гистологический препарат должен:

1. Иметь толщину не более 10 мкм
2. Быть хорошо расправленным без образования складок и разрывов.
3. При невозможности получить качественный срез допускается изготовление срезов и их фрагментов различной толщины.

#### 2. Архивировать оставшийся от исследования материал

Оставшийся после исследования материал подготовить для архивного хранения:



- Снять скальпелем материал с блока, завернуть в марлевую салфетку и индивидуальный пакет и присвоить номер исследования, указать дату.
- Поместить в выбранную тару парафиновый блок
- К таре прикрепить бирку с датой и номером исследования
- Поместить на специальный промаркированный стеллаж

### **3. Оформлять учетно-отчетную документацию**

**Зарегистрировать поступивший биоматериал в журнале регистрации**

**Регистрация поступившего биологического материала в журнале (форма №185/у, №186/у, № 014-2/у)**

Подготовить журнал (форма №185/у или № 186/у)

1. Проверить целостность упаковки, в которой находится биологический материал:
  - целостность бечевки, которой завязан материал;
  - наличие (целостность) пломбы
2. Взять направление на исследование и сверить данные в направлении с доставленным материалом
3. Зарегистрировать в журнале форма № 186/у «Журнал исследования трупной крови в лаборатории», указать данные:
  - присвоить порядковый номер;
  - Ф.И.О., возраст трупа, от которого взят материал;
  - фамилия эксперта, направившего материал;
  - № акта вскрытия;
  - дата вскрытия;
  - дата поступления материала в отделение;
  - упаковка, в которой поступил материал;
4. Зарегистрировать в журнале форма № 185/у «Журнал регистрации мазков и тампонов», указать данные:
  - присвоить порядковый номер
  - фамилия эксперта, направившего мазок, тампон;
  - № и дата направления
  - дата поступления
  - в каком виде поступил мазок, тампон
  - принадлежность мазка, тампона
  - возраст
5. Зарегистрировать в журнале форма № 014-2/у«Журнал регистрации поступления биопсийного (операционного) материала и выдачи результатов прижизненных патолого-анатомических исследований» указать данные:
  - присвоить порядковый номер
  - наименование направившей МО (структурное подразделение)
  - дата и время поступления (число, месяц, год, ч, мин) материала
  - Ф.И.О. пациента
  - дата рождения
  - порядковый номер флакона
  - количество объектов
  - Ф.И.О. врача-патологоанатома
  - дата выдачи
  - расписка в получении

**4.Проводить утилизацию отработанного материала, дезинфекцию и стерилизацию использованной лабораторной посуды, инструментария, средств защиты**

## Утилизация отработанного материала, дезинфекция и стерилизация лабораторной посуды, инструментария, средств защиты

1) **Приготовление дезинфицирующего раствора** (см. инструкцию, прилагаемую к используемому в лаборатории дезинфицирующему средству)

2) **Сбор и утилизация отходов (отработанного материала)** (см. СанПиН 3.3684-21"

"Санитарно-эпидемиологические требования к содержанию территорий городских и сельских поселений, к водным объектам, питьевой воде и питьевому водоснабжению, атмосферному воздуху, почвам, жилым помещениям, эксплуатации производственных, общественных помещений, организации и проведению санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий".)

3) **Дезинфекция лабораторной посуды, инструментария, средств защиты** проводится в соответствии с инструкцией, прилагаемой к используемому дезинфицирующему средству (концентрация дез.раствора, экспозиция)

4) **Предстерилизационная очистка** лабораторной посуды и инструментария проводится путем механического удаления загрязнения. Контроль ПСО на наличие остатков дез.раствора.

5) **Стерилизация лабораторной посуды и инструментария:**

- стерилизация сухим жаром 180<sup>0</sup>С - 60 минут
- автоклавирование при давлении 1,5 атм. в течение 60 минут, для уничтожения споровой микрофлоры – 90 минут при 2 атм.

### Типовые задания:

#### Симуляционное задание.

- Подготовка стекол к наклеиванию срезов
- Проведение гистологической обработки тканей и приготовление микропрепаратов для исследований
- Демонстрация техники заточки и правки микротомного ножа

### Проблемно-ситуационная задача.

Вам необходимо провести приготовление гистологического препарата. (Ваш этап фиксирование или фиксация)

#### Задания для студента:

1. Назовите основные этапы изготовления гистологического препарата
2. Что такое фиксация и в чем ее сущность
3. Какие наиболее употребляемые в гистологической практике простые и сложные химические фиксаторы вы знаете

#### Образец выполнения проблемно-ситуационного задания:

1. Основные этапы изготовления гистологического препарата:

1. Взятие материала.
2. Фиксация. 3. Промывка.
4. Обезвоживание и уплотнение.
5. Заливка в плотные среды.
6. Изготовление срезов.
7. Окрашивание.
8. Просветление и заключение в среду, служащую для сохранения препарата.

2. Что такое фиксация и в чем ее сущность:

Фиксирование или фиксация заключается в том, что кусочек подлежащего исследованию органа помещается на определенное время в фиксирующую жидкость, содержащую в себе вещества, быстро свертывающие белки. Такими веществами

являются спирт, слабые растворы многих кислот (уксусной, азотной, хромовой и др.), формалин, соли металлов (сулема, двухромовокислый калий).

Фиксирующее вещество, убивая клетки, должно сохранить в максимальной степени их прижизненную структуру. Фиксация нужна не только для того, чтобы убить ткань. Важно также осадить и связать имеющиеся в клетке вещества и структуры, сделав их в клетке недоступными для извлечения или разрушения при последующей обработке ткани. Фиксатор должен повышать способность структур воспринимать гистологические красители. В фиксирующей жидкости кусочек остается до полного пропитывания ткани на всю глубину.

3. Какие наиболее употребляемые в гистологической практике простые и сложные химические фиксаторы вы знаете

Фиксаторы могут быть простые и сложные:

К простым относят формалин (обычно 10–12% раствор), метиловый спирт, тетраоксид осмия (1–2% раствор) и др.

Сложные фиксаторы состоят из нескольких компонентов. Например, в состав смеси Буэна входят формалин, уксусная кислота, пикриновая кислота; в состав жидкости Ценкера – уксусная кислота, сулема, бихромат калия, сульфат натрия

#### **Ведение учетной медицинской документации:**

1. Регистрация поступившего биологического материала в журнале (форма №185/у, №186/у, № 014-2/у)
2. Заполнение направления на судебно-гистологическое исследование объекта (форма № 180/у или № 179/у)»

#### **Вопросы для закрепления теоретического материала**

1. Как изменяется угол резания ножа в зависимости от твердости материала?
2. Поясните технику приготовления парафинового среза на санном микротоме?
3. Назовите критерии хорошего качества наклейки срезов?
4. Перечислите правила техники безопасности при работе на микротоме?
5. Перечислите возможные погрешности при изготовлении среза и способы их устранения?

**Отчетность:** конспектирование алгоритмов, выполнение срезов на санном микротоме, подготовка стекол, наклеивание срезов на предметные стекла. Заточка и правка микротомных ножей.

#### **Требования к оформлению отчета по практической работе**

Отчет по практической работе выполняется письменно как домашнее задание в свободной форме. В работе студент должен отразить весь объем полученной информации и сделать заключение на основе выводов.

**Критерии оценки практического занятия:** Оцениваются правильность и последовательность действий после усвоения каждого этапа занятия, и подводится средний итоговый балл. (Приложение 1).

**МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ К ПРАКТИЧЕСКОМУ ЗАНЯТИЮ № 17**  
**Окрашивание срезов гематоксилином-эозином. Просветление и заключение срезов.**  
**Контроль качества изготовления гистологического препарата**

<b>Цель:</b> формирование умений проводить окрашивание гистологических срезов для обзорного метода исследования гематоксилином и эозином, просветлять срезы и заключать их в оптически-прозрачные среды		
<b>Тип занятия:</b> практическая работа		
<b>Планируемые результаты</b>	<b>Уметь</b>	<b>Знать</b>
	<ul style="list-style-type: none"> <li>- готовить материал, реактивы, лабораторную посуду и аппаратуру для гистологического исследования</li> <li>- проводить окраску гистологических препаратов</li> <li>- обрабатывать срезы после окрашивания:</li> <li>- рассчитать и приготовить растворы спирта различной концентрации для проводки материала</li> <li>- оценивать качество окрашенных срезов</li> <li>- обрабатывать срезы после окрашивания: осуществлять заключение срезов в оптически прозрачную среду</li> <li>- архивировать оставшийся от исследования материал</li> <li>- проводить утилизацию отработанного материала, дезинфекцию и стерилизацию использованной лабораторной посуды, инструментария, средств защиты</li> <li>- оформлять учетно-отчетную документацию</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- задачи, структуру, оборудование, правила работы и техники безопасности в патогистологической лаборатории;</li> <li>- правила взятия, обработки и архивирования материала для гистологического и гистохимического исследований;</li> <li>- критерии качества гистологических и гистохимических препаратов</li> </ul>

**Ход практического занятия:**

1. Подготовка рабочего места, проверка наличия, требуемого материально – технического оснащения.
2. Совместная постановка цели занятия и планируемых результатов освоения темы.
3. Проверка домашнего задания: теоретический разбор материала по теме.
4. Формирование умений при проведении гистологической обработки материала: подготовка рабочего места для проведения гистологической обработки материала (биологический материал, реактивы, лабораторную посуду, аппаратуру); осуществление подготовки парафиновых и целлоидиновых срезов к окрашиванию; проведение депарафинирования и окрашивания срезов; оценивание качества окрашенных срезов; проведение обработки срезов после окрашивания(обезвоживание и просветление срезов); заключение срезов оптически прозрачные среды; архивирование материала; проведение утилизации отработанного материала, дезинфекции рабочего места, посуды, инструментария и средств защиты.
5. Контроль освоенных умений: демонстрация практических умений преподавателю на оценку.
6. Подведение итога занятия. Тестирование

## 7. Домашнее задание

### **Оснащение занятия:**

Материально-техническое оснащение: автоклав, микроскоп, термостат электрический, бактерицидная лампа, бикс медицинский, планшет, дозатор, шпатель бактериологический, петля бактериологическая, лабораторная посуда.

Учебно-методическое оснащение: презентация, методические рекомендации к практическому занятию, симуляционное оборудование.

Программное обеспечение: Microsoft Office Word

**Учебно-методическая литература:** основная, дополнительная литература, Интернет-ресурсы

**Учебно-методическая литература:** основная, дополнительная, интернет-ресурсы

### **Краткие теоретические и учебно-методические материалы по теме практической работы**

#### **1. Готовить материал, реактивы, лабораторную посуду и аппаратуру для гистологического исследования**

##### **Подготовка материала, реактивов, лабораторной посуды и аппаратуры для гистологического исследования**

##### **1. Подготовка материала для гистологического исследования:**

- Проверить целостность упаковки, в которой находится биологический материал:
  - целостность бечевки, которой завязан материал;
  - наличие (целостность) пломбы
- Сверить данные в направлении с доставленным материалом
- Зарегистрировать в журнале доставленный материал

##### **2. Подготовка реактивов и лабораторной посуды для гистологической обработки тканей и органов:**

- Подготовить мерные колбы и цилиндры для приготовления рабочих растворов реактивов
- Подготовить емкость (бутыль с завинчивающейся крышкой) для хранения готового раствора формалина
- Подготовить широкогорлые емкости объемом не менее 0,5литра для проведения проводки материала по батарее спиртов восходящей концентрации
- Подготовить рабочий раствор формалина для фиксации кусочков органов и тканей
- Визуально проверить качество спиртов для проводки (на предмет отсутствия мути и изменения цвета. При помутнении растворов спиртов заменить их на свежеприготовленный раствор спирта соответствующей концентрации)
- Проверить качество растворов красителей (гематоксилина и эозина). При изменении цвета или выпадении осадка, заменить на свежий раствор соответствующего красителя

##### **3. Подготовка аппаратуры для проведения гистологического исследования:**

- Включить термостат и выставить температуру 56-58<sup>0</sup>С для расплавления парафина (при температуре, ниже указанной парафин не расплавится, при более высокой температуре - закипит)
- Подготовить санный микротом к приготовлению срезов: почистить от остатков парафина (при их наличии), заточить или править микротомный нож
- Подготовить микроскоп для микроскопического исследования гистопрепаратов

### **Так же подготовить:**

1. Подготовить гистологические срезы к окрашиванию
2. Подготовить необходимые реактивы и красители:
  - раствор гематоксилина и эозина
  - карбол - ксилол для просветления срезов
  - канадский бальзам
3. Подготовить аппаратуру для оценки качества гистопрепаратов:
  - микроскоп
  - термостол
  - санный микротом
  - микроскоп

### **Приготовление раствора гематоксилина**

Добавить 2 г гематоксилина в 100 мл 96 % спирта, к полученному раствору добавить дистиллированную воду в количестве 100 мл, калийных квасцов 3 г, ледяной уксусной кислоты 10 мл. Прибавлять эти вещества нужно в строгой последовательности. Калийные квасцы должны быть химически чистые. Для того, чтобы произошло полное окисление гематоксилина (то есть для того, чтобы образовался гематоксилин) приготовленный раствор должен не менее 15 дней находиться в тёмном месте при доступе воздуха (для этой цели банка с раствором должна быть закрыта бумажным колпаком или сложенной в 3-4 слоя марлей). О созревании раствора можно судить по его цвету: светло-красный становится тёмно-красным через 15 дней. Раствор необходимо время от времени взбалтывать – это ускорит его созревание. Раствор очень долго сохраняется в банках с притертой пробкой.

### **Приготовление эозина**

Эозин – это кислый краситель, окрашивающий цитоплазму клетки. 0,1 грамм или 500 мг эозина смешиваем с 100 мл дистиллированной водой (спиртовой раствор 0,1 %).

### **Приготовление карбол - ксилола**

Взять 100 мл ксилола, добавить 22 г карболовой кристаллической кислоты, то есть приготовить раствор с соотношением ксилола и карболовой кислоты 4-5:1.

## **2. Проводить гистологическую обработку тканей и готовить микропрепараты для исследований**

### **Проведение гистологической обработки тканей и приготовление микропрепаратов для исследований**

1. Иссечение кусочков органов размером не более 1 см:
  - паренхиматозные органы иссекают следующим образом:
    - при наличии капсулы органа, чтобы попала и капсула, и сам орган
    - если орган имеет в своем строении корковое и мозговое вещество, то иссекают так, чтобы в кусочек попало и корковое и мозговое вещество
    - при наличии видимых изменений в структуре органа, иссекают здоровую часть на границе с измененной
  - полые мышечные органы и кожу иссекают таким образом, чтобы попали все слои органа
  - материал, имеющий размеры менее 1 см, дополнительного иссечения не требует.
2. Фиксация кусочков в растворе формалина 24 часа.
3. Промывка материала под проточной водой (1-2 суток)
4. Проводка материала по батарее спиртов восходящей концентрации (обезвоживание).
5. Пропитывание и заливка материала в застывающие среды (уплотнение материала)
6. Подготовка предметных стекол (обработка адгезивной жидкостью- смесью яичного белка с глицерином)
7. Изготовление среза на микротоме и наклеивание среза на предметное стекло

8. Депарафинизация срезов
9. Окрашивание среза для обзорного метода исследования (окраска гематоксилином и эозином)
10. Заключение среза в оптически прозрачную среду

#### **Алгоритм окраски среза гематоксилином и эозином и заключение в бальзам**

##### *I. Депарафинирование срезов*

1. Ксилол 1 (5-10 мин)
2. Ксилол 2 (5-10 мин)
3. Ксилол 3 (5-10 мин)
4. Спирт 1 (30 секунд)
5. Спирт 2 (30 секунд)
6. Вода (30 секунд)

##### *II. Окрашивание срезов*

1. Раствор гематоксилина (5-10 минут)
2. Ополоснуть водой (30 секунд)
3. Эозин (5 минут)
4. Вода (30 секунд) \*
5. Спирт (30 секунд)
6. Карбол- ксилол (30 секунд)
7. Ксилол (30 секунд)

##### *III. Заключение в бальзам*

1. Нанести на срез 2-3 капли канадского бальзама
2. С помощью препаровальной иглы накрыть покровным стеклом, избегая воздушных пузырей
3. Излишки бальзама с краев стекла аккуратно удалить с помощью салфетки
4. Оставить препарат для высыхания

### **3. Оценивать качество приготовленных гистологических препаратов (см. Приложение 3):**

- интенсивность окраски цитоплазмы
- интенсивность окраски ядер
- окраска межклеточного вещества тканей

#### **Микроскопия окрашенных парафиновых срезов с целью контроля качества окраски.**

Гистологический препарат любой формы должен отвечать следующим требованиям:

1. Сохранять прижизненное состояние структур (при фиксации материала);
2. Быть достаточно тонким и прозрачным. Для изучения его под микроскопом в проходящем свете (изготовление срезов на микротоме).
3. Быть контрастным, то есть изучаемые структуры должны под микроскопом четко определяться (при окрашивании);
4. Препараты для световой микроскопии должны долго сохраняться и использоваться для повторного изучения (заключение в бальзам).

#### **Оценка качества окрашивания:**

1. Окраска срезов должна быть равномерной с четким дифференцированием различных структур;
2. Срезы должны быть хорошо просветлены;
3. Не допустимо загрязнение срезов инородными частицами, кристаллами красителя, а также попадание пузырьков воздуха под покровное стекло;

4. Из одного объекта изготавливают 1 - 2 среза для одной методики окраски; · при необходимости число срезов может быть большим, вплоть до серии последовательных срезов;

#### **4. Архивировать оставшийся от исследования материал**

Оставшийся после исследования материал подготовить для архивного хранения:

- Снять скальпелем материал с блока, завернуть в марлевую салфетку и индивидуальный пакет и присвоить номер исследования, указать дату.
- Поместить в выбранную тару парафиновый блок
- К таре прикрепить бирку с датой и номером исследования
- Поместить на специальный промаркированный стеллаж

#### **5. Оформлять учетно-отчетную документацию**

- Зарегистрировать поступивший биоматериал в журнале регистрации

**Регистрация поступившего биологического материала в журнале (форма №185/у, №186/у, № 014-2/у)**

1. Подготовить журнал (форма №185/у или № 186/у)
2. Проверить целостность упаковки, в которой находится биологический материала:
  - целостность бечевки, которой завязан материал;
  - наличие (целостность) пломбы
3. Взять направление на исследование и сверить данные в направлении с доставленным материалом
4. Зарегистрировать в журнале форма № 186/у «Журнал исследования трупной крови в лаборатории», указать данные:
  - присвоить порядковый номер;
  - Ф.И.О., возраст трупа, от которого взят материал;
  - фамилия эксперта, направившего материал;
  - № акта вскрытия;
  - дата вскрытия;
  - дата поступления материала в отделение;
  - упаковка, в которой поступил материал;
5. Зарегистрировать в журнале форма № 185/у «Журнал регистрации мазков и тампонов», указать данные:
  - присвоить порядковый номер
  - фамилия эксперта. направившего мазок, тампон;
  - № и дата направления
  - дата поступления
  - в каком виде поступил мазок, тампон
  - принадлежность мазка, тампона
  - возраст
6. Зарегистрировать в журнале форма № 014-2/у«Журнал регистрации поступления биопсийного (операционного) материала и выдачи результатов прижизненных патолого-анатомических исследований» указать данные:
  - присвоить порядковый номер
  - наименование направившей МО (структурное подразделение)
  - дата и время поступления (число, месяц, год, ч, мин) материала
  - Ф.И.О. пациента
  - дата рождения
  - порядковый номер флакона
  - количество объектов
  - Ф.И.О врача-патологоанатома



- дата выдачи
- расписка в получении
  - **Заполнение направления на судебно-гистологическое (судебно-химическое) исследование**

**Заполнение направления на судебно-гистологическое исследование объекта (форма № 180/у или № 179/у)»**

1. Подготовить журнал (форма №180/у или № 179/у)
2. Заполнить соответствующие графы направления:
  - подразделение, куда направляется объект
  - Ф.И.О. возраст (год рождения) и пол умершего
  - дата смерти
  - номер и дата акта судебно-медицинской экспертизы трупа
  - общее количество и перечень объектов, направленных на исследование
  - опечатывание объекта и формы опечатывания
  - краткие обстоятельства дела
  - основные данные исследования трупа и установленный судебно-медицинский диагноз
  - вопросы, подлежащие разрешению экспертом
  - дата заполнения направления
  - фамилия, инициалы и подпись судмедэксперта, направившего материала на исследование
3. Сделать надпись на направлении «Биологическая опасность» при направлении объектов от инфицированных трупов (туберкулез, гепатит, ВИЧ и др.)

**6. Проводить утилизацию отработанного материала, дезинфекцию и стерилизацию использованной лабораторной посуды, инструментария, средств защиты**

**Утилизация отработанного материала, дезинфекция и стерилизация лабораторной посуды, инструментария, средств защиты**

**1) Приготовление дезинфицирующего раствора** (см. инструкцию, прилагаемую к используемому в лаборатории дезинфицирующему средству)

**2) Сбор и утилизация отходов (отработанного материала)**(см. СанПиН 3.3684-21"

"Санитарно-эпидемиологические требования к содержанию территорий городских и сельских поселений, к водным объектам, питьевой воде и питьевому водоснабжению, атмосферному воздуху, почвам, жилым помещениям, эксплуатации производственных, общественных помещений, организации и проведению санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий".)

**3) Дезинфекция лабораторной посуды, инструментария, средств защиты** проводится в соответствии с инструкцией, прилагаемой к используемому дезинфицирующему средству (концентрация дез.раствора, экспозиция)

**4) Предстерилизационная очистка** лабораторной посуды и инструментария проводится путем механического удаления загрязнения. Контроль ПСО на наличие остатков дез.раствора.

**5) Стерилизация лабораторной посуды и инструментария:**

- стерилизация сухим жаром 180<sup>0</sup>С - 60 минут
- автоклавирование при давлении 1,5 атм. в течение 60 минут, для уничтожения споровой микрофлоры – 90 минут при 2 атм.

**Типовые задания:**

**Симуляционное задание.**

- Проведите этап гистологического окрашивания - окрашивание препарата эозином
- Проведите этап гистологического окрашивания - отмывка (просветление)

- Ошибки в протоколе гистологического окрашивания (назовите, прокомментируйте их)

### **Проблемно-ситуационная задача.**

Вам нужно провести двойную окраску гематоксилином - эозином препарат, эта методика является наиболее распространенным методом окрашивания ядер и фона - цитоплазмы и различных неклеточных структур.

*Задания для студента:*

1. Проведите перенос среза из воды в раствор красителя
2. Проведите окраску препарата
3. Проведите перенос среза из гематоксилина в дистиллированную воду
4. Проведите промывку в воде с небольшим количеством щелочи
5. Осуществите окрашенные гематоксилином и промытые водопроводной водой срезы переносят в дистиллированную воду на 3 - 5 минут.
6. Проведите перенос среза из раствора эозина на 1 минуту в дистиллированную воду
7. Результат окраски

*Образец выполнения проблемно-ситуационного задания:*

1. Срезы из воды переносят в раствор красителя. Вполне созревший раствор красителя обычно дает хорошие результаты через 2-3 минуты, однако продолжительность окраски зависит не только от самого красителя, но и от объекта, и может составлять до 15- 20 мин.
2. Начиная окраску, нужно на первых 2-3 срезах определить время окраски и затем уже, строго придерживаясь установленного срока, красить все остальные срезы данного блока. Нужно только помнить, что во всех случаях, если краска зрелая, для получения хорошего окрашивания ядер требуется не более 5-6 минут.
3. Срез из гематоксилина переносят в дистиллированную воду и на предметном стекле контролируют при слабом увеличении микроскопа (а если необходимо, то и при сильном, накрыв срез предварительно покровным стеклом). Если окраска была удачной, ядра клеток имеют интенсивный красновато-фиолетовый цвет, в них отчетливо видны ядрышко и глыбки хроматина (при обычных, приведенных выше методах фиксации), цитоплазма клеток не окрашена. Если ядра имеют слабый фиолетовый цвет и в них не удается отчетливо видеть какие-либо структуры, следует увеличить время окраски. Когда ядра настолько сильно закрашены, что выглядят почти черными (красноватый оттенок сохраняется), внутриядерные структуры видны нечетко, а цитоплазма клеток имеет красновато-фиолетовую окраску, нужно уменьшить время окраски.
4. Далее следует промывка в воде с небольшим количеством щелочи. В такой подщелочной воде срезы синеют через 20-30 секунд. Практически промывают срез в течение 10-15 минут (до его посинения) в водопроводной воде, которая всегда содержит следы щелочноземельных металлов и потому является слабо щелочной средой.
5. Окрашенные гематоксилином и промытые водопроводной водой срезы переносят в дистиллированную воду на 3 - 5 минут. Для окраски цитоплазмы клеток срезы переносят на 0,5-2 минуты в раствор эозина. Продолжительность обработки здесь также зависит от самого объекта, фиксации и т. д., поэтому следует в каждом отдельном случае определить продолжительность окраски на нескольких срезах. При удачной окраске срез имеет равномерный желтовато-розовый цвет (само название этой краски происходит от греческого слова эос - заря), на фоне которого отчетливо выделяются окрашенные в синий цвет ядра. Если препарат имеет бледный розоватый или 38 желтоватый оттенок, нужно увеличить время окраски.

6. Из раствора эозина срезы переносят на 1 минуту в дистиллированную воду (для несколько перекрашенных срезов время промывки можно увеличить до получения желаемого тона) и, обезводив в спиртах, заключают через карбол - ксилол в канадский бальзам. Следует иметь в виду, что в спиртах окраска срезов эозином несколько ослабляется, поэтому проводить срезы до карбол - ксилола следует быстро.
7. Окраска гематоксилином - эозином является наиболее распространенным методом окрашивания ядер и фона - цитоплазмы и различных неклеточных структур

**Ведение учетной медицинской документации:**

1. Регистрация поступившего биологического материала в журнале (форма №185/у, №186/у, № 014-2/у)
2. Заполнение направления на судебно-гистологическое исследование объекта (форма № 180/у или № 179/у)»

**Вопросы для закрепления теоретического материала:**

1. Назовите физико-химические процессы, лежащие в основе окрашивания тканей?
2. Перечислите группы красителей. Назовите основные красители и структуры, которые они окрашивают?
3. Укажите кислые красители и структуры, которые они окрашивают?
4. Назовите нейтральные красители и окрашиваемые ими структуры?
5. Охарактеризуйте типы, методы и способы гистологического окрашивания?

**Отчетность:** конспектирование алгоритмов, выполнение практических заданий.

**Требования к оформлению отчета по практической работе:**

Отчет по практической работе выполняется письменно как домашнее задание в свободной форме. В работе студент должен отразить весь объем полученной информации и сделать заключение на основе выводов.

**Оценка практической работы:**

Оцениваются правильность и последовательность действий после усвоения каждого этапа занятия, и подводится средний итоговый балл

**Критерии оценки практического занятия:** Оцениваются правильность и последовательность действий после усвоения каждого этапа занятия, и подводится средний итоговый балл. (Приложение 1).

**МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ К ПРАКТИЧЕСКОМУ ЗАНЯТИЮ № 18**  
**Изготовление препаратов для специальных методов исследования**

<b>Цель:</b> формирование и закрепление умений изготовления гистологических срезов и проведения контроля качества изготовления		
<b>Тип занятия:</b> практическая работа		
<b>Планируемые результаты</b>	<b>Уметь</b>	<b>Знать</b>
	<ul style="list-style-type: none"> <li>- готовить материал, реактивы, лабораторную посуду и аппаратуру для гистохимического исследования</li> <li>- приготавливать препараты для специальных гистологических исследований</li> <li>- оценивать качество окрашенных срезов</li> <li>- обрабатывать срезы после окрашивания</li> <li>- осуществлять заключение срезов в оптически прозрачную среду</li> <li>- регистрировать гистологические исследования в виде рисунка</li> <li>- архивировать оставшийся от исследования материал</li> <li>- оформлять учетно-отчетную документацию</li> <li>- проводить утилизацию отработанного материала, дезинфекцию и стерилизацию использованной лабораторной посуды, инструментария, средств защиты.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- задачи, структуру, оборудование, правила работы и техники безопасности в патогистологической лаборатории;</li> <li>- правила взятия, обработки и архивирования материала для гистологического и гистохимического исследований;</li> <li>- критерии качества гистологических и гистохимических препаратов;</li> </ul>

**Ход практического занятия:**

1. Подготовка рабочего места, проверка наличия, требуемого материально – технического оснащения.
2. Совместная постановка цели занятия и планируемых результатов освоения темы.
3. Проверка домашнего задания: теоретический разбор материала по теме.
4. Формирование умений при работе в гистологической лаборатории: подготовка рабочего места, оборудование, реактивов, иссечение кусочков, фиксация материала, обезвоживание и уплотнение, изготовление срезов и наклейка их на предметные стекла, подготовка стекол к наклеиванию срезов, заточка и правка микротомных ножей, депарафинизация и окрашивание срезов, заключение в бальзам, проведение контроля качества изготовленных срезов, архивирование материала и препаратов, ведение учетно-отчетной документации. Дезинфекция рабочего места и инструментария, утилизация отработанного материала
5. Контроль освоенных умений: демонстрация практических умений преподавателю на оценку.
6. Подведение итога занятия. Тестирование
7. Домашнее задание

**Оснащение занятия:**

Материально-техническое оснащение: автоклав, микроскоп, термостат электрический, бактерицидная лампа, бикс медицинский, планшет, дозатор, шпатель бактериологический, петля бактериологическая, лабораторная посуда.

Учебно-методическое оснащение: презентация, методические рекомендации к практическому занятию, симуляционное оборудование.

Программное обеспечение: Microsoft Office Word

**Учебно-методическая литература:** основная, дополнительная литература, Интернет-ресурсы

**Учебно-методическая литература:** основная, дополнительная, интернет-ресурсы

### **Краткие теоретические и учебно-методические материалы по теме практической работы**

#### **1. Готовить материал, реактивы, лабораторную посуду и аппаратуру для гистологического исследования**

##### **Подготовка материала, реактивов, лабораторной посуды и аппаратуры для гистологического исследования**

##### **1. Подготовка материала для гистологического исследования:**

- Проверить целостность упаковки, в которой находится биологический материал:
  - целостность бечевки, которой завязан материал;
  - наличие (целостность) пломбы
- Сверить данные в направлении с доставленным материалом
- Зарегистрировать в журнале доставленный материал

##### **2. Подготовка реактивов и лабораторной посуды для гистологической обработки тканей и органов:**

- Подготовить мерные колбы и цилиндры для приготовления рабочих растворов реактивов
- Подготовить емкость (бутыль с завинчивающейся крышкой) для хранения готового раствора формалина
- Подготовить широкогорлые емкости объемом не менее 0,5литра для проведения проводки материала по батарее спиртов восходящей концентрации
- Подготовить рабочий раствор формалина для фиксации кусочков органов и тканей
- Визуально проверить качество спиртов для проводки (на предмет отсутствия мути и изменения цвета. При помутнении растворов спиртов заменить их на свежеприготовленный раствор спирта соответствующей концентрации)
- Проверить качество растворов красителей (гематоксилина и эозина). При изменении цвета или выпадении осадка, заменить на свежий раствор соответствующего красителя

##### **3. Подготовка аппаратуры для проведения гистологического исследования:**

- Включить термостат и выставить температуру 56-58<sup>0</sup>С для расплавления парафина (при температуре, ниже указанной парафин не расплавится, при более высокой температуре - закипит)
- Подготовить санный микротом к приготовлению срезов: почистить от остатков парафина (при их наличии), заточить или править микротомный нож

Подготовить микроскоп для микроскопического исследования гистопрепаратов

##### **Так же подготовить:**

1. Подготовить образцы тканей к гистологической обработке
2. Подготовить необходимые реактивы и красители:
  - 10% раствор формалина для фиксации

- батарея спиртов восходящей концентрации
  - парафин
  - раствор гематоксилина и эозина
  - карбол-ксилол для просветления срезов
3. Подготовить аппаратуру для изготовления гистопрепаратов:
- термостат
  - термостолик
  - санный микротом
  - микроскоп

## **2. Проводить гистологическую обработку тканей и готовить микропрепараты для исследований**

### **Проведение гистологической обработки тканей и приготовления микропрепаратов для исследований**

1. Иссечение кусочков органов размером не более 1 см:

-паренхиматозные органы иссекают следующим образом:

- при наличии капсулы органа, чтобы попала и капсула, и сам орган
- если орган имеет в своем строении корковое и мозговое вещество, то иссекают так, чтобы в кусочек попало и корковое и мозговое вещество
- при наличии видимых изменений в структуре органа, иссекают здоровую часть на границе с измененной

- полые мышечные органы и кожу иссекают таким образом, чтобы попали все слои органа
- материал, имеющий размеры менее 1 см, дополнительного иссечения не требует.

2. Фиксация кусочков в растворе формалина 24 часа.

3. Промывка материала под проточной водой (1-2суток)

4. Проводка материала по батарее спиртов восходящей концентрации (обезвоживание).

5. Пропитывание и заливка материала в застывающие среды (уплотнение материала)

6. Подготовка предметных стекол (обработка адгезивной жидкостью- смесью яичного белка с глицерином)

7. Изготовление среза на микротоме и наклеивание среза на предметное стекло

8. Депарафинизация срезов

9. Окрашивание среза для обзорного метода исследования (окраска гематоксилином и эозином)

10. Заключение среза в оптически прозрачную среду

## **3.Оценивать качество приготовленных гистологических препаратов**

### **Оценка качества приготовленных гистологических препаратов**

5. Срез должен быть тонким (не более 10 мкм) для изучения структур в проходящем свете
6. Срез должен быть контрастным (тканевые и клеточные элементы должны быть хорошо прокрашены)
7. Тканевые и клеточные элементы не должны иметь признаков аутолиза (кусочек органа или ткани должен быть хорошо фиксирован)
8. Гистологический препарат после исследования должен подлежать архивному хранению

### **Алгоритм проведения оценки качества приготовления гистопрепарата**

1. Взять гистологический препарат и установить его на предметный столик микроскоп
2. Поднять столик под визуальным наблюдением сбоку с помощью марковинта
3. Добиться появления изображения с помощью макровинта
4. Добиться четкости изображения с помощью микровинта
5. Просмотреть весь препарат
6. Провести оценку качества приготовления препарата:

- качественно приготовленный гистологический препарат должен иметь толщину не более 10 мкм,
- хорошо расправлен без образования складок и разрывов,
- окраска среза равномерная с четким дифференцированием различных структур,
- срезу хорошо просветлены,
- без загрязнения срезов инородными частицами, кристаллами красителя, а также попадания пузырьков воздуха под покрывное стекло

#### **4. Архивировать оставшийся от исследования материал**

Оставшийся после исследования материал подготовить для архивного хранения:

- Снять скальпелем материал с блока, завернуть в марлевую салфетку и индивидуальный пакет и присвоить номер исследования, указать дату.
- Поместить в выбранную тару парафиновый блок
- К таре прикрепить бирку с датой и номером исследования
- Поместить на специальный промаркированный стеллаж

#### **5. Оформлять учетно-отчетную документацию**

**Зарегистрировать поступивший биоматериал в журнале регистрации**

**Регистрация поступившего биологического материала в журнале (форма №185/у, №186/у, № 014-2/у)**

1. Подготовить журнал (форма №185/у или № 186/у)
2. Проверить целостность упаковки, в которой находится биологический материала:
  - целостность бечевки, которой завязан материал;
  - наличие (целостность) пломбы
3. Взять направление на исследование и сверить данные в направлении с доставленным материалом
4. Зарегистрировать в журнале форма № 186/у «Журнал исследования трупной крови в лаборатории», указать данные:
  - присвоить порядковый номер;
  - Ф.И.О., возраст трупа, от которого взят материал;
  - фамилия эксперта, направившего материал;
  - № акта вскрытия;
  - дата вскрытия;
  - дата поступления материала в отделение;
  - упаковка, в которой поступил материал;
5. Зарегистрировать в журнале форма № 185/у «Журнал регистрации мазков и тампонов», указать данные:
  - присвоить порядковый номер
  - фамилия эксперта, направившего мазок, тампон;
  - № и дата направления
  - дата поступления
  - в каком виде поступил мазок, тампон
  - принадлежность мазка, тампона
  - возраст
6. Зарегистрировать в журнале форма № 014-2/у «Журнал регистрации поступления биопсийного (операционного) материала и выдачи результатов прижизненных патолого-анатомических исследований» указать данные:
  - присвоить порядковый номер
  - наименование направившей МО (структурное подразделение)
  - дата и время поступления (число, месяц, год, ч, мин) материала
  - Ф.И.О. пациента

- дата рождения
- порядковый номер флакона
- количество объектов
- Ф.И.О врача-патологоанатома
- дата выдачи
- расписка в получении

**Заполнение направления на судебно-гистологическое (судебно-химическое) исследование**

**Заполнение направления на судебно-гистологическое исследование объекта (форма № 180/у или № 179/у)»**

1. Подготовить журнал (форма №180/у или № 179/у)
2. Заполнить соответствующие графы направления:
  - подразделение, куда направляется объект
  - Ф.И.О. возраст (год рождения) и пол умершего
  - дата смерти
  - номер и дата акта судебно-медицинской экспертизы трупа
  - общее количество и перечень объектов, направленных на исследование
  - опечатывание объекта и формы опечатывания
  - краткие обстоятельства дела
  - основные данные исследования трупа и установленный судебно-медицинский диагноз
  - вопросы, подлежащие разрешению экспертом
  - дата заполнения направления
  - фамилия, инициалы и подпись судмедэксперта, направившего материала на исследование
3. Сделать надпись на направлении «Биологическая опасность» при направлении объектов от инфицированных трупов (туберкулез, гепатит, ВИЧ и др.)

**Оформить проведенное исследование в протоколе исследования**

**Зарегистрировать заключение в журнале регистрации**

**Окрашивание срезов и заключение в оптически прозрачные среды**

1. **КРАСИТЕЛИ ГЕМАТОКСИЛИН – ЭОЗИН.** Основные красители – представляют собой красящие основания или их соли. Структуры, которые они окрашивают называются базофильные (ГЕМАТОКСИЛИН).

Кислые красители – представляют собой красящие кислоты и их соли. Структуры, которые они окрашивают называются оксифильные (ацидофильные) (ЭОЗИН).

2. **ПРИГОТОВЛЕНИЕ ГЕМАТОКСИЛИНА.** Для его приготовления 2 гр. Гематоксилина растворяют в 100 мл дистиллированной воды, 100 мл глицерина, 3 гр. Калийных квасцов и 10 мл ледяной уксусной кислоты. Все ингредиенты добавлять нужно в указанной последовательности. Полученный раствор необходимо поставить на свету и при доступе воздуха не менее чем на 15 дней с тем, чтобы гематоксин успел окислиться в гематеин, который и является красящим веществом. Банку с раствором при этом накрывают бумажным колпачком или сложенной в несколько раз марлей. Гематоксин Эрлиха окрашивает ядра в синий цвет. Его используют при окрашивании срезов гематоксин – эозином.
3. **ПРИГОТОВЛЕНИЕ ЭОЗИНА.** Готовят 1% водный раствор Эозина.
4. **РЕЗУЛЬТАТ ОКРАСКИ.** Оксифильные структуры окрашиваются в розовый цвет красителем эозином, а базофильные структуры окрашиваются в синий цвет - гематоксилином. При окрашивании клетки - ядро фиолетовое, а цитоплазма розовая.



5. **ОБРАБОТКА СРЕЗОВ ПОСЛЕ ОКРАШИВАНИЯ.** Окрашенный препарат сначала обезвоживают, проводя по спиртам возрастающей концентрации 70<sup>0</sup>, 96<sup>0</sup> карбол – ксилол, в котором он полностью обезвоживается и частично просветляется, затем просветляют в ксилоле.

Для приготовления карбол – ксилола кристаллический фенол расплавляют в термостате при температуре 56<sup>0</sup>С и смешивают с ксилолом в отношении 1:4. Карбоксил – ксилол разрушает некоторые красители, поэтому срезы в нём следует держать не более 2-3 минут, а затем тщательно промывать ксилолом.

6. **ПРИГОТОВЛЕНИЕ БАЛЬЗАМА.** Используют канадский бальзам, разведённый в ксилоле. Кусочки канадского бальзама заливают ксилолом и ставят в термостат. Ксилол добавляют в таком количестве, чтобы бальзам получился жидким, и его можно было профильтровать. Затем бальзам оставляют в открытой склянке в вытяжном шкафу до тех пор, пока ксилол испариться настолько, что бальзам приобретёт консистенцию жидкого мёда. Если бальзам имеет кислую реакцию, что вредно отражается на препаратах, окрашенных некоторыми красителями. Для нейтрализации куски канадского бальзама разжижают путём нагревания и добавляют к нему немного порошка карбоната калия. Затем, помешивая, нагревают их в песочной бане до тех пор, пока капля, нанесённая на предметное стекло, не будет застывать в твёрдую, как стекло, массу (способ Коллоччи).

7. **ТЕХНИКА ЗАКЛЮЧЕНИЯ В ОПТИЧЕСКИ ПРОЗРАЧНЫЕ СРЕДЫ.** При заключении ненаклеенных замороженных срезов после просветления в ксилоле их вылавливают на предметное стекло. При этом предметное стекло опускают в ксилол, подводят под срез, расправленный срез придерживают за верхний край препаровальной иглой и вытаскивают вместе со стеклом. Если срез вытащить из ксилола, а потом пытаться расправить его на стекле, он может быть безнадежно измят. Обтирают с обратной стороны и по краям сухой чистой тряпочкой. На срез наносят каплю канадского бальзама и накрывают его покровным стеклом. Чтобы избежать попадания под покровное стекло пузырьков воздуха, необходимо соблюдать следующие правила: каплю бальзама наносят на край среза, затем покровное стекло ставят у края капли на предметное стекло под углом 45<sup>0</sup>, при этом бальзам растекается по краю покровного стекла. Свободный край покровного стекла придерживают препаровальной иглой и медленно опускают покровное стекло на срез. Бальзам при этом вытесняет воздух и растекается тонким слоем под покровным стеклом. Если бальзама было взято недостаточно и между стёклами остался воздух, можно нанести каплю бальзама у того края покровного стекла, где имеется воздух; бальзам затечёт под стекло. Заключённые препараты оставляют для просушивания в горизонтальном положении на лотках в течении 1-2 суток. После этого их можно поместить вертикально в специальные коробки для гистологических препаратов.

6. **Проводить утилизацию отработанного материала, дезинфекцию и стерилизацию использованной лабораторной посуды, инструментария, средств защиты**

**Утилизация отработанного материала, дезинфекция и стерилизация лабораторной посуды, инструментария, средств защиты**

- 1) *Приготовление дезинфицирующего раствора* (см. инструкцию, прилагаемую к используемому в лаборатории дезинфицирующему средству)

**2) Сбор и утилизация отходов (отработанного материала)** (см. СанПиН 3.3684-21"

"Санитарно-эпидемиологические требования к содержанию территорий городских и сельских поселений, к водным объектам, питьевой воде и питьевому водоснабжению, атмосферному воздуху, почвам, жилым помещениям, эксплуатации производственных, общественных помещений, организации и проведению санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий".)

**3) Дезинфекция лабораторной посуды, инструментария, средств защиты** проводится в соответствии с инструкцией, прилагаемой к используемому дезинфицирующему средству (концентрация дез.раствора, экспозиция)

**4) Предстерилизационная очистка** лабораторной посуды и инструментария проводится путем механического удаления загрязнения. Контроль ПСО на наличие остатков дез.раствора.

**5) Стерилизация лабораторной посуды и инструментария:**

- стерилизация сухим жаром 180<sup>0</sup>С - 60 минут
- автоклавирование при давлении 1,5 атм. в течение 60 минут, для уничтожения споровой микрофлоры – 90 минут при 2 атм.

**Типовые задания:**

**Симуляционное задание.**

- Провести окрашивание срезов гистологического препарата
- Осуществить заключение срезов гистологического препарата в консервирующую среду
- Провести световую микроскопию (изучение гистологического препарата)

**Проблемно-ситуационная задача.**

Перед студентом - медиком поставлены задачи – в ходе гистологического анализа материала, полученного от экспериментального лабораторного животного:

- 1) выявить изменения ядерно-цитоплазмных отношений в гепатоцитах (клетках печени);
- 2) выявить изменения структуры кариолеммы в гепатоцитах.

**Задания для студента:**

1. С помощью каких методов микроскопии будут решаться эти задачи
2. Обоснуйте свой ответ

**Образец выполнения проблемно-ситуационного задания:**

1. Необходимо использовать метод световой микроскопии, т.к. его сравнительно небольшие разрешающая способность и увеличение позволят получить изображение клетки и ее основных структурных компонентов (ядра и цитоплазмы) в целом;
2. Необходимо применить метод электронной микроскопии, т.к. его разрешающая способность и увеличение обеспечивают изучение ультраструктурных компонентов клетки, к которым, в частности, относится кариолемма.

**Ведение учетной медицинской документации:**

1. Регистрация поступившего биологического материала в журнале (форма №185/у, №186/у, № 014-2/у)
2. Заполнение направления на судебно-гистологическое исследование объекта (форма № 180/у или № 179/у)»

**Вопросы для закрепления теоретического материала:**

1. Укажите виды учетно-отчетной документации в гистологической лаборатории?
2. Перечислите правила взятия биоматериала для гистологического исследования?
3. Назовите цель фиксации материала, наиболее часто используемый фиксатор и его концентрацию?

4. Укажите время фиксации материала в формалине и последующую обработку?
5. Дайте понятие «гистологическая батарея» и «проводка материала»?

**Отчетность:** выполнение практических заданий, защита индивидуальных практических заданий и обсуждение результатов; выполнение тестового задания.

**Требования к оформлению отчета по практической работе:**

Отчет по практической работе выполняется письменно как домашнее задание в свободной форме. В работе студент должен отразить весь объем полученной информации и сделать заключение на основе выводов.

**Оценка практической работы:**

Оцениваются правильность и последовательность действий после усвоения каждого этапа занятия, и подводится средний итоговый балл

**Критерии оценки практического занятия:** Оцениваются правильность и последовательность действий после усвоения каждого этапа занятия, и подводится средний итоговый балл. (Приложение 1).

**МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ К ПРАКТИЧЕСКОМУ ЗАНЯТИЮ № 19**  
**Изготовление препаратов для гистохимического исследования**

<b>Цель:</b> формирование и закрепление умений изготовления препаратов для гистохимического исследования		
<b>Тип занятия:</b> практическая работа		
<b>Планируемые результаты</b>	<b>Уметь</b>	<b>Знать</b>
	<ul style="list-style-type: none"> <li>- готовить материал, реактивы, лабораторную посуду и аппаратуру для гистохимического исследования</li> <li>- готовить гистохимические препараты</li> <li>- обрабатывать срезы после окрашивания</li> <li>- оценивать качество окрашенных срезов</li> <li>- архивировать оставшийся от исследования материал</li> <li>- оформлять учетно-отчетную документацию</li> <li>- проводить утилизацию отработанного материала, дезинфекцию и стерилизацию использованной лабораторной посуды, инструментария, средств защиты.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- задачи, структуру, оборудование, правила работы и техники безопасности в патогистологической лаборатории;</li> <li>- правила взятия, обработки и архивирования материала для гистологического и гистохимического исследований;</li> <li>- критерии качества гистологических и гистохимических препаратов;</li> </ul>

**Ход практического занятия:**

1. Подготовка рабочего места, проверка наличия, требуемого материально – технического оснащения.
2. Совместная постановка цели занятия и планируемых результатов освоения темы.
3. Проверка домашнего задания: теоретический разбор материала по теме.
4. Формирование умений при работе в гистологической лаборатории: подготовка рабочего места, оборудование, реактивов, иссечение кусочков, фиксация материала, обезвоживание и уплотнение, изготовление срезов и наклейка их на предметные стекла, подготовка стекол к наклеиванию срезов, заточка и правка микротомных ножей, депарафинизация и окрашивание срезов, заключение в бальзам, проведение контроля качества изготовленных срезов, архивирование материала и препаратов, ведение учетно-отчетной документации. Дезинфекция рабочего места и инструментария, утилизация отработанного материала
5. Контроль освоенных умений: демонстрация практических умений преподавателю на оценку.
6. Подведение итога занятия. Тестирование
7. Домашнее задание

**Оснащение занятия:**

Материально-техническое оснащение: автоклав, микроскоп, термостат электрический, бактерицидная лампа, бикс медицинский, планшет, дозатор, шпатель бактериологический, петля бактериологическая, лабораторная посуда.

Учебно-методическое оснащение: презентация, методические рекомендации к практическому занятию, симуляционное оборудование.

Программное обеспечение: Microsoft Office Word

**Учебно-методическая литература:** основная, дополнительная литература, Интернет-ресурсы

**Краткие теоретические и учебно-методические материалы по теме практической работы**

**2. Готовить материал, реактивы, лабораторную посуду и аппаратуру для гистологического исследования**

**Подготовка материала, реактивов, лабораторной посуды и аппаратуры для гистологического исследования**

**1. Подготовка материала для гистологического исследования:**

- Проверить целостность упаковки, в которой находится биологический материал:
  - целостность бечевки, которой завязан материал;
  - наличие (целостность) пломбы
- Сверить данные в направлении с доставленным материалом
- Зарегистрировать в журнале доставленный материал

**2. Подготовка реактивов и лабораторной посуды для гистологической обработки тканей и органов:**

- Подготовить мерные колбы и цилиндры для приготовления рабочих растворов реактивов
- Подготовить емкость (бутыль с завинчивающейся крышкой) для хранения готового раствора формалина
- Подготовить широкогорлые емкости объемом не менее 0,5литра для проведения проводки материала по батарее спиртов восходящей концентрации
- Подготовить рабочий раствор формалина для фиксации кусочков органов и тканей
- Визуально проверить качество спиртов для проводки (на предмет отсутствия мути и изменения цвета. При помутнении растворов спиртов заменить их на свежеприготовленный раствор спирта соответствующей концентрации)
- Проверить качество растворов красителей (гематоксилина и эозина). При изменении цвета или выпадении осадка, заменить на свежий раствор соответствующего красителя

**3. Подготовка аппаратуры для проведения гистологического исследования:**

- Включить термостат и выставить температуру 56-58<sup>0</sup>С для расплавления парафина (при температуре, ниже указанной парафин не расплавится, при более высокой температуре - закипит)
- Подготовить санный микротом к приготовлению срезов: почистить от остатков парафина (при их наличии), заточить или править микротомный нож

Подготовить микроскоп для микроскопического исследования гистопрепаратов

**Так же подготовить:**

1. Подготовить образцы тканей к гистологической обработке
2. Подготовить необходимые реактивы и красители:
  - 10% раствор формалина для фиксации
  - батарея спиртов восходящей концентрации
  - парафин
  - раствор гематоксилина и эозина
  - карбол-ксилол для просветления срезов
3. Подготовить аппаратуру для изготовления гистопрепаратов:

- термостат
- термостолик
- санный микротом
- микроскоп

## **2. Проводить гистологическую обработку тканей и готовить микропрепараты для исследований**

### **Проведение гистологической обработки тканей и приготовление микропрепаратов для исследований**

1. Иссечение кусочков органов размером не более 1 см:
  - паренхиматозные органы иссекают следующим образом:
    - при наличии капсулы органа, чтобы попала и капсула, и сам орган
    - если орган имеет в своем строении корковое и мозговое вещество, то иссекают так, чтобы в кусочек попало и корковое и мозговое вещество
    - при наличии видимых изменений в структуре органа, иссекают здоровую часть на границе с измененной
  - полые мышечные органы и кожу иссекают таким образом, чтобы попали все слои органа
  - материал, имеющий размеры менее 1 см, дополнительного иссечения не требует.
2. Фиксация кусочков в растворе формалина 24 часа.
3. Промывка материала под проточной водой (1-2 суток)
4. Проводка материала по батарее спиртов восходящей концентрации (обезвоживание).
5. Пропитывание и заливка материала в застывающие среды (уплотнение материала)
6. Подготовка предметных стекол (обработка адгезивной жидкостью- смесью яичного белка с глицерином)
7. Изготовление среза на микротоме и наклеивание среза на предметное стекло
8. Депарафинизация срезов
9. Окрашивание среза для обзорного метода исследования (окраска гематоксилином и эозином)
10. Заключение среза в оптически прозрачную среду

## **3. Оценивать качество приготовленных гистологических препаратов**

### **Оценка качества приготовленных гистологических препаратов**

1. Срез должен быть тонким (не более 10 мкм) для изучения структур в проходящем свете
2. Срез должен быть контрастным (тканевые и клеточные элементы должны быть хорошо прокрашены)
3. Тканевые и клеточные элементы не должны иметь признаков аутолиза (кусочек органа или ткани должен быть хорошо фиксирован)
4. Гистологический препарат после исследования должен подлежать архивному хранению

### **Алгоритм проведения оценки качества приготовления гистопрепарата**

1. Взять гистологический препарат и установить его на предметный столик микроскоп
2. Поднять столик под визуальным наблюдением сбоку с помощью мароквинта
3. Добиться появления изображения с помощью макровинта
4. Добиться четкости изображения с помощью микровинта
5. Просмотреть весь препарат
6. Провести оценку качества приготовления препарата:
  - качественно приготовленный гистологический препарат должен иметь толщину не более 10 мкм,
  - хорошо расправлен без образования складок и разрывов,
  - окраска среза равномерная с четким дифференцированием различных структур,

- срезу хорошо просветлены,
- без загрязнения срезов инородными частицами, кристаллами красителя, а также попадания пузырьков воздуха под покровное стекло

#### **4. Архивировать оставшийся от исследования материал**

Оставшийся после исследования материал подготовить для архивного хранения:

- Снять скальпелем материал с блока, завернуть в марлевую салфетку и индивидуальный пакет и присвоить номер исследования, указать дату.
- Поместить в выбранную тару парафиновый блок
- К таре прикрепить бирку с датой и номером исследования
- Поместить на специальный промаркированный стеллаж

#### **5. Оформлять учетно-отчетную документацию**

**Зарегистрировать поступивший биоматериал в журнале регистрации**

**Регистрация поступившего биологического материала в журнале (форма №185/у, №186/у, № 014-2/у)**

1. Подготовить журнал (форма №185/у или № 186/у)
2. Проверить целостность упаковки, в которой находится биологический материал:
  - целостность бечевки, которой завязан материал;
  - наличие (целостность) пломбы
3. Взять направление на исследование и сверить данные в направлении с доставленным материалом
4. Зарегистрировать в журнале форма № 186/у «Журнал исследования трупной крови в лаборатории», указать данные:
  - присвоить порядковый номер;
  - Ф.И.О., возраст трупа, от которого взят материал;
  - фамилия эксперта, направившего материал;
  - № акта вскрытия;
  - дата вскрытия;
  - дата поступления материала в отделение;
  - упаковка, в которой поступил материал;
5. Зарегистрировать в журнале форма № 185/у «Журнал регистрации мазков и тампонов», указать данные:
  - присвоить порядковый номер
  - фамилия эксперта, направившего мазок, тампон;
  - № и дата направления
  - дата поступления
  - в каком виде поступил мазок, тампон
  - принадлежность мазка, тампона
  - возраст
6. Зарегистрировать в журнале форма № 014-2/у «Журнал регистрации поступления биопсийного (операционного) материала и выдачи результатов прижизненных патолого-анатомических исследований» указать данные:
  - присвоить порядковый номер
  - наименование направившей МО (структурное подразделение)
  - дата и время поступления (число, месяц, год, ч, мин) материала
  - Ф.И.О. пациента
  - дата рождения
  - порядковый номер флакона
  - количество объектов
  - Ф.И.О. врача-патологоанатома
  - дата выдачи

- расписка в получении

**Заполнение направления на судебно-гистологическое (судебно-химическое) исследование**

**Заполнение направления на судебно-гистологическое исследование объекта (форма № 180/у или № 179/у)»**

1. Подготовить журнал (форма №180/у или № 179/у)
2. Заполнить соответствующие графы направления:
  - подразделение, куда направляется объект
  - Ф.И.О. возраст (год рождения) и пол умершего
  - дата смерти
  - номер и дата акта судебно-медицинской экспертизы трупа
  - общее количество и перечень объектов, направленных на исследование
  - опечатывание объекта и формы опечатывания
  - краткие обстоятельства дела
  - основные данные исследования трупа и установленный судебно-медицинский диагноз
  - вопросы, подлежащие разрешению экспертом
  - дата заполнения направления
  - фамилия, инициалы и подпись судмедэксперта, направившего материала на исследование
3. Сделать надпись на направлении «Биологическая опасность» при направлении объектов от инфицированных трупов (туберкулез, гепатит, ВИЧ и др.)

**Оформить проведенное исследование в протоколе исследования**

**Зарегистрировать заключение в журнале регистрации**

**Окрашивание срезов и заключение в оптически прозрачные среды**

**КРАСИТЕЛИ ГЕМАТОКСИЛИН – ЭОЗИН.** Основные красители – представляют собой красящие основания или их соли. Структуры, которые они окрашивают называются базофильные (ГЕМАТОКСИЛИН).

Кислые красители – представляют собой красящие кислоты и их соли. Структуры, которые они окрашивают называются оксифильные (ацидофильные) (ЭОЗИН).

**ПРИГОТОВЛЕНИЕ ГЕМАТОКСИЛИНА.** Для его приготовления 2 гр. Гематоксилина растворяют в 100 мл дистиллированной воды, 100 мл глицерина, 3 гр. Калийных квасцов и 10 мл ледяной уксусной кислоты. Все ингредиенты добавлять нужно в указанной последовательности. Полученный раствор необходимо поставить на свету и при доступе воздуха не менее чем на 15 дней с тем, чтобы гематоксин успел окислиться в гематеин, который и является красящим веществом. Банку с раствором при этом накрывают бумажным колпачком или сложенной в несколько раз марлей. Гематоксин Эрлиха окрашивает ядра в синий цвет. Его используют при окрашивании срезов гематоксин – эозином.

**ПРИГОТОВЛЕНИЕ ЭОЗИНА.** Готовят 1% водный раствор Эозина.

**РЕЗУЛЬТАТ ОКРАСКИ.** Оксифильные структуры окрашиваются в розовый цвет красителем эозином, а базофильные структуры окрашиваются в синий цвет - гематоксилином. При окрашивании клетки - ядро фиолетовое, а цитоплазма розовая.

**ОБРАБОТКА СРЕЗОВ ПОСЛЕ ОКРАШИВАНИЯ.** Окрашенный препарат сначала обезвоживают, проводя по спиртам возрастающей концентрации 70<sup>0</sup>, 96<sup>0</sup> карбол – ксилол, в котором он полностью обезвоживается и частично просветляется, затем просветляют в ксилоле.

Для приготовления карбол – ксилола кристаллический фенол расплавляют в термостате при температуре 56<sup>0</sup>С и смешивают с ксилолом в отношении 1:4. Карбоксил – ксилол разрушает некоторые красители, поэтому срезы в нём следует держать не более 2-3 минут, а затем тщательно промывать ксилолом.



**ПРИГОТОВЛЕНИЕ БАЛЬЗАМА.** Используют канадский бальзам, разведённый в ксилоле. Кусочки канадского бальзама заливают ксилолом и ставят в термостат. Ксилол добавляют в таком количестве, чтобы бальзам получился жидким, и его можно было профильтровать. Затем бальзам оставляют в открытой склянке в вытяжном шкафу до тех пор, пока ксилол испариться настолько, что бальзам приобретёт консистенцию жидкого мёда. Если бальзам имеет кислую реакцию, что вредно отражается на препаратах, окрашенных некоторыми красителями. Для нейтрализации куски канадского бальзама разжижают путём нагревания и добавляют к нему немного порошка карбоната калия. Затем, помешивая, нагревают их в песочной бане до тех пор, пока капля, нанесённая на предметное стекло, не будет застывать в твёрдую, как стекло, массу (способ Колюччи).

**ТЕХНИКА ЗАКЛЮЧЕНИЯ В ОПТИЧЕСКИ ПРОЗРАЧНЫЕ СРЕДЫ.** При заключении ненаклеенных замороженных срезов после просветления в ксилоле их вылавливают на предметное стекло. При этом предметное стекло опускают в ксилол, подводят под срез, расплавленный срез придерживают за верхний край препаровальной иглой и вытаскивают вместе со стеклом. Если срез вытащить из ксилола, а потом пытаться расплавить его на стекле, он может быть безнадежно измят. Обтирают с обратной стороны и по краям сухой чистой тряпочкой. На срез наносят каплю канадского бальзама и накрывают его покровным стеклом. Чтобы избежать попадания под покровное стекло пузырьков воздуха, необходимо соблюдать следующие правила: каплю бальзама наносят на край среза, затем покровное стекло ставят у края капли на предметное стекло под углом  $45^{\circ}$ , при этом бальзам растекается по краю покровного стекла. Свободный край покровного стекла придерживают препаровальной иглой и медленно опускают покровное стекло на срез. Бальзам при этом вытесняет воздух и растекается тонким слоем под покровным стеклом. Если бальзама было взято недостаточно и между стёклами остался воздух, можно нанести каплю бальзама у того края покровного стекла, где имеется воздух; бальзам затечёт под стекло. Заключённые препараты оставляют для просушивания в горизонтальном положении на лотках в течение 1-2 суток. После этого их можно поместить вертикально в специальные коробки для гистологических препаратов.

#### **7. Проводить утилизацию отработанного материала, дезинфекцию и стерилизацию использованной лабораторной посуды, инструментария, средств защиты**

##### **Утилизация отработанного материала, дезинфекция и стерилизация лабораторной посуды, инструментария, средств защиты**

1) *Приготовление дезинфицирующего раствора* (см. инструкцию, прилагаемую к используемому в лаборатории дезинфицирующему средству)

2) *Сбор и утилизация отходов (отработанного материала)* (см. СанПиН 3.3684-21"

"Санитарно-эпидемиологические требования к содержанию территорий городских и сельских поселений, к водным объектам, питьевой воде и питьевому водоснабжению, атмосферному воздуху, почвам, жилым помещениям, эксплуатации производственных, общественных помещений, организации и проведению санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий".)

3) *Дезинфекция лабораторной посуды, инструментария, средств защиты* проводится в соответствии с инструкцией, прилагаемой к используемому дезинфицирующему средству (концентрация дез.раствора, экспозиция)

4) *Предстерилизационная очистка* лабораторной посуды и инструментария проводится путем механического удаления загрязнения. Контроль ПСО на наличие остатков дез.раствора.

5) *Стерилизация лабораторной посуды и инструментария:*

- стерилизация сухим жаром  $180^{\circ}\text{C}$  - 60 минут
- автоклавирование при давлении 1,5 атм. в течение 60 минут, для уничтожения споровой микрофлоры – 90 минут при 2 атм.

**Типовые задания:**

### **Симуляционное задание.**

- Провести окрашивание срезов гистологического препарата
- Осуществить заключение срезов гистологического препарата в консервирующую среду
- Провести световую микроскопия (изучение гистологического препарата)

### **Проблемно-ситуационная задача.**

Перед вами два гистологических препарата отпечатков с поверхности слизистой оболочки ротовой полости. Отпечатки фиксированы над пламенем спиртовки и окрашены стандартной смесью основного и кислого красителя. С помощью светового микроскопа на первом препарате выявлена группа клеток с базофильным ядром и оксифильной цитоплазмой, на втором преобладают клетки с базофильным ядром и базофильной цитоплазмой.

*Задания для студента:*

1. В каких клетках преобладают процессы белкового синтеза
2. Обоснуйте ваш ответ

*Образец выполнения проблемно-ситуационного задания:*

1. В клетках с базофильной цитоплазмой и базофильным ядром
2. Базофилия цитоплазмы (окрашивание основными (щелочными) красителями) обусловлена кислой реакцией цитоплазмы вследствие содержания в ней большого количества РНК в составе рибосомом (свободных или гранулярной ЭПС), которые и обеспечивают процессы белкового синтеза в клетке

### **Ведение учетной медицинской документации:**

3. Регистрация поступившего биологического материала в журнале (форма №185/у, №186/у, № 014-2/у)
4. Заполнение направления на судебно-гистологическое исследование объекта (форма № 180/у или № 179/у)»

### **Вопросы для закрепления теоретического материала:**

1. Каковы преимущества и недостатки парафина как среды для заливки?
2. Перечислите виды микротомов, поясните цели их использования?
3. Перечислите виды красителей. Дайте характеристику гематоксилину. Дайте характеристику эозину?
4. Назовите критерии хорошего качества окраски среза гематоксилином-эозином?
5. Укажите цель и реактивы для этапа заключения окрашенного среза?

**Отчетность:** выполнение практических заданий, защита индивидуальных практических заданий и обсуждение результатов; выполнение тестового задания.

### **Требования к оформлению отчета по практической работе:**

Отчет по практической работе выполняется письменно как домашнее задание в свободной форме. В работе студент должен отразить весь объем полученной информации и сделать заключение на основе выводов.

### **Оценка практической работы:**

Оцениваются правильность и последовательность действий после усвоения каждого этапа занятия, и подводится средний итоговый балл.

**Критерии оценки , практического занятия:** Оцениваются правильность и последовательность действий после усвоения каждого этапа занятия, и подводится средний итоговый балл. (Приложение 1).

**МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ К ПРАКТИЧЕСКОМУ ЗАНЯТИЮ №20**  
**Цитологическое исследование клеток эпителия различных органов**

<b>Цель:</b> формирование умений проводить цитологическое исследование эпителия различных органов		
<b>Тип занятия:</b> практическая работа		
<b>Планируемые результаты</b>	<b>Уметь</b>	<b>Знать</b>
	<ul style="list-style-type: none"> <li>- подготовить рабочее место для проведения морфологического исследования</li> <li>- осуществлять микроскопическое исследование мазков с нормальным клеточным составом</li> <li>- архивировать оставшийся после исследования материал</li> <li>- утилизировать отработанный материал, дезинфицировать приборы, посуду, инструментарий, средства защиты</li> <li>- оформлять учетно-отчетную документацию</li> <li>- проводить утилизацию отработанного материала, дезинфекцию и стерилизацию использованной лабораторной посуды, инструментария, средств защиты.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- задачи, структуру, оборудование, правила работы и техники безопасности в патогистологической лаборатории;</li> <li>- морфофункциональную характеристику тканей и органов человека.</li> <li>- правила взятия, обработки и архивирования материала для гистологического и гистохимического исследований;</li> <li>- критерии качества гистологических и гистохимических препаратов.</li> </ul>

**Ход практического занятия:**

1. Подготовка рабочего места, проверка наличия, требуемого материально – технического оснащения.
2. Совместная постановка цели занятия и планируемых результатов освоения темы.
3. Проверка домашнего задания: теоретический разбор материала по теме.
4. Формирование умений при работе в гистологической лаборатории: подготовка рабочего места, оборудование, реактивов, иссечение кусочков, фиксация материала, обезвоживание и уплотнение, изготовление срезов и наклейка их на предметные стекла, подготовка стекол к наклеиванию срезов, заточка и правка микротомных ножей, депарафинизация и окрашивание срезов, заключение в бальзам, проведение контроля качества изготовленных срезов, архивирование материала и препаратов, ведение учетно-отчетной документации. Дезинфекция рабочего места и инструментария, утилизация отработанного материала
5. Контроль освоенных умений: демонстрация практических умений преподавателю на оценку.
6. Подведение итога занятия. Тестирование
7. Домашнее задание

**Оснащение занятия:**

Материально-техническое оснащение: автоклав, микроскоп, термостат электрический, бактерицидная лампа, бикс медицинский, планшет, дозатор, шпатель бактериологический, петля бактериологическая, лабораторная посуда.

Учебно-методическое оснащение: презентация, методические рекомендации к практическому занятию, симуляционное оборудование.

Программное обеспечение: Microsoft Office Word

**Учебно-методическая литература:** основная, дополнительная литература, Интернет-ресурсы

**Краткие теоретические и учебно-методические материалы по теме практической работы**

**3. Готовить материал, реактивы, лабораторную посуду и аппаратуру для гистологического исследования**

**Подготовка материала, реактивов, лабораторной посуды и аппаратуры для гистологического исследования**

**1. Подготовка материала для гистологического исследования:**

- Проверить целостность упаковки, в которой находится биологический материал:
  - целостность бечевки, которой завязан материал;
  - наличие (целостность) пломбы
- Сверить данные, в направлении с доставленным материалом
- Зарегистрировать в журнале доставленный материал

**2. Подготовка реактивов и лабораторной посуды для гистологической обработки тканей и органов:**

- Подготовить мерные колбы и цилиндры для приготовления рабочих растворов реактивов
- Подготовить емкость (бутыль с завинчивающейся крышкой) для хранения готового раствора формалина
- Подготовить широкогорлые емкости объемом не менее 0,5литра для проведения проводки материала по батарее спиртов восходящей концентрации
- Подготовить рабочий раствор формалина для фиксации кусочков органов и тканей
- Визуально проверить качество спиртов для проводки (на предмет отсутствия мути и изменения цвета. При помутнении растворов спиртов заменить их на свежеприготовленный раствор спирта соответствующей концентрации)
- Проверить качество растворов красителей (гематоксилина и эозина). При изменении цвета или выпадении осадка, заменить на свежий раствор соответствующего красителя

**3. Подготовка аппаратуры для проведения гистологического исследования:**

- Включить термостат и выставить температуру 56-58<sup>0</sup>С для расплавления парафина (при температуре ниже указанной парафин не расплавится, при более высокой температуре - закипит)
- Подготовить санный микротом к приготовлению срезов: почистить от остатков парафина (при их наличии), заточить или править микротомный нож

Подготовить микроскоп для микроскопического исследования гистопрепаратов

**Так же подготовить:**

**1**

1. Подготовить образцы тканей к гистологической обработке
2. Подготовить необходимые реактивы и красители:
  - 10% раствор формалина для фиксации
  - батарея спиртов восходящей концентрации
  - парафин
  - раствор гематоксилина и эозина

- карбол-ксилол для просветления срезов
- 3. Подготовить аппаратуру для изготовления гистопрепаратов:
  - термостат
  - термостол
  - санный микротом
  - микроскоп

## 2

1. Подготовить цитологические мазки к окраске
2. Подготовить необходимые реактивы и красители:
  - краситель азур-эозин по Романовскому
  - иммерсионное масло
3. Подготовить аппаратуру для окрашивания цитологических препаратов:
  - микроскоп

## **2. Проводить гистологическую обработку тканей и готовить микропрепараты для исследований**

### **Проведение гистологической обработки тканей и приготовления микропрепаратов для исследований**

11. Иссечение кусочков органов размером не более 1 см:
  - паренхиматозные органы иссекают следующим образом:
    - при наличии капсулы органа, чтобы попала и капсула, и сам орган
    - если орган имеет в своем строении корковое и мозговое вещество, то иссекают так, чтобы в кусочек попало и корковое и мозговое вещество
    - при наличии видимых изменений в структуре органа, иссекают здоровую часть на границе с измененной
  - полые мышечные органы и кожу иссекают таким образом, чтобы попали все слои органа
  - материал, имеющий размеры менее 1 см, дополнительного иссечения не требует.
12. Фиксация кусочков в растворе формалина 24 часа.
13. Промывка материала под проточной водой (1-2 суток)
14. Проводка материала по батарее спиртов восходящей концентрации (обезвоживание).
15. Пропитывание и заливка материала в застывающие среды (уплотнение материала)
16. Подготовка предметных стекол (обработка адгезивной жидкостью- смесью яичного белка с глицерином)
17. Изготовление среза на микротоме и наклеивание среза на предметное стекло
18. Депарафинизация срезов
19. Окрашивание среза для обзорного метода исследования (окраска гематоксилином и эозином)
20. Заключение среза в оптически прозрачную среду

### **3. Оценивать качество приготовленных гистологических препаратов**

#### **Оценка качества приготовленных гистологических препаратов**

5. Срез должен быть тонким (не более 10 мкм) для изучения структур в проходящем свете
6. Срез должен быть контрастным (тканевые и клеточные элементы должны быть хорошо прокрашены)
7. Тканевые и клеточные элементы не должны иметь признаков аутолиза (кусочек органа или ткани должен быть хорошо фиксирован)
8. Гистологический препарат после исследования должен подлежать архивному хранению

### **Алгоритм проведения оценки качества приготовления гистопрепарата**

7. Взять гистологический препарат и установить его на предметный столик микроскопа

8. Поднять столик под визуальным наблюдением сбоку с помощью мароквинта
9. Добиться появления изображения с помощью макровинта
10. Добиться четкости изображения с помощью микровинта
11. Просмотреть весь препарат
12. Провести оценку качества приготовления препарата:
  - качественно приготовленный гистологический препарат должен иметь толщину не более 10 мкм,
  - хорошо расправлен без образования складок и разрывов,
  - окраска среза равномерная с четким дифференцированием различных структур,
  - срезу хорошо просветлены,
  - без загрязнения срезов инородными частицами, кристаллами красителя, а также попадания пузырьков воздуха под покрывное стекло

**Оценить качество приготовленных цитологических препаратов и провести микроскопическое с последующим описанием структур:**

- форма и размер клеток
- интенсивность окраски цитоплазмы
- наличие/отсутствие включений в цитоплазме
- форма и размер ядра
- наличие/отсутствие ядрышек
- хроматин

#### **4. Архивировать оставшийся от исследования материал**

Оставшийся после исследования материал подготовить для архивного хранения:

- Снять скальпелем материал с блока, завернуть в марлевую салфетку и индивидуальный пакет и присвоить номер исследования, указать дату.
- Поместить в выбранную тару парафиновый блок
- К таре прикрепить бирку с датой и номером исследования
- Поместить на специальный промаркированный стеллаж

#### **5. Оформлять учетно-отчетную документацию**

**Зарегистрировать поступивший биоматериал в журнале регистрации**

**Регистрация поступившего биологического материала в журнале (форма №185/у, №186/у, № 014-2/у)**

**Заполнение направления на судебно-гистологическое (судебно-химическое) исследование**

**Заполнение направления на судебно-гистологическое исследование объекта (форма № 180/у или № 179/у)»**

1. Подготовить журнал (форма №180/у или № 179/у)
2. Заполнить соответствующие графы направления:
  - подразделение, куда направляется объект
  - Ф.И.О. возраст (год рождения) и пол умершего
  - дата смерти
  - номер и дата акта судебно-медицинской экспертизы трупа
  - общее количество и перечень объектов, направленных на исследование
  - опечатывание объекта и формы опечатывания
  - краткие обстоятельства дела
  - основные данные исследования трупа и установленный судебно-медицинский диагноз
  - вопросы, подлежащие разрешению экспертом
  - дата заполнения направления

- фамилия, инициалы и подпись судмедэксперта, направившего материала на исследование

3. Сделать надпись на направлении «Биологическая опасность» при направлении объектов от инфицированных трупов (туберкулез, гепатит, ВИЧ и др.)

#### **8. Проводить утилизацию отработанного материала, дезинфекцию и стерилизацию использованной лабораторной посуды, инструментария, средств защиты**

##### **Утилизация отработанного материала, дезинфекция и стерилизация лабораторной посуды, инструментария, средств защиты**

1) **Приготовление дезинфицирующего раствора** (см. инструкцию, прилагаемую к используемому в лаборатории дезинфицирующему средству)

2) **Сбор и утилизация отходов (отработанного материала)** (см. СанПиН 3.3684-21"

"Санитарно-эпидемиологические требования к содержанию территорий городских и сельских поселений, к водным объектам, питьевой воде и питьевому водоснабжению, атмосферному воздуху, почвам, жилым помещениям, эксплуатации производственных, общественных помещений, организации и проведению санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий".)

3) **Дезинфекция лабораторной посуды, инструментария, средств защиты** проводится в соответствии с инструкцией, прилагаемой к используемому дезинфицирующему средству (концентрация дез.раствора, экспозиция)

4) **Предстерилизационная очистка** лабораторной посуды и инструментария проводится путем механического удаления загрязнения. Контроль ПСО на наличие остатков дез.раствора.

5) **Стерилизация лабораторной посуды и инструментария:**

- стерилизация сухим жаром 180<sup>0</sup>С - 60 минут

- автоклавирование при давлении 1,5 атм. в течение 60 минут, для уничтожения споровой микрофлоры – 90 минут при 2 атм.

#### **Типовые задания:**

##### **Симуляционное задание.**

- Провести окрашивание срезов гистологического препарата
- Осуществить заключение срезов гистологического препарата в консервирующую среду
- Провести световую микроскопия (изучение гистологического препарата)

#### **Проблемно-ситуационная задача.**

В научных целях в эксперименте необходимо изучить особенности иннервации пульпы зуба после применения нового стоматологического метода лечения. Исследователю предстоит выявить в пульпе и оценить состояние нервных волокон и нервных окончаний

*Задания для студента:*

1. Какие методы окрашивания необходимо применить для решения задачи
2. Механизмы выявления структур, лежащие в основе этих методов
3. С помощью какого метода микроскопии (светового или электронного) будут проводиться исследования
4. Укажите разрешающую способность этого микроскопа
5. Укажите границу максимального увеличения этого микроскопа

*Образец выполнения проблемно-ситуационного задания:*

1. Импрегнации;
2. Осаждение и восстановление солей тяжелых и драгоценных металлов на
3. Гистологических структурах;
4. Световой микроскопии;

5. 0,2 мкм;
6. 2000 – 2500 раз.

**Ведение учетной медицинской документации:**

1. Регистрация поступившего биологического материала в журнале (форма №185/у, №186/у, № 014-2/у)
2. Заполнение направления на судебно-гистологическое исследование объекта (форма № 180/у или № 179/у)»

**Вопросы для закрепления теоретического материала:**

1. Эпителиальные ткани, определение и общая характеристика?
2. Классификация эпителиальных тканей?
3. Виды покровного эпителия и его локализация?
4. Железистый эпителий; два типа желез?
5. Способы выведения секрета из клетки?

**Отчетность:** выполнение практических заданий, защита индивидуальных практических заданий и обсуждение результатов; выполнение тестового задания.

**Требования к оформлению отчета по практической работе:**

Отчет по практической работе выполняется письменно как домашнее задание в свободной форме. В работе студент должен отразить весь объем полученной информации и сделать заключение на основе выводов.

**Оценка практической работы:**

Оцениваются правильность и последовательность действий после усвоения каждого этапа занятия, и подводится средний итоговый балл

**Критерии оценки практического занятия:** Оцениваются правильность и последовательность действий после усвоения каждого этапа занятия, и подводится средний итоговый балл. (Приложение 1).



**МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ К ПРАКТИЧЕСКОМУ ЗАНЯТИЮ № 21**  
**Исследование цитологических признаков воспалительного процесса**

<b>Цель:</b> формирование умений проводить исследование цитологических признаков воспалительного процесса.		
<b>Тип занятия:</b> практическая работа		
<b>Планируемые результаты</b>	<b>Уметь</b>	<b>Знать</b>
	<ul style="list-style-type: none"> <li>- подготовить рабочее место для проведения морфологического исследования</li> <li>- осуществлять микроскопическое исследование мазков с признаками воспалительных процессов</li> <li>- оформлять учетно-отчетную документацию</li> <li>- архивировать оставшийся после исследования материал</li> <li>- утилизировать отработанный материал, дезинфицировать приборы, посуду, инструментарий, средства защиты</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- задачи, структуру, оборудование, правила работы и техники безопасности в патогистологической лаборатории;</li> <li>- правила взятия, обработки и архивирования материала для гистологического и гистохимического исследований;</li> <li>- критерии качества гистологических и гистохимических препаратов;</li> <li>- морфофункциональную характеристику тканей и органов человека.</li> </ul>

**Ход практического занятия:**

1. Подготовка рабочего места, проверка наличия, требуемого материально – технического оснащения.
2. Совместная постановка цели занятия и планируемых результатов освоения темы.
3. Проверка домашнего задания: теоретический разбор материала по теме.
4. Формирование умений: подготовить рабочее место для проведения микроскопии с иммерсией, проводить цитологическое исследование мазков, выявлять в мазках признаки, характерные для воспаления, регистрировать результаты исследования в виде рисунка, проводить утилизацию отработанного материала и дезинфекцию лабораторной посуды, инструментария и средств защиты.
5. Контроль освоенных умений: демонстрация практических умений преподавателю на оценку.
6. Подведение итога занятия.
7. Домашнее задание

**Оснащение занятия:**

Материально-техническое оснащение: автоклав, микроскоп, термостат электрический, бактерицидная лампа, бикс медицинский, планшет, дозатор, шпатель бактериологический, петля бактериологическая, лабораторная посуда.

Учебно-методическое оснащение: презентация, методические рекомендации к практическому занятию, симуляционное оборудование.

Программное обеспечение: Microsoft Office Word

**Учебно-методическая литература:** основная, дополнительная литература, Интернет-ресурсы

## Краткие теоретические и учебно-методические материалы по теме практической работы

### 1. Готовить материал, реактивы, лабораторную посуду и аппаратуру для гистологического исследования

#### Подготовка материала, реактивов, лабораторной посуды и аппаратуры для гистологического исследования

##### 1. Подготовка материала для гистологического исследования:

- Проверить целостность упаковки, в которой находится биологический материал:
  - целостность бечевки, которой завязан материал;
  - наличие (целостность) пломбы
- Сверить данные в направлении с доставленным материалом
- Зарегистрировать в журнале доставленный материал

##### 2. Подготовка реактивов и лабораторной посуды для гистологической обработки тканей и органов:

- Подготовить мерные колбы и цилиндры для приготовления рабочих растворов реактивов
- Подготовить емкость (бутыль с завинчивающейся крышкой) для хранения готового раствора формалина
- Подготовить широкогорлые емкости объемом не менее 0,5литра для проведения проводки материала по батарее спиртов восходящей концентрации
- Подготовить рабочий раствор формалина для фиксации кусочков органов и тканей
- Визуально проверить качество спиртов для проводки (на предмет отсутствия мути и изменения цвета. При помутнении растворов спиртов заменить их на свежеприготовленный раствор спирта соответствующей концентрации)
- Проверить качество растворов красителей (гематоксилина и эозина). При изменении цвета или выпадении осадка, заменить на свежий раствор соответствующего красителя

##### 3. Подготовка аппаратуры для проведения гистологического исследования:

- Включить термостат и выставить температуру 56-58<sup>0</sup>С для расплавления парафина (при температуре, ниже указанной парафин не расплавится, при более высокой температуре - закипит)
- Подготовить санный микротом к приготовлению срезов: почистить от остатков парафина (при их наличии), заточить или править микротомный нож

Подготовить микроскоп для микроскопического исследования гистопрепаратов

#### Так же подготовить:

##### 1

1. Подготовить образцы тканей к гистологической обработке
2. Подготовить необходимые реактивы и красители:
  - 10% раствор формалина для фиксации
  - батарея спиртов восходящей концентрации
  - парафин
  - раствор гематоксилина и эозина
  - карбол-ксилол для просветления срезов
3. Подготовить аппаратуру для изготовления гистопрепаратов:
  - термостат
  - термостол

- санный микротом
- микроскоп

## 2

1. Подготовить цитологические мазки к окраске
2. Подготовить необходимые реактивы и красители:
  - краситель азур-эозин по Романовскому
  - иммерсионное масло
3. Подготовить аппаратуру для окрашивания цитологических препаратов:
  - микроскоп

### **2. Проводить гистологическую обработку тканей и готовить микропрепараты для исследований**

#### **Проведение гистологической обработки тканей и приготовления микропрепаратов для исследований**

1. Иссечение кусочков органов размером не более 1 см:
  - паренхиматозные органы иссекают следующим образом:
    - при наличии капсулы органа, чтобы попала и капсула, и сам орган
    - если орган имеет в своем строении корковое и мозговое вещество, то иссекают так, чтобы в кусочек попало и корковое и мозговое вещество
    - при наличии видимых изменений в структуре органа, иссекают здоровую часть на границе с измененной
  - полые мышечные органы и кожу иссекают таким образом, чтобы попали все слои органа
  - материал, имеющий размеры менее 1 см, дополнительного иссечения не требует.
2. Фиксация кусочков в растворе формалина 24 часа.
3. Промывка материала под проточной водой (1-2 суток)
4. Проводка материала по батарее спиртов восходящей концентрации (обезвоживание).
5. Пропитывание и заливка материала в застывающие среды (уплотнение материала)
6. Подготовка предметных стекол (обработка адгезивной жидкостью- смесью яичного белка с глицерином)
7. Изготовление среза на микротоме и наклеивание среза на предметное стекло
8. Депарафинизация срезов
9. Окрашивание среза для обзорного метода исследования (окраска гематоксилином и эозином)
10. Заключение среза в оптически прозрачную среду

### **3. Оценивать качество приготовленных гистологических препаратов**

#### **Оценка качества приготовленных гистологических препаратов**

1. Срез должен быть тонким (не более 10 мкм) для изучения структур в проходящем свете
2. Срез должен быть контрастным (тканевые и клеточные элементы должны быть хорошо прокрашены)
3. Тканевые и клеточные элементы не должны иметь признаков аутолиза (кусочек органа или ткани должен быть хорошо фиксирован)
4. Гистологический препарат после исследования должен подлежать архивному хранению

#### **Алгоритм проведения оценки качества приготовления гистопрепарата**

1. Взять гистологический препарат и установить его на предметный столик микроскоп
2. Поднять столик под визуальным наблюдением сбоку с помощью мароквинта
3. Добиться появления изображения с помощью макровинта
4. Добиться четкости изображения с помощью микровинта

5. Просмотреть весь препарат
6. Провести оценку качества приготовления препарата:
  - качественно приготовленный гистологический препарат должен иметь толщину не более 10 мкм,
  - хорошо расправлен без образования складок и разрывов,
  - окраска среза равномерная с четким дифференцированием различных структур,
  - срезу хорошо просветлены,
  - без загрязнения срезов инородными частицами, кристаллами красителя, а также попадания пузырьков воздуха под покровное стекло

**Оценить качество приготовленных цитологических препаратов и провести микроскопическое с последующим описанием структур:**

- форма и размер клеток
- интенсивность окраски цитоплазмы
- наличие/отсутствие включений в цитоплазме
- форма и размер ядра
- наличие/отсутствие ядрышек
- хроматин

#### **4. Архивировать оставшийся от исследования материал**

Оставшийся после исследования материал подготовить для архивного хранения:

- Снять скальпелем материал с блока, завернуть в марлевую салфетку и индивидуальный пакет и присвоить номер исследования, указать дату.
- Поместить в выбранную тару парафиновый блок
- К таре прикрепить бирку с датой и номером исследования
- Поместить на специальный промаркированный стеллаж

#### **5. Оформлять учетно-отчетную документацию**

**Зарегистрировать поступивший биоматериал в журнале регистрации**

**Регистрация поступившего биологического материала в журнале (форма №185/у, №186/у, № 014-2/у)**

**Заполнение направления на судебно-гистологическое (судебно-химическое) исследование**

**Заполнение направления на судебно-гистологическое исследование объекта (форма № 180/у или № 179/у)»**

#### **6. Проводить утилизацию отработанного материала, дезинфекцию и стерилизацию использованной лабораторной посуды, инструментария, средств защиты**

**Утилизация отработанного материала, дезинфекция и стерилизация лабораторной посуды, инструментария, средств защиты**

**1) Приготовление дезинфицирующего раствора** (см. инструкцию, прилагаемую к используемому в лаборатории дезинфицирующему средству)

**2) Сбор и утилизация отходов (отработанного материала)** (см. СанПиН 3.3684-21"

"Санитарно-эпидемиологические требования к содержанию территорий городских и сельских поселений, к водным объектам, питьевой воде и питьевому водоснабжению, атмосферному воздуху, почвам, жилым помещениям, эксплуатации производственных, общественных помещений, организации и проведению санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий".)

**3) Дезинфекция лабораторной посуды, инструментария, средств защиты** проводится в соответствии с инструкцией, прилагаемой к используемому дезинфицирующему средству (концентрация дез.раствора, экспозиция)

**4) Предстерилизационная очистка** лабораторной посуды и инструментария проводится путем механического удаления загрязнения. Контроль ПСО на наличие остатков дез.раствора.

**5) Стерилизация лабораторной посуды и инструментария:**

- стерилизация сухим жаром 180<sup>0</sup>С - 60 минут
- автоклавирование при давлении 1,5 атм. в течение 60 минут, для уничтожения споровой микрофлоры – 90 минут при 2 атм.

**Характеристика клеточных элементов при воспалительных процессах**

- На препарате видны плоские клетки эпителия, цитоплазма светло-голубая, фиолетовые ядра правильной формы, мелкие, пикнотичные, хроматин расположен равномерно, нейтрофильные лейкоциты с сегментированным ядром, ровные границы клеток.

**Характеристика цитологического мазка при трихомонадном кольпите**

- На препарате видны плоские клетки эпителия, цитоплазма светло-голубая, фиолетовые ядра правильной формы, мелкие, пикнотичные, хроматин расположен равномерно, нейтрофильные лейкоциты с сегментированным ядром, ровные границы клеток. Цитоплазма трихомонад дымчато-базофильная, ядро мелкое, расположено эксцентрично в виде "кошачьего глаза", возможно наличие жгутиков.

**Типовые задания:**

**Симуляционное задание.**

- Охарактеризовать клеточные элементы при воспалительных процессах
- Охарактеризовать цитологический мазок при трихомонадном кольпите

**Проблемно-ситуационная задача.**

Больная Ф., 25 лет, обратилась в женскую консультацию с жалобами на боли и зуд в области наружных половых органов, покраснение и опухание слизистой оболочки во влагалище, обильные, белые выделения с неприятным запахом, боли в нижней части живота, болезненность и дискомфорт во время сексуальных контактов. Взят мазок из влагалища на микроскопию.

**Задания для студента:**

1. Сформулируйте и обоснуйте цитологическое заключение

**Образец выполнения проблемно-ситуационного задания:**

1. Формулировка и обоснование цитологического заключения:

«U» Le - 3 - 4 в п/зр., КПЭ - 1 - 2 в п/зр., флора - палочковая, умеренно.

«С» Le - 0 - 5 в п/зр., КПЭ - 0 - 5 в п/зр., флора - палочковая, умеренно.

«V» Le - большое количество в п/зр., КПЭ - 20 - 30 в п/зр., флора - кокковая, скудно.

**Ведение учетной медицинской документации:**

1. Регистрация поступившего биологического материала в журнале (форма №185/у, №186/у, № 014-2/у)

2. Заполнение направления на судебно-гистологическое исследование объекта (форма № 180/у или № 179/у)»

**Вопросы для закрепления теоретического материала:**

1. Что такое воспаление?
2. Перечислите стадии воспалительного процесса?
3. Дайте краткую характеристику каждой стадии воспалительного процесса?
4. Дайте характеристику острому и хроническому воспалению?

**Отчетность:** выполнение практических заданий, выполнение рисунков цитологического исследования, заполнение таблицы, решение задач

**Требования к оформлению отчета по практической работе:**

Отчет по практической работе выполняется письменно как домашнее задание в свободной форме. В работе студент должен отразить весь объем полученной информации и сделать заключение на основе выводов.

**Критерии оценки практического занятия:** Оцениваются правильность и последовательность действий после усвоения каждого этапа занятия, и подводится средний итоговый балл. (Приложение 1).

**МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ К ПРАКТИЧЕСКОМУ ЗАНЯТИЮ № 22**  
**Исследование цитологических признаков предопухолевых процессов**

<b>Цель:</b> формирование умений проводить исследование цитологических признаков предопухолевых процессов.		
<b>Тип занятия:</b> практическая работа		
<b>Планируемые результаты</b>	<b>Уметь</b>	<b>Знать</b>
	<ul style="list-style-type: none"> <li>- подготовить рабочее место для проведения морфологического исследования</li> <li>- осуществлять микроскопическое исследование цитологических препаратов с признаками предопухолевых процессов</li> <li>- оформлять учетно-отчетную документацию</li> <li>- архивировать оставшийся после исследования материал</li> <li>- утилизировать отработанный материал, дезинфицировать приборы, посуду, инструментарий, средства защиты</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- задачи, структуру, оборудование, правила работы и техники безопасности в патогистологической лаборатории;</li> <li>- правила взятия, обработки и архивирования материала для гистологического и гистохимического исследований;</li> <li>- критерии качества гистологических и гистохимических препаратов;</li> <li>- морфофункциональную характеристику тканей и органов человека.</li> </ul>

**Ход практического занятия:**

1. Подготовка рабочего места, проверка наличия, требуемого материально – технического оснащения.
2. Совместная постановка цели занятия и планируемых результатов освоения темы.
3. Проверка домашнего задания: теоретический разбор материала по теме.
4. Формирование умений подготовить рабочее место для проведения микроскопии с иммерсией, проводить цитологическое исследование мазков, выявлять цитологические признаки предопухолевых процессов, регистрировать результаты исследования, проводить утилизацию отработанного материала, дезинфекцию и стерилизацию использованной лабораторной посуды, инструментария, средств защиты.
5. Контроль освоенных умений: демонстрация практических умений преподавателю на оценку.
6. Подведение итога занятия.
7. Домашнее задание

**Оснащение занятия:**

Материально-техническое оснащение: автоклав, микроскоп, термостат электрический, бактерицидная лампа, бикс медицинский, планшет, дозатор, шпатель бактериологический, петля бактериологическая, лабораторная посуда.

Учебно-методическое оснащение: презентация, методические рекомендации к практическому занятию, симуляционное оборудование.

Программное обеспечение: Microsoft Office Word

**Учебно-методическая литература:** основная, дополнительная литература, Интернет-ресурсы

**Краткие теоретические и учебно-методические материалы по теме практической работы**

**1. Готовить материал, реактивы, лабораторную посуду и аппаратуру для гистологического исследования**

**Подготовка материала, реактивов, лабораторной посуды и аппаратуры для гистологического исследования**

**1. Подготовка материала для гистологического исследования:**

- Проверить целостность упаковки, в которой находится биологический материал:
  - целостность бечевки, которой завязан материал;
  - наличие (целостность) пломбы
- Сверить данные в направлении с доставленным материалом
- Зарегистрировать в журнале доставленный материал

**2. Подготовка реактивов и лабораторной посуды для гистологической обработки тканей и органов:**

- Подготовить мерные колбы и цилиндры для приготовления рабочих растворов реактивов
- Подготовить емкость (бутыль с завинчивающейся крышкой) для хранения готового раствора формалина
- Подготовить широкогорлые емкости объемом не менее 0,5литра для проведения проводки материала по батарее спиртов восходящей концентрации
- Подготовить рабочий раствор формалина для фиксации кусочков органов и тканей
- Визуально проверить качество спиртов для проводки (на предмет отсутствия мути и изменения цвета. При помутнении растворов спиртов заменить их на свежеприготовленный раствор спирта соответствующей концентрации)
- Проверить качество растворов красителей (гематоксилина и эозина). При изменении цвета или выпадении осадка, заменить на свежий раствор соответствующего красителя

**3. Подготовка аппаратуры для проведения гистологического исследования:**

- Включить термостат и выставить температуру 56-58<sup>0</sup>С для расплавления парафина (при температуре, ниже указанной парафин не расплавится, при более высокой температуре - закипит)
- Подготовить санный микротом к приготовлению срезов: почистить от остатков парафина (при их наличии), заточить или править микротомный нож

Подготовить микроскоп для микроскопического исследования гистопрепаратов.  
Так же подготовить:

1. Подготовить образцы тканей к гистологической обработке

2. Подготовить необходимые реактивы и красители:

- 10% раствор формалина для фиксации
- батарея спиртов восходящей концентрации
- парафин
- раствор гематоксилина и эозина
- карбол-ксилол для просветления срезов

3. Подготовить аппаратуру для изготовления гистопрепаратов:

- термостат
- термостол
- санный микротом
- микроскоп



## **2. Проводить гистологическую обработку тканей и готовить микропрепараты для исследований**

### **Проведение гистологической обработки тканей и приготовление микропрепаратов для исследований**

1. Иссечение кусочков органов размером не более 1 см:
  - паренхиматозные органы иссекают следующим образом:
    - при наличии капсулы органа, чтобы попала и капсула, и сам орган
    - если орган имеет в своем строении корковое и мозговое вещество, то иссекают так, чтобы в кусочек попало и корковое и мозговое вещество
    - при наличии видимых изменений в структуре органа, иссекают здоровую часть на границе с измененной
  - полые мышечные органы и кожу иссекают таким образом, чтобы попали все слои органа
  - материал, имеющий размеры менее 1 см, дополнительного иссечения не требует.
2. Фиксация кусочков в растворе формалина 24 часа.
3. Промывка материала под проточной водой (1-2 суток)
4. Проводка материала по батарее спиртов восходящей концентрации (обезвоживание).
5. Пропитывание и заливка материала в застывающие среды (уплотнение материала)
6. Подготовка предметных стекол (обработка адгезивной жидкостью- смесью яичного белка с глицерином)
7. Изготовление среза на микротоме и наклеивание среза на предметное стекло
8. Депарафинизация срезов
9. Окрашивание среза для обзорного метода исследования (окраска гематоксилином и эозином)
10. Заключение среза в оптически прозрачную среду

### **3. Оценивать качество приготовленных гистологических препаратов и провести гистологическое исследование тканей с последующим описанием структур:**

- форма и размер клеток
- интенсивность окраски цитоплазмы
- наличие/отсутствие включений в цитоплазме
- форма и размер ядра
- наличие/отсутствие ядрышек
- хроматин

### **Оценка качества приготовленных гистологических препаратов**

1. Срез должен быть тонким (не более 10 мкм) для изучения структур в проходящем свете
2. Срез должен быть контрастным (тканевые и клеточные элементы должны быть хорошо прокрашены)
3. Тканевые и клеточные элементы не должны иметь признаков аутолиза (кусочек органа или ткани должен быть хорошо фиксирован)
4. Гистологический препарат после исследования должен подлежать архивному хранению

### **Алгоритм проведения оценки качества приготовления гистопрепарата**

1. Взять гистологический препарат и установить его на предметный столик микроскоп
2. Поднять столик под визуальным наблюдением сбоку с помощью мароквинта
3. Добиться появления изображения с помощью макровинта
4. Добиться четкости изображения с помощью микровинта
5. Просмотреть весь препарат
6. Провести оценку качества приготовления препарата:

- качественно приготовленный гистологический препарат должен иметь толщину не более 10 мкм,
- хорошо расправлен без образования складок и разрывов,
- окраска среза равномерная с четким дифференцированием различных структур,
- срезу хорошо просветлены,
- без загрязнения срезов инородными частицами, кристаллами красителя, а также попадания пузырьков воздуха под покровное стекло

**Порядок идентификации и описания органа в гистологическом микропрепарате:**

При ответе по препарату необходимо указать:

1. Тип препарата.

- Срез (основной тип)
- Пленочный препарат
- Мазок
- Мазок-отпечаток (в нашем курсе не встречается)
- Тотальный препарат (объект или его часть помещены на стекло полностью)
- Соскоб (в нашем курсе не встречается)

2. Название препарата.

**Пример:** Данный препарат представляет собой <тип препарата> <название объекта>

3. Окраску или другой метод контрастирования препарата.

- Гематоксилин и эозин (абсолютное большинство препаратов).
- Азур-П и эозин (мазок крови).

При описании структур на препаратах, окрашенных кислыми и основными красителями (гематоксилин и эозин, азур-П и эозин) используйте термины:

- оксифильный (ацидофильный; иногда – эозинофильный)
- базофильный (иногда – азурофильный)
- нейтрофильный
- гетерофильный

4. Микроанатомическое описание основных структур органа на препарате.

5. Тканевой состав органа и его основных частей.

6. Детальное описание гистологических и цитологических структур, их функции и происхождение.

При описании микроскопического строения органа необходимо указать основную характеристику его строения:

Все органы можно разделить на три категории:

7. Паренхиматозные
8. Слоистые
9. Органы со специфической (узнаваемой) структурой

**А. Описание органа, имеющего паренхиматозное строение:**

7. В начале необходимо описать общее строение органа при изучении его при малом увеличении микроскопа.

1. Указать то, что орган имеет паренхиматозное строение.
2. Паренхима органа может быть разделена на дольки (полностью или не полностью).
3. Необходимо указать тканевой состав паренхимы.

8. После общей характеристики необходимо перейти к детальному описанию структур, изучаемых при большом увеличении.

1. Указать, какие структуры характерны для паренхимы.

2. Описать их:
  1. микроскопическое строение,
  2. тканевой состав, особенности тканей,
  3. клеточный состав, цитологические особенности.
9. Затем указать, чем представлены элементы стромы (основы) органа.

**Б. Описание органа, имеющего слоистое строение:**

1. Указать то, что орган имеет слоистое строение.
2. Указать какие оболочки (основные слои) выделяются в составе стенки органа. При рассмотрении препарата полого органа принято располагать препарат так, чтобы внутренняя поверхность органа располагалась в верхней части поля зрения, а наружная – снизу. При описании строения последовательно переходите от внутренней стороны к наружной.
3. Указать какие (тканевые) слои входят в состав каждой из оболочек.
4. Указать, какие структуры характерны для каждой из оболочек, дать их описание. Их тканевой и клеточный состав.

**4. Оформлять учетно-отчетную документацию**

**1. Регистрация поступившего биологического материала в журнале (форма №185/у, №186/у, № 014-2/у)**

Подготовить журнал (форма №185/у или № 186/у)

1. Проверить целостность упаковки, в которой находится биологический материал:
  - целостность бечевки, которой завязан материал;
  - наличие (целостность) пломбы
2. Взять направление на исследование и сверить данные в направлении с доставленным материалом
3. Зарегистрировать в журнале форма № 186/у «Журнал исследования трупной крови в лаборатории», указать данные:
  - присвоить порядковый номер;
  - Ф.И.О., возраст трупа, от которого взят материал;
  - фамилия эксперта, направившего материал;
  - № акта вскрытия;
  - дата вскрытия;
  - дата поступления материала в отделение;
  - упаковка, в которой поступил материал;
4. Зарегистрировать в журнале форма № 185/у «Журнал регистрации мазков и тампонов», указать данные:
  - присвоить порядковый номер
  - фамилия эксперта, направившего мазок, тампон;
  - № и дата направления
  - дата поступления
  - в каком виде поступил мазок, тампон
  - принадлежность мазка, тампона
  - возраст
5. Зарегистрировать в журнале форма № 014-2/у «Журнал регистрации поступления биопсийного (операционного) материала и выдачи результатов прижизненных патолого-анатомических исследований» указать данные:
  - присвоить порядковый номер
  - наименование направившей МО (структурное подразделение)
  - дата и время поступления (число, месяц, год, ч, мин) материала
  - Ф.И.О. пациента \*

- дата рождения
- порядковый номер флакона
- количество объектов
- Ф.И.О врача-патологоанатома
- дата выдачи
- расписка в получении

## 2. Заполнение направления на судебно-гистологическое исследование объекта (форма № 180/у или № 179/у)»

Подготовить журнал (форма №180/у или № 179/у)

3. Заполнить соответствующие графы направления:
  - подразделение, куда направляется объект
  - Ф.И.О. возраст (год рождения) и пол умершего
  - дата смерти
  - номер и дата акта судебно-медицинской экспертизы трупа
  - общее количество и перечень объектов, направленных на исследование
  - опечатывание объекта и формы опечатывания
  - краткие обстоятельства дела
  - основные данные исследования трупа и установленный судебно-медицинский диагноз
  - вопросы, подлежащие разрешению экспертом
  - дата заполнения направления
  - фамилия, инициалы и подпись судмедэксперта, направившего материала на исследование
4. Сделать надпись на направлении «Биологическая опасность» при направлении объектов от инфицированных трупов (туберкулез, гепатит, ВИЧ и др.)

## 3. Регистрация патологоанатомического заключения в журнал регистрации

6. Взять заполненный врачом протокол прижизненного патологоанатомического исследования биопсийного (операционного) материала
7. Взять журнал регистрации патологоанатомического исследования биопсийного (операционного) материала
8. Перенести все данные из протокола в журнал регистрации
9. Заполнить графы журнала согласно требованиям,
10. Поставить подпись, Ф.И.О. заполнявшего, дату

### Исследование цитологических признаков предопухолевых процессов.

#### Дисплазия умеренной степени

На препарате видны плоские клетки эпителия, цитоплазма базофильная, фиолетовые ядра неправильной формы, хроматин расположен неравномерно, ядрышки разных размеров, неровные границы клеток увеличение объема ядра по отношению к объему самой клетки.

#### Лейкоплакия

На препарате видны плоские клетки эпителия, цитоплазма окрашена гомогенно ясно-голубого, фиолетовые ядра, хроматин расположен равномерно, неровные границы клеток. Встречаются роговые чешуйки с явлениями гипер- и паракератоза (безъядерные образования полигональной формы).

#### Атрофический тип мазка

На препарате видны клетки базального и парабазального типов, мелкие, истонченные, цитоплазма скудная, фиолетовые ядра гиперхромные, хроматин расположен равномерно, ровные границы клеток.

### **Типовые задания:**

#### **Симуляционное задание.**

- Охарактеризовать цитологическую картину влагалищного мазка
- Охарактеризовать тип эпителия слизистой оболочки влагалища

#### **Проблемно-ситуационная задача.**

Микроскопический анализ влагалищных мазков является методом определения наличия половой цикличности у женщины. Различают четыре типа влагалищных мазков, цитологическая картина которых отражает динамику морфологии влагалищного эпителия и ориентировочно позволяет оценить в крови уровень эстрогенов, регулирующих митотическую активность некоторых слоев эпителиоцитов

#### **Задания для студента:**

1. Какой тип эпителия слизистой оболочки влагалища. Источник его эмбрионального происхождения
2. Характеристика цитологической картины влагалищного мазка при уровне эстрогенов в крови ниже базового уровня, какому периоду жизни или фазе полового цикла она соответствует при уровне эстрогенов в крови ниже базового уровня, какому периоду жизни или фазе полового цикла она соответствует

#### **Образец выполнения проблемно-ситуационного задания:**

1. А) Многослойный плоский неороговевающий; б) дистальные отделы парамезонефральных протоков + кожная эктодерма уrogenитального синуса; в) базальный, парабазальный, промежуточный, поверхностный; г) яичники, фолликулоциты; д) РФ-ФСГ (средний гипоталамус) → ФСГ (аденогипофиз) → эстрогены (фолликулярные клетки яичников) → эпителиоциты базального и парабазального слоев.
2. Единичные парабазальные эпителиоциты + много лейкоцитов, до полового созревания, климактерический и постклимактерический периоды, патология половой и эндокринной систем, в т.ч. отсутствие яичников

#### **Вопросы для закрепления теоретического материала**

1. Назовите предопухольевые процессы?
2. Дайте цитологическую характеристику гиперплазии, дисплазии, метаплазии?
3. Что такое дисплазия эпителиальной ткани?
4. Перечислите возможные причины диспластического процесса?
5. Перечислите стадии дисплазии?
6. Дайте характеристику каждой стадии дисплазии?

**Отчетность:** выполнение практических заданий, заполнение таблицы, решение задач

#### **Требования к оформлению отчета по практической работе**

Отчет по практической работе выполняется письменно как домашнее задание в свободной форме. В работе студент должен отразить весь объем полученной информации и сделать заключение на основе выводов.

**Критерии оценки практического занятия:** Оцениваются правильность и последовательность действий после усвоения каждого этапа занятия, и подводится средний итоговый балл. (Приложение 1).

**МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ К ПРАКТИЧЕСКОМУ ЗАНЯТИЮ № 23**  
**Исследование цитологических признаков опухолевых процессов**

<b>Цель:</b> формирование умений проводить исследование цитологических признаков опухолевых процессов.		
<b>Тип занятия:</b> практическая работа		
<b>Планируемые результаты</b>	<b>Уметь</b>	<b>Знать</b>
	<ul style="list-style-type: none"> <li>- подготовить рабочее место для проведения морфологического исследования</li> <li>- осуществлять микроскопическое исследование цитологических препаратов с признаками опухолевых процессов</li> <li>- оформлять учетно-отчетную документацию</li> <li>- архивировать оставшийся после исследования материал</li> <li>- утилизировать отработанный материал, дезинфицировать приборы, посуду, инструментарий, средства защиты</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- задачи, структуру, оборудование, правила работы и техники безопасности в патогистологической лаборатории;</li> <li>- правила взятия, обработки и архивирования материала для гистологического и гистохимического исследований;</li> <li>- критерии качества гистологических и гистохимических препаратов;</li> <li>- морфофункциональную характеристику тканей и органов человека.</li> </ul>

**Ход практического занятия:**

1. Подготовка рабочего места, проверка наличия, требуемого материально – технического оснащения.
2. Совместная постановка цели занятия и планируемых результатов освоения темы.
3. Проверка домашнего задания: теоретический разбор материала по теме.
4. Формирование умений подготовить рабочее место для проведения микроскопии с иммерсией, проводить цитологическое исследование мазков, выявлять цитологические признаки опухолевых процессов, регистрировать результаты исследования, проводить утилизацию отработанного материала, дезинфекцию и стерилизацию использованной лабораторной посуды, инструментария, средств защиты.
5. Контроль освоенных умений: демонстрация практических умений преподавателю на оценку.
6. Подведение итога занятия.
7. Домашнее задание

**Оснащение занятия:**

Материально-техническое оснащение: автоклав, микроскоп, термостат электрический, бактерицидная лампа, бикс медицинский, планшет, дозатор, шпатель бактериологический, петля бактериологическая, лабораторная посуда.

Учебно-методическое оснащение: презентация, методические рекомендации к практическому занятию, симуляционное оборудование.

Программное обеспечение: Microsoft Office Word

**Учебно-методическая литература:** основная, дополнительная литература, Интернет-ресурсы

**Учебно-методическая литература:** основная, дополнительная, интернет-ресурсы

## Краткие теоретические и учебно-методические материалы по теме практической работы

### 1. Готовить материал, реактивы, лабораторную посуду и аппаратуру для гистологического исследования

#### Подготовка материала, реактивов, лабораторной посуды и аппаратуры для гистологического исследования

##### 1. Подготовка материала для гистологического исследования:

- Проверить целостность упаковки, в которой находится биологический материал:
  - целостность бечевки, которой завязан материал;
  - наличие (целостность) пломбы
- Сверить данные в направлении с доставленным материалом
- Зарегистрировать в журнале доставленный материал

##### 2. Подготовка реактивов и лабораторной посуды для гистологической обработки тканей и органов:

- Подготовить мерные колбы и цилиндры для приготовления рабочих растворов реактивов
- Подготовить емкость (бутыль с завинчивающейся крышкой) для хранения готового раствора формалина
- Подготовить широкогорлые емкости объемом не менее 0,5 литра для проведения проводки материала по батарее спиртов восходящей концентрации
- Подготовить рабочий раствор формалина для фиксации кусочков органов и тканей
- Визуально проверить качество спиртов для проводки (на предмет отсутствия мути и изменения цвета. При помутнении растворов спиртов заменить их на свежеприготовленный раствор спирта соответствующей концентрации)
- Проверить качество растворов красителей (гематоксилина и эозина). При изменении цвета или выпадении осадка, заменить на свежий раствор соответствующего красителя

##### 3. Подготовка аппаратуры для проведения гистологического исследования:

- Включить термостат и выставить температуру 56-58<sup>0</sup>С для расплавления парафина (при температуре, ниже указанной парафин не расплавится, при более высокой температуре - закипит)
- Подготовить санный микротом к приготовлению срезов: почистить от остатков парафина (при их наличии), заточить или править микротомный нож

Подготовить микроскоп для микроскопического исследования гистопрепаратов.

Так же подготовить:

4. Подготовить образцы тканей к гистологической обработке

5. Подготовить необходимые реактивы и красители:

- 10% раствор формалина для фиксации
- батарея спиртов восходящей концентрации
- парафин
- раствор гематоксилина и эозина

- карбол-ксилол для просветления срезов

6. Подготовить аппаратуру для изготовления гистопрепаратов:

- термостат
- термостол
- санный микротом
- микроскоп

## **2. Проводить гистологическую обработку тканей и готовить микропрепараты для исследований**

### **Проведение гистологической обработки тканей и приготовление микропрепаратов для исследований**

1. Иссечение кусочков органов размером не более 1 см:
  - паренхиматозные органы иссекают следующим образом:
    - при наличии капсулы органа, чтобы попала и капсула, и сам орган
    - если орган имеет в своем строении корковое и мозговое вещество, то иссекают так, чтобы в кусочек попало и корковое и мозговое вещество
    - при наличии видимых изменений в структуре органа, иссекают здоровую часть на границе с измененной
  - полые мышечные органы и кожу иссекают таким образом, чтобы попали все слои органа
  - материал, имеющий размеры менее 1 см, дополнительного иссечения не требует.
2. Фиксация кусочков в растворе формалина 24 часа.
3. Промывка материала под проточной водой (1-2 суток)
4. Проводка материала по батарее спиртов восходящей концентрации (обезвоживание).
5. Пропитывание и заливка материала в застывающие среды (уплотнение материала)
6. Подготовка предметных стекол (обработка адгезивной жидкостью- смесью яичного белка с глицерином)
7. Изготовление среза на микротоме и наклеивание среза на предметное стекло
8. Депарафинизация срезов
9. Окрашивание среза для обзорного метода исследования (окраска гематоксилином и эозином)
10. Заключение среза в оптически прозрачную среду

### **3. Оценивать качество приготовленных гистологических препаратов и провести гистологическое исследование тканей с последующим описанием структур:**

- форма и размер клеток
- интенсивность окраски цитоплазмы
- наличие/отсутствие включений в цитоплазме
- форма и размер ядра
- наличие/отсутствие ядрышек
- хроматин

### **Оценка качества приготовленных гистологических препаратов**

1. Срез должен быть тонким (не более 10 мкм) для изучения структур в проходящем свете
2. Срез должен быть контрастным (тканевые и клеточные элементы должны быть хорошо прокрашены)
3. Тканевые и клеточные элементы не должны иметь признаков аутолиза (кусочек органа или ткани должен быть хорошо фиксирован)
4. Гистологический препарат после исследования должен подлежать архивному хранению

### **Алгоритм проведения оценки качества приготовления гистопрепарата**

1. Взять гистологический препарат и установить его на предметный столик микроскоп
2. Поднять столик под визуальным наблюдением сбоку с помощью мароквинта
3. Добиться появления изображения с помощью макровинта
4. Добиться четкости изображения с помощью микровинта
5. Просмотреть весь препарат
6. Провести оценку качества приготовления препарата:



- качественно приготовленный гистологический препарат должен иметь толщину не более 10 мкм,
- хорошо расправлен без образования складок и разрывов,
- окраска среза равномерная с четким дифференцированием различных структур,
- срезу хорошо просветлены,
- без загрязнения срезов инородными частицами, кристаллами красителя, а также попадания пузырьков воздуха под покровное стекло

**Порядок идентификации и описания органа в гистологическом микропрепарате:**

При ответе по препарату необходимо указать:

1. Тип препарата.

- Срез (основной тип)
- Пленочный препарат
- Мазок
- Мазок-отпечаток (в нашем курсе не встречается)
- Тотальный препарат (объект или его часть помещены на стекло полностью)
- Соскоб (в нашем курсе не встречается)

2. Название препарата.

**Пример:** Данный препарат представляет собой <тип препарата> <название объекта>

3. Окраску или другой метод контрастирования препарата.

- Гематоксилин и эозин (абсолютное большинство препаратов).
- Азур-П и эозин (мазок крови).

При описании структур на препаратах, окрашенных кислыми и основными красителями (гематоксилин и эозин, азур-П и эозин) используйте термины:

- оксифильный (ацидофильный; иногда – эозинофильный)
- базофильный (иногда – азурофильный)
- нейтрофильный
- гетерофильный

4. Микроанатомическое описание основных структур органа на препарате.

5. Тканевой состав органа и его основных частей.

6. Детальное описание гистологических и цитологических структур, их функции и происхождение.

При описании микроскопического строения органа необходимо указать основную характеристику его строения:

Все органы можно разделить на три категории:

10. Паренхиматозные
11. Слоистые
12. Органы со специфической (узнаваемой) структурой

**А. Описание органа, имеющего паренхиматозное строение:**

1. В начале необходимо описать общее строение органа при изучении его при малом увеличении микроскопа.

1. Указать то, что орган имеет паренхиматозное строение.
2. Паренхима органа может быть разделена на дольки (полностью или не полностью).
3. Необходимо указать тканевой состав паренхимы.

2. После общей характеристики необходимо перейти к детальному описанию структур, изучаемых при большом увеличении.

1. Указать, какие структуры характерны для паренхимы.

2. Описать их:
  1. микроскопическое строение,
  2. тканевой состав, особенности тканей,
  3. клеточный состав, цитологические особенности.
3. Затем указать, чем представлены элементы стромы (основы) органа.

**Б. Описание органа, имеющего слоистое строение:**

1. Указать то, что орган имеет слоистое строение.
2. Указать какие оболочки (основные слои) выделяются в составе стенки органа. При рассмотрении препарата полого органа принято располагать препарат так, чтобы внутренняя поверхность органа располагалась в верхней части поля зрения, а наружная – снизу. При описании строения последовательно переходите от внутренней стороны к наружной.
3. Указать какие (тканевые) слои входят в состав каждой из оболочек.
4. Указать, какие структуры характерны для каждой из оболочек, дать их описание. Их тканевой и клеточный состав.

**4. Оформлять учетно-отчетную документацию**

**1. Регистрация поступившего биологического материала в журнале (форма №185/у, №186/у, № 014-2/у)**

Подготовить журнал (форма №185/у или № 186/у)

1. Проверить целостность упаковки, в которой находится биологический материал:
  - целостность бечевки, которой завязан материал;
  - наличие (целостность) пломбы
2. Взять направление на исследование и сверить данные в направлении с доставленным материалом
3. Зарегистрировать в журнале форма № 186/у «Журнал исследования трупной крови в лаборатории», указать данные:
  - присвоить порядковый номер;
  - Ф.И.О., возраст трупа, от которого взят материал;
  - фамилия эксперта, направившего материал;
  - № акта вскрытия;
  - дата вскрытия;
  - дата поступления материала в отделение;
  - упаковка, в которой поступил материал;
4. Зарегистрировать в журнале форма № 185/у «Журнал регистрации мазков и тампонов», указать данные:
  - присвоить порядковый номер
  - фамилия эксперта, направившего мазок, тампон;
  - № и дата направления
  - дата поступления
  - в каком виде поступил мазок, тампон
  - принадлежность мазка, тампона
  - возраст
5. Зарегистрировать в журнале форма № 014-2/у «Журнал регистрации поступления биопсийного (операционного) материала и выдачи результатов прижизненных патолого-анатомических исследований» указать данные:
  - присвоить порядковый номер
  - наименование направившей МО (структурное подразделение)
  - дата и время поступления (число, месяц, год, ч, мин) материала
  - Ф.И.О. пациента

- дата рождения
- порядковый номер флакона
- количество объектов
- Ф.И.О врача-патологоанатома
- дата выдачи
- расписка в получении

## **2. Заполнение направления на судебно-гистологическое исследование объекта (форма № 180/у или № 179/у)»**

Подготовить журнал (форма №180/у или № 179/у)

1. Заполнить соответствующие графы направления:
  - подразделение, куда направляется объект
  - Ф.И.О. возраст (год рождения) и пол умершего
  - дата смерти
  - номер и дата акта судебно-медицинской экспертизы трупа
  - общее количество и перечень объектов, направленных на исследование
  - опечатывание объекта и формы опечатывания
  - краткие обстоятельства дела
  - основные данные исследования трупа и установленный судебно-медицинский диагноз
  - вопросы, подлежащие разрешению экспертом
  - дата заполнения направления
  - фамилия, инициалы и подпись судмедэксперта, направившего материала на исследование
2. Сделать надпись на направлении «Биологическая опасность» при направлении объектов от инфицированных трупов (туберкулез, гепатит, ВИЧ и др.)

## **3. Регистрация патологоанатомического заключения в журнал регистрации**

1. Взять заполненный врачом протокол прижизненного патологоанатомического исследования биопсийного (операционного) материала
2. Взять журнал регистрации патологоанатомического исследования биопсийного (операционного) материала
3. Перенести все данные из протокола в журнал регистрации
4. Заполнить графы журнала согласно требованиям,
5. Поставить подпись, Ф.И.О. заполнявшего, дату

Проводить утилизацию отработанного материала, дезинфекцию и стерилизацию использованной лабораторной посуды, инструментария, средств защиты

## **4. Утилизация отработанного материала, дезинфекция и стерилизация лабораторной посуды, инструментария, средств защиты**

1) *Приготовление дезинфицирующего раствора* (см. инструкцию, прилагаемую к используемому в лаборатории дезинфицирующему средству).

2) *Сбор и утилизация отходов (отработанного материала)* (см. СанПиН 3.3684-21"

"Санитарно-эпидемиологические требования к содержанию территорий городских и сельских поселений, к водным объектам, питьевой воде и питьевому водоснабжению, атмосферному воздуху, почвам, жилым помещениям, эксплуатации производственных, общественных помещений, организации и проведению санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий".)

3) *Дезинфекция лабораторной посуды, инструментария, средств защиты* проводится в соответствии с инструкцией, прилагаемой к используемому дезинфицирующему средству (концентрация дез.раствора, экспозиция)

4) **Предстерилизационная очистка** лабораторной посуды и инструментария проводится путем механического удаления загрязнения. Контроль ПСО на наличие остатков дез.раствора.

5) **Стерилизация лабораторной посуды и инструментария:**

- стерилизация сухим жаром 180<sup>0</sup>С - 60 минут
- автоклавирование при давлении 1,5 атм. в течение 60 минут, для уничтожения споровой микрофлоры – 90 минут при 2 атм.

### **Цитологическая характеристика опухолевого процесса**

#### **Цитологическая характеристика опухолевого процесса:**

Основным морфологическим проявлением опухоли является клеточная атипия. Морфологические признаки атипии опухолевых клеток выражаются в их полиморфизме. Характерны выраженное различие размеров и формы клеток, ядер, ядрышек и гиперхромия ядер, часто с «комковатым» нерегулярным хроматином, полиплоидия, нарушение ядерно-цитоплазматического соотношения в связи с укрупнением ядер, часто обилие митозов с преобладанием среди них патологических.

Наряду с атипией определяются и признаки дифференцировки опухолевых клеток с образованием в них специфических структур.

Дифференцировка опухолевых клеток всегда неполная, атипичная и афункциональная, но продукты дифференцировки позволяют установить тканевую принадлежность опухоли, а часто и ее гистогенез. Если дифференцировка не происходит, говорят о недифференцированных опухолях.

При установлении гистогенеза (гистологической формы) опухоли следует учитывать, что характерные черты и свойства ткани сохраняются при опухолевом росте. Так, для покровного эпителия при малигнизации сохраняется способность к образованию пластов.

Многочисленными и очень детальными исследованиями установлено, что клетка злокачественного новообразования не имеет строго специфических морфологических и цитохимических признаков. Однако, основываясь на комплексе цитологических критериев злокачественности, с достаточной степенью достоверности можно установить принадлежность клетки к злокачественному новообразованию.

#### **Признаки атипии клетки:**

1. Размер клетки превосходит размеры клеток той ткани, которая явилась источником опухолевого роста: клетки могут быть гигантских размеров (не абсолютный показатель, размеры клеток могут быть не изменены).

2. Изменение формы клеток. Форма не полностью или мало соответствует свойственной клеткам нормальной ткани и может быть самой причудливой. Может определяться отчетливый клеточный полиморфизм, т.е. клетки разных размеров и формы:

- изменяется ядерно-цитоплазматическое соотношение и, как правило, в пользу ядра (за счет увеличения последнего);
- появляются многоядерные клетки с отчетливым ядерным полиморфизмом;
- ядро располагается атипично;
- диссоциация между созреванием ядра и цитоплазмы (молодое ядро в зрелой клетке или зрелое ядро в незрелой цитоплазме).

3. Ядро:

- увеличение размера ядра;
- изменение формы ядра (иногда ядра приобретают самую причудливую форму), ядерный полиморфизм;
- контур ядра неправильный, неравномерно извилистый, иногда с глубокими вырезками, нередко грубо очерчен;
- ядерная мембрана неравномерно утолщена, с разрывами.

#### 4. Строение хроматина:

- неравномерный, грубый, разреженный;
- в недифференцированных и низкодифференцированных опухолях хроматин может быть тонкодисперсным, равномерно распределенным;
- окрашиваемость – чаще всего гиперхромия.

#### 5. Ядрышки:

- чаще всего определяются;
- размеры увеличены;
- форма неправильная, разнообразная;
- нередко увеличено их число.

Степень выраженности этих признаков может быть различна, у анаплазированных опухолей она чрезвычайно велика. Вместе с тем у высокозлокачественных низкодифференцированных новообразований признаки атипии (полиморфизм в строении ядра и цитоплазмы, нарушение регулярности строения хроматина и др.) могут быть минимальными.

Следует обратить внимание на тот факт, что по многим показателям признаки злокачественности совпадают с признаками дистрофии. Учитывая это обстоятельство, оценка признаков злокачественности должна производиться только на сохранных клеточных элементах.

#### **Типовые задания:**

##### **Симуляционное задание.**

- Провести окрашивание срезов гистологического препарата
- Осуществить заключение срезов гистологического препарата в консервирующую среду
- Провести световую микроскопия (изучение гистологического препарата)

##### **Проблемно-ситуационная задача.**

Гистологические препараты приготовлены из кончика языка и корня языка.

*Задания для студента:*

1. Проведите осмотр гистологического препарата кончика языка и корня языка
2. Провести контроль качества гистологического микропрепарата.
3. По каким особенностям строения их можно отдифференцировать

*Образец выполнения проблемно-ситуационного задания:*

1. Осмотр гистологического препарата из кончика языка и корня языка в котором видна структура сосочков языка
2. Провести контроль качества гистологического микропрепарата:
3. Препарат достаточно тонкий и прозрачный, клетки расположены в один слой; контрастный, четко определяются изучаемые структуры (ядра и цитоплазма клеток, межклеточное вещество, границы оболочек органа); препарат заключен в бальзам, потому может длительно храниться и использоваться повторно.
4. По каким особенностям строения их можно отдифференцировать – по структуре сосочков языка и по месту расположения язычной миндалины.

##### **Вопросы для закрепления теоретического материала:**

1. Дайте определение понятию «опухоль»?
2. Перечислите основные биологические особенности опухолевых клеток?
3. Укажите виды атипизма?
4. Назовите виды морфологического атипизма?
5. Охарактеризуйте современную концепцию канцерогенеза?

**Отчетность:** выполнение практических заданий, заполнение таблицы, решение задач

**Требования к оформлению отчета по практической работе**

Отчет по практической работе выполняется письменно как домашнее задание в свободной форме. В работе студент должен отразить весь объем полученной информации и сделать заключение на основе выводов.

**Критерии оценки практического занятия:** Оцениваются правильность и последовательность действий после усвоения каждого этапа занятия, и подводится средний итоговый балл. (Приложение 1).

\

**МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ К ПРАКТИЧЕСКОМУ ЗАНЯТИЮ №24**  
**Исследование цитологических признаков заболеваний органов дыхания**

<b>Цель:</b> формирование умений проводить исследование цитологических признаков заболеваний органов дыхания		
<b>Тип занятия :</b> практическая работа		
<b>Планируемые результаты</b>	<b>Уметь</b>	<b>Знать</b>
	<ul style="list-style-type: none"> <li>- подготовить рабочее место для проведения морфологического исследования</li> <li>- осуществлять микроскопическое исследование цитологических препаратов органов дыхания</li> <li>- оформлять учетно-отчетную документацию</li> <li>- архивировать оставшийся после исследования материал</li> <li>- утилизировать отработанный материал, дезинфицировать приборы, посуду, инструментарий, средства защиты</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- задачи, структуру, оборудование, правила работы и техники безопасности в патогистологической лаборатории;</li> <li>- правила взятия, обработки и архивирования материала для гистологического и гистохимического исследований;</li> <li>- критерии качества гистологических и гистохимических препаратов;</li> <li>- морфофункциональную характеристику тканей и органов человека.</li> </ul>

**Ход практического занятия:**

1. Подготовка рабочего места, проверка наличия, требуемого материально – технического оснащения.
2. Совместная постановка цели занятия и планируемых результатов освоения темы.
3. Проверка домашнего задания: теоретический разбор материала по теме.
4. Формирование умений подготовить рабочее место для проведения микроскопии с иммерсией, проводить цитологическое исследование мазков, выявлять цитологические признаки опухолевых процессов, регистрировать результаты исследования, проводить утилизацию отработанного материала, дезинфекцию и стерилизацию использованной лабораторной посуды, инструментария, средств защиты.
5. Контроль освоенных умений: демонстрация практических умений преподавателю на оценку.
6. Подведение итога занятия.
7. Домашнее задание

**Оснащение занятия:**

Материально-техническое оснащение: автоклав, микроскоп, термостат электрический, бактерицидная лампа, бикс медицинский, планшет, дозатор, шпатель бактериологический, петля бактериологическая, лабораторная посуда.

Учебно-методическое оснащение: презентация, методические рекомендации к практическому занятию, симуляционное оборудование.

Программное обеспечение: Microsoft Office Word

**Учебно-методическая литература:** основная, дополнительная литература, Интернет-ресурсы

**Краткие теоретические и учебно-методические материалы по теме практической работы**

**1. Готовить материал, реактивы, лабораторную посуду и аппаратуру для гистологического исследования**

**Подготовка материала, реактивов, лабораторной посуды и аппаратуры для гистологического исследования**

**1. Подготовка материала для гистологического исследования:**

- Проверить целостность упаковки, в которой находится биологический материал:
  - целостность бечевки, которой завязан материал;
  - наличие (целостность) пломбы
- Сверить данные в направлении с доставленным материалом
- Зарегистрировать в журнале доставленный материал

**2. Подготовка реактивов и лабораторной посуды для гистологической обработки тканей и органов:**

- Подготовить мерные колбы и цилиндры для приготовления рабочих растворов реактивов
- Подготовить емкость (бутыль с завинчивающейся крышкой) для хранения готового раствора формалина
- Подготовить широкогорлые емкости объемом не менее 0,5 литра для проведения проводки материала по батарее спиртов восходящей концентрации
- Подготовить рабочий раствор формалина для фиксации кусочков органов и тканей
- Визуально проверить качество спиртов для проводки (на предмет отсутствия мути и изменения цвета. При помутнении растворов спиртов заменить их на свежеприготовленный раствор спирта соответствующей концентрации)
- Проверить качество растворов красителей (гематоксилина и эозина). При изменении цвета или выпадении осадка, заменить на свежий раствор соответствующего красителя

**3. Подготовка аппаратуры для проведения гистологического исследования:**

- Включить термостат и выставить температуру 56-58<sup>0</sup>С для расплавления парафина (при температуре, ниже указанной парафин не расплавится, при более высокой температуре - закипит)
- Подготовить санный микротом к приготовлению срезов: почистить от остатков парафина (при их наличии), заточить или править микротомный нож

Подготовить микроскоп для микроскопического исследования гистопрепаратов.

Так же подготовить:

7. Подготовить образцы тканей к гистологической обработке

8. Подготовить необходимые реактивы и красители:

- 10% раствор формалина для фиксации
- батарея спиртов восходящей концентрации
- парафин
- раствор гематоксилина и эозина
- карбол-ксилол для просветления срезов

9. Подготовить аппаратуру для изготовления гистопрепаратов:

- термостат
- термостолик
- санный микротом
- микроскоп



## **2. Проводить гистологическую обработку тканей и готовить микропрепараты для исследований**

### **Проведение гистологической обработки тканей и приготовление микропрепаратов для исследований**

1. Иссечение кусочков органов размером не более 1 см:
  - паренхиматозные органы иссекают следующим образом:
    - при наличии капсулы органа, чтобы попала и капсула, и сам орган
    - если орган имеет в своем строении корковое и мозговое вещество, то иссекают так, чтобы в кусочек попало и корковое и мозговое вещество
    - при наличии видимых изменений в структуре органа, иссекают здоровую часть на границе с измененной
  - полые мышечные органы и кожу иссекают таким образом, чтобы попали все слои органа
  - материал, имеющий размеры менее 1 см, дополнительного иссечения не требует.
2. Фиксация кусочков в растворе формалина 24 часа.
3. Промывка материала под проточной водой (1-2 суток)
4. Проводка материала по батарее спиртов восходящей концентрации (обезвоживание).
5. Пропитывание и заливка материала в застывающие среды (уплотнение материала)
6. Подготовка предметных стекол (обработка адгезивной жидкостью- смесью яичного белка с глицерином)
7. Изготовление среза на микротоме и наклеивание среза на предметное стекло
8. Депарафинизация срезов
9. Окрашивание среза для обзорного метода исследования (окраска гематоксилином и эозином)
10. Заключение среза в оптически прозрачную среду

### **3. Оценивать качество приготовленных гистологических препаратов и провести гистологическое исследование тканей с последующим описанием структур:**

- форма и размер клеток
- интенсивность окраски цитоплазмы
- наличие/отсутствие включений в цитоплазме
- форма и размер ядра
- наличие/отсутствие ядрышек
- хроматин

### **Оценка качества приготовленных гистологических препаратов**

5. Срез должен быть тонким (не более 10 мкм) для изучения структур в проходящем свете
6. Срез должен быть контрастным (тканевые и клеточные элементы должны быть хорошо прокрашены)
7. Тканевые и клеточные элементы не должны иметь признаков аутолиза (кусочек органа или ткани должен быть хорошо фиксирован)
8. Гистологический препарат после исследования должен подлежать архивному хранению

### **Алгоритм проведения оценки качества приготовления гистопрепарата**

1. Взять гистологический препарат и установить его на предметный столик микроскоп
2. Поднять столик под визуальным наблюдением сбоку с помощью мароквинта
3. Добиться появления изображения с помощью макровинта
4. Добиться четкости изображения с помощью микровинта
5. Просмотреть весь препарат
6. Провести оценку качества приготовления препарата:

- качественно приготовленный гистологический препарат должен иметь толщину не более 10 мкм,
- хорошо расправлен без образования складок и разрывов,
- окраска среза равномерная с четким дифференцированием различных структур,
- срезу хорошо просветлены,
- без загрязнения срезов инородными частицами, кристаллами красителя, а также попадания пузырьков воздуха под покровное стекло

### **Порядок идентификации и описания органа в гистологическом микропрепарате:**

При ответе по препарату необходимо указать:

#### 1. Тип препарата.

- Срез (основной тип)
- Пленочный препарат
- Мазок
- Мазок-отпечаток (в нашем курсе не встречается)
- Тотальный препарат (объект или его часть помещены на стекло полностью)
- Соскоб (в нашем курсе не встречается)

#### 2. Название препарата.

**Пример:** Данный препарат представляет собой <тип препарата> <название объекта>

#### 3. Окраску или другой метод контрастирования препарата.

- Гематоксилин и эозин (абсолютное большинство препаратов).
- Азур-II и эозин (мазок крови).

При описании структур на препаратах, окрашенных кислыми и основными красителями (гематоксилин и эозин, азур-II и эозин) используйте термины:

- оксифильный (ацидофильный; иногда – эозинофильный)
- базофильный (иногда – азурофильный)
- нейтрофильный
- гетерофильный

#### 4. Микроанатомическое описание основных структур органа на препарате.

#### 5. Тканевой состав органа и его основных частей.

#### 6. Детальное описание гистологических и цитологических структур, их функции и происхождение.

При описании микроскопического строения органа необходимо указать основную характеристику его строения:

Все органы можно разделить на три категории:

13. Паренхиматозные
14. Слоистые
15. Органы со специфической (узнаваемой) структурой

### **А. Описание органа, имеющего паренхиматозное строение:**

#### 1. В начале необходимо описать общее строение органа при изучении его при малом увеличении микроскопа.

1. Указать то, что орган имеет паренхиматозное строение.
2. Паренхима органа может быть разделена на дольки (полностью или не полностью).
3. Необходимо указать тканевой состав паренхимы.

#### 2. После общей характеристики необходимо перейти к детальному описанию структур, изучаемых при большом увеличении.

1. Указать, какие структуры характерны для паренхимы.

2. Описать их:
  1. микроскопическое строение,
  2. тканевой состав, особенности тканей,
  3. клеточный состав, цитологические особенности.
3. Затем указать, чем представлены элементы стромы (основы) органа.

**Б. Описание органа, имеющего слоистое строение:**

1. Указать то, что орган имеет слоистое строение.
2. Указать какие оболочки (основные слои) выделяются в составе стенки органа. При рассмотрении препарата полого органа принято располагать препарат так, чтобы внутренняя поверхность органа располагалась в верхней части поля зрения, а наружная – снизу. При описании строения последовательно переходите от внутренней стороны к наружной.
3. Указать какие (тканевые) слои входят в состав каждой из оболочек.
4. Указать, какие структуры характерны для каждой из оболочек, дать их описание. Их тканевой и клеточный состав.

**4. Оформлять учетно-отчетную документацию**

**1. Регистрация поступившего биологического материала в журнале (форма №185/у, №186/у, № 014-2/у)**

Подготовить журнал (форма №185/у или № 186/у)

1. Проверить целостность упаковки, в которой находится биологический материал:
  - целостность бечевки, которой завязан материал;
  - наличие (целостность) пломбы
2. Взять направление на исследование и сверить данные в направлении с доставленным материалом
3. Зарегистрировать в журнале форма № 186/у «Журнал исследования трупной крови в лаборатории», указать данные:
  - присвоить порядковый номер;
  - Ф.И.О., возраст трупа, от которого взят материал;
  - фамилия эксперта, направившего материал;
  - № акта вскрытия;
  - дата вскрытия;
  - дата поступления материала в отделение;
  - упаковка, в которой поступил материал;
4. Зарегистрировать в журнале форма № 185/у «Журнал регистрации мазков и тампонов», указать данные:
  - присвоить порядковый номер
  - фамилия эксперта, направившего мазок, тампон;
  - № и дата направления
  - дата поступления
  - в каком виде поступил мазок, тампон
  - принадлежность мазка, тампона
  - возраст
5. Зарегистрировать в журнале форма № 014-2/у «Журнал регистрации поступления биопсийного (операционного) материала и выдачи результатов прижизненных патолого-анатомических исследований» указать данные:
  - присвоить порядковый номер
  - наименование направившей МО (структурное подразделение)
  - дата и время поступления (число, месяц, год, ч, мин) материала
  - Ф.И.О. пациента

- дата рождения
- порядковый номер флакона
- количество объектов
- Ф.И.О врача-патологоанатома
- дата выдачи
- расписка в получении

## **2. Заполнение направления на судебно-гистологическое исследование объекта (форма № 180/у или № 179/у)»**

Подготовить журнал (форма №180/у или № 179/у)

1. Заполнить соответствующие графы направления:

- подразделение, куда направляется объект
- Ф.И.О. возраст (год рождения) и пол умершего
- дата смерти
- номер и дата акта судебно-медицинской экспертизы трупа
- общее количество и перечень объектов, направленных на исследование
- опечатывание объекта и формы опечатывания
- краткие обстоятельства дела
- основные данные исследования трупа и установленный судебно-медицинский диагноз
- вопросы, подлежащие разрешению экспертом
- дата заполнения направления
- фамилия, инициалы и подпись судмедэксперта, направившего материала на исследование

2. Сделать надпись на направлении «Биологическая опасность» при направлении объектов от инфицированных трупов (туберкулез, гепатит, ВИЧ и др.)

## **3. Регистрация патологоанатомического заключения в журнал регистрации**

6. Взять заполненный врачом протокол прижизненного патологоанатомического исследования биопсийного (операционного) материала
7. Взять журнал регистрации патологоанатомического исследования биопсийного (операционного) материала
8. Перенести все данные из протокола в журнал регистрации
9. Заполнить графы журнала согласно требованиям,
10. Поставить подпись, Ф.И.О. заполнявшего, дату

Проводить утилизацию отработанного материала, дезинфекцию и стерилизацию использованной лабораторной посуды, инструментария, средств защиты

### **Утилизация отработанного материала, дезинфекция и стерилизация лабораторной посуды, инструментария, средств защиты**

1) *Приготовление дезинфицирующего раствора* (см. инструкцию, прилагаемую к используемому в лаборатории дезинфицирующему средству)

2) *Сбор и утилизация отходов (отработанного материала)* (см. СанПиН 3.3684-21"

"Санитарно-эпидемиологические требования к содержанию территорий городских и сельских поселений, к водным объектам, питьевой воде и питьевому водоснабжению, атмосферному воздуху, почвам, жилым помещениям, эксплуатации производственных, общественных помещений, организации и проведению санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий".)

3) *Дезинфекция лабораторной посуды, инструментария, средств защиты* проводится в соответствии с инструкцией, прилагаемой к используемому дезинфицирующему средству (концентрация дез.раствора, экспозиция)

4) **Предстерилизационная очистка** лабораторной посуды и инструментария проводится путем механического удаления загрязнения. Контроль ПСО на наличие остатков дез.раствора.

5) **Стерилизация лабораторной посуды и инструментария:**

- стерилизация сухим жаром 180<sup>0</sup>С - 60 минут
- автоклавирование при давлении 1,5 атм. в течение 60 минут, для уничтожения споровой микрофлоры – 90 минут при 2 атм.

#### **Цитологические особенности клеточных элементов мокроты и материала при бронхоскопии.**

- Альвеолярные макрофаги — клетки ретикулогистиоцитарного происхождения. Большое количество макрофагов в мокроте выявляют при хронических процессах и на стадии разрешения острых процессов в бронхолёгочной системе. Альвеолярные макрофаги, содержащие гемосидерин («клетки сердечных пороков»), выявляют при инфаркте лёгкого, кровоизлиянии, застое в малом кругу кровообращения. Макрофаги с липидными каплями — признак обструктивного процесса в бронхах и бронхиолах. Ксантомные клетки (жировые макрофаги) обнаруживают при абсцессе, актиномикозе, эхинококкозе лёгких.
- Клетки цилиндрического мерцательного эпителия — клетки слизистой оболочки гортани, трахеи и бронхов; их обнаруживают при бронхитах, трахеитах, бронхиальной астме, злокачественных новообразованиях лёгких. Плоский эпителий обнаруживают при попадании в мокроту слюны, он не имеет диагностического значения.
- Лейкоциты в том или ином количестве присутствуют в любой мокроте. Большое количество нейтрофилов выявляют в слизисто-гнойной и гнойной мокроте.
- Эозинофилами богата мокрота при бронхиальной астме, эозинофильной пневмонии, глистных поражениях лёгких, инфаркте лёгкого. Эозинофилы могут появиться в мокроте при туберкулёзе и раке лёгкого.
- Эритроциты. Обнаружение единичных эритроцитов в мокроте диагностического значения не имеет. При наличии свежей крови в мокроте определяют неизменённые эритроциты, если же с мокротой отходит кровь, находившаяся в дыхательных путях в течение длительного времени, обнаруживают выщелоченные эритроциты.
- Эластические волокна появляются при распаде ткани лёгкого, который сопровождается разрушением эпителиального слоя и освобождением эластических волокон; их обнаруживают при туберкулёзе, абсцессе, эхинококкозе, новообразованиях в лёгких.
- Спирали Куршмана образуются при спастическом состоянии бронхов и наличии в них слизи

#### **Типовые задания:**

##### **Симуляционное задание.**

- Провести окрашивание срезов гистологического препарата
- Осуществить заключение срезов гистологического препарата в консервирующую среду
- Провести световую микроскопия (изучение гистологического препарата)

##### **Проблемно-ситуационная задача.**

На 2-х гистологических препаратах даны разные структуры дыхательной системы. На первом – в эпителиальном пласте отсутствуют бокаловидные клетки, слабо развиты железы, хорошо выражена мышечная часть стенки; на втором – эпителий глубокий кубический, лишенный ресничек, местами сменяется дыхательными альвеолоцитами, тонкая пластинка соединительной ткани собственного слоя с единичными клетками гладкой мускулатуры.

*Задания для студента:*

1. Проведите осмотр гистологического препарата структуры дыхательной системы
  2. Провести контроль качества гистологического микропрепарата.
  3. Определите какие структуры представлены на первом и втором препаратах. *Образец выполнения проблемно-ситуационного задания:*
1. Осмотр гистологического препарата структуры дыхательной системы структуры дыхательной системы
  2. Провести контроль качества гистологического микропрепарата:  
Препарат достаточно тонкий и прозрачный, клетки расположены в один слой; контрастный, четко определяются изучаемые структуры (ядра и цитоплазма клеток, межклеточное вещество, границы оболочек органа); препарат заключен в бальзам, потому может длительно храниться и использоваться повторно.
  3. Определите какие структуры представлены на первом и втором препаратах.  
На первом – малый бронх, на втором – респираторная бронхиола.

**Вопросы для закрепления теоретического материала:**

1. Поясните особенности строения дыхательной системы?
2. Укажите виды эпителия различных отделов бронхолегочной системы?
3. Перечислите виды материала для цитологического исследования патологических процессов дыхательной системы?
4. Укажите особенности цитогаммы при воспалительных процессах бронхов и легких?
5. Поясните термин «гиперплазия бронхиального эпителия», назовите цитологические признаки гиперплазии?

**Отчетность:** выполнение практических заданий, заполнение таблицы, решение задач

**Требования к оформлению отчета по практической работе**

Отчет по практической работе выполняется письменно как домашнее задание в свободной форме. В работе студент должен отразить весь объем полученной информации и сделать заключение на основе выводов.

**Критерии оценки практического занятия:** Оцениваются правильность и последовательность действий после усвоения каждого этапа занятия, и подводится средний итоговый балл. (Приложение 1).

**МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ К ПРАКТИЧЕСКОМУ ЗАНЯТИЮ № 25**  
**Обработка биологического материала для морфологического исследования**

<b>Цель:</b> формирование умений проводить подготовку биологического материала для морфологического исследования		
<b>Тип занятия:</b> практическая работа		
<b>Планируемые результаты</b>	<b>Уметь</b>	<b>Знать</b>
	<ul style="list-style-type: none"> <li>- подготовить рабочее место для проведения морфологического исследования</li> <li>- подготовить стекла для цитологических мазков</li> <li>- изготавливать цитологические мазки</li> <li>- окрашивать цитологические мазки</li> <li>- осуществлять микроскопическое исследование изготовленных цитологических мазков</li> <li>- оформлять учетно-отчетную документацию</li> <li>- архивировать оставшийся после исследования материал</li> <li>- утилизировать отработанный материал, дезинфицировать приборы, посуду, инструментарий, средства защиты.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- задачи, структуру, оборудование, правила работы и техники безопасности в патогистологической лаборатории;</li> <li>- правила взятия, обработки и архивирования материала для гистологического и гистохимического исследований;</li> <li>- критерии качества гистологических и гистохимических препаратов;</li> </ul>

**Ход практического занятия:**

1. Подготовка рабочего места, проверка наличия, требуемого материально – технического оснащения.
2. Совместная постановка цели занятия и планируемых результатов освоения темы.
3. Проверка домашнего задания: теоретический разбор материала по теме.
4. Формирование умений при проведении гистологической обработки материала: подготовка рабочего места для проведения гистологической обработки материала (биологический материал, реактивы, лабораторную посуду, аппаратуру); приготовление рабочих растворов ДС для дезинфекции использованной лабораторной посуды, инструментария, отработанного биоматериала; осуществление приема и регистрации материала для гистологического исследования, заполнение журнала регистрации; подготовки материала для гистологического исследования; архивирование материала; проведение утилизации отработанного материала, дезинфекции рабочего места, посуды, инструментария и средств защиты.
5. Контроль освоенных умений: демонстрация практических умений преподавателю на оценку.
6. Подведение итога занятия.
7. Домашнее задание

**Оснащение занятия:**

Материально-техническое оснащение: автоклав, микроскоп, термостат электрический, бактерицидная лампа, бикс медицинский, планшет, дозатор, шпатель бактериологический, петля бактериологическая, лабораторная посуда.

Учебно-методическое оснащение: презентация, методические рекомендации к практическому занятию, симуляционное оборудование.

Программное обеспечение: Microsoft Office Word

Учебно-методическая литература: основная, дополнительная литература, Интернет-ресурсы

### Краткие теоретические и учебно-методические материалы по теме практической работы

#### 1. Готовить материал, реактивы, лабораторную посуду и аппаратуру для гистологического исследования

##### Подготовка материала, реактивов, лабораторной посуды и аппаратуры для гистологического исследования

#### 1. Подготовка материала для гистологического исследования:

- Проверить целостность упаковки, в которой находится биологический материал:
  - целостность бечевки, которой завязан материал;
  - наличие (целостность) пломбы
- Сверить данные в направлении с доставленным материалом
- Зарегистрировать в журнале доставленный материал

#### 2. Подготовка реактивов и лабораторной посуды для гистологической обработки тканей и органов:

- Подготовить мерные колбы и цилиндры для приготовления рабочих растворов реактивов
- Подготовить емкость (бутыль с завинчивающейся крышкой) для хранения готового раствора формалина
- Подготовить широкогорлые емкости объемом не менее 0,5литра для проведения проводки материала по батарее спиртов восходящей концентрации
- Подготовить рабочий раствор формалина для фиксации кусочков органов и тканей
- Визуально проверить качество спиртов для проводки (на предмет отсутствия мути и изменения цвета. При помутнении растворов спиртов заменить их на свежеприготовленный раствор спирта соответствующей концентрации)
- Проверить качество растворов красителей (гематоксилина и эозина). При изменении цвета или выпадении осадка, заменить на свежий раствор соответствующего красителя

#### 3. Подготовка аппаратуры для проведения гистологического исследования:

- Включить термостат и выставить температуру 56-58<sup>0</sup>С для расплавления парафина (при температуре, ниже указанной парафин не расплавится, при более высокой температуре - закипит)
- Подготовить санный микротом к приготовлению срезов: почистить от остатков парафина (при их наличии), заточить или править микротомный нож

Подготовить микроскоп для микроскопического исследования гистопрепаратов.

Так же подготовить:

1. Подготовить образцы тканей к гистологической обработке
2. Подготовить необходимые реактивы и красители:
  - 10% раствор формалина для фиксации
  - батарея спиртов восходящей концентрации
  - парафин
  - раствор гематоксилина и эозина
  - карбол-ксилол для просветления срезов
3. Подготовить аппаратуру для изготовления морфопрепаратов:
  - термостат



- термостол
- санный микротом
- микроскоп

## **2. Проводить гистологическую обработку тканей и готовить микропрепараты для исследований**

### **Проведение гистологической обработки тканей и приготовление микропрепаратов для исследований**

1. Иссечение кусочков органов размером не более 1 см:
  - паренхиматозные органы иссекают следующим образом:
    - при наличии капсулы органа, чтобы попала и капсула, и сам орган
    - если орган имеет в своем строении корковое и мозговое вещество, то иссекают так, чтобы в кусочек попало и корковое и мозговое вещество
    - при наличии видимых изменений в структуре органа, иссекают здоровую часть на границе с измененной
  - полые мышечные органы и кожу иссекают таким образом, чтобы попали все слои органа
  - материал, имеющий размеры менее 1 см, дополнительного иссечения не требует.
2. Фиксация кусочков в растворе формалина 24 часа.
3. Промывка материала под проточной водой (1-2 суток)
4. Проводка материала по батарее спиртов восходящей концентрации (обезвоживание).
5. Пропитывание и заливка материала в застывающие среды (уплотнение материала)
6. Подготовка предметных стекол (обработка адгезивной жидкостью- смесью яичного белка с глицерином)
7. Изготовление среза на микротоме и наклеивание среза на предметное стекло
8. Депарафинизация срезов
9. Окрашивание среза для обзорного метода исследования (окраска гематоксилином и эозином)
10. Заключение среза в оптически прозрачную среду

## **3. Оценивать качество приготовленных гистологических препаратов и провести гистологическое исследование тканей с последующим описанием структур:**

- форма и размер клеток
- интенсивность окраски цитоплазмы
- наличие/отсутствие включений в цитоплазме
- форма и размер ядра
- наличие/отсутствие ядрышек
- хроматин

### **Оценка качества приготовленных морфологических препаратов**

1. Срез должен быть тонким (не более 10 мкм) для изучения структур в проходящем свете
2. Срез должен быть контрастным (тканевые и клеточные элементы должны быть хорошо прокрашены)
3. Тканевые и клеточные элементы не должны иметь признаков аутолиза (кусочек органа или ткани должен быть хорошо фиксирован)
4. Гистологический препарат после исследования должен подлежать архивному хранению

### **Алгоритм проведения оценки качества приготовления морфопрепарата**

1. Взять гистологический препарат и установить его на предметный столик микроскоп
2. Поднять столик под визуальным наблюдением сбоку с помощью мароквинта
3. Добиться появления изображения с помощью макровинта

4. Добиться четкости изображения с помощью микровинта
5. Просмотреть весь препарат
6. Провести оценку качества приготовления препарата:
  - качественно приготовленный гистологический препарат должен иметь толщину не более 10 мкм,
  - хорошо расправлен без образования складок и разрывов,
  - окраска среза равномерная с четким дифференцированием различных структур,
  - срезу хорошо просветлены,
  - без загрязнения срезов инородными частицами, кристаллами красителя, а также попадания пузырьков воздуха под покровное стекло

### **Порядок идентификации и описания органа в гистологическом микропрепарате:**

При ответе по препарату необходимо указать:

#### 1. Тип препарата.

- Срез (основной тип)
- Пленочный препарат
- Мазок
- Мазок-отпечаток (в нашем курсе не встречается)
- Тотальный препарат (объект или его часть помещены на стекло полностью)
- Соскоб (в нашем курсе не встречается)

#### 2. Название препарата.

**Пример:** Данный препарат представляет собой <тип препарата> <название объекта>

#### 3. Окраску или другой метод контрастирования препарата.

- Гематоксилин и эозин (абсолютное большинство препаратов).
- Азур-II и эозин (мазок крови).

При описании структур на препаратах, окрашенных кислыми и основными красителями (гематоксилин и эозин, азур-II и эозин) используйте термины:

- оксифильный (ацидофильный; иногда – эозинофильный)
- базофильный (иногда – азурофильный)
- нейтрофильный
- гетерофильный

#### 4. Микроанатомическое описание основных структур органа на препарате.

#### 5. Тканевой состав органа и его основных частей.

#### 6. Детальное описание гистологических и цитологических структур, их функции и происхождение.

При описании микроскопического строения органа необходимо указать основную характеристику его строения:

Все органы можно разделить на три категории:

16. Паренхиматозные
17. Слоистые
18. Органы со специфической (узнаваемой) структурой

### **А. Описание органа, имеющего паренхиматозное строение:**

10. В начале необходимо описать общее строение органа при изучении его при малом увеличении микроскопа.

1. Указать то, что орган имеет паренхиматозное строение.
2. Паренхима органа может быть разделена на дольки (полностью или не полностью).

3. Необходимо указать тканевой состав паренхимы.
11. После общей характеристики необходимо перейти к детальному описанию структур, изучаемых при большом увеличении.
  1. Указать, какие структуры характерны для паренхимы.
  2. Описать их:
    1. микроскопическое строение,
    2. тканевой состав, особенности тканей,
    3. клеточный состав, цитологические особенности.
12. Затем указать, чем представлены элементы стромы (основы) органа.

#### **Б. Описание органа, имеющего слоистое строение:**

1. Указать то, что орган имеет слоистое строение.
2. Указать какие оболочки (основные слои) выделяются в составе стенки органа. При рассмотрении препарата полого органа принято располагать препарат так, чтобы внутренняя поверхность органа располагалась в верхней части поля зрения, а наружная – снизу. При описании строения последовательно переходите от внутренней стороны к наружной.
3. Указать какие (тканевые) слои входят в состав каждой из оболочек.
4. Указать, какие структуры характерны для каждой из оболочек, дать их описание. Их тканевой и клеточный состав.

#### **Исследование (ИГХ)**

Суть ИГХ исследования заключается в обработке опухолевой ткани специальными антителами, которые связываются со своими белками-мишенями на поверхности опухолевых клеток. После выполнения определенных процедур это приводит к тому, что эти белки становятся видны при микроскопическом исследовании опухоли, если они ей продуцируются.

ИГХ является незаменимым методом в следующих случаях:

- Определить откуда исходит опухолевый процесс в том случае, если имеет место первично-множественное метастатическое поражение органов или метастазы исходят из не выявленного первичного очага;
- Провести дифференциальный диагноз между различными видами злокачественных опухолей, например, меланомой, саркомой, раком и лимфомой;
- Определить точную разновидность лейкоза или лимфомы.

#### **4. Оформлять учетно-отчетную документацию**

##### **1. Регистрация поступившего биологического материала в журнале (форма №185/у, №186/у, № 014-2/у)**

Подготовить журнал (форма №185/у или № 186/у)

1. Проверить целостность упаковки, в которой находится биологический материал:
  - целостность бечевки, которой завязан материал;
  - наличие (целостность) пломбы
2. Взять направление на исследование и сверить данные в направлении с доставленным материалом
3. Зарегистрировать в журнале форма № 186/у «Журнал исследования трупной крови в лаборатории», указать данные:
  - присвоить порядковый номер;
  - Ф.И.О., возраст трупа, от которого взят материал;
  - фамилия эксперта, направившего материал;
  - № акта вскрытия;
  - дата вскрытия;

- дата поступления материала в отделение;
  - упаковка, в которой поступил материал;
4. Зарегистрировать в журнале форма № 185/у «Журнал регистрации мазков и тампонов», указать данные:
    - присвоить порядковый номер
    - фамилия эксперта, направившего мазок, тампон;
    - № и дата направления
    - дата поступления
    - в каком виде поступил мазок, тампон
    - принадлежность мазка, тампона
    - возраст
  5. Зарегистрировать в журнале форма № 014-2/у «Журнал регистрации поступления биопсийного (операционного) материала и выдачи результатов прижизненных патолого-анатомических исследований» указать данные:
    - присвоить порядковый номер
    - наименование направившей МО (структурное подразделение)
    - дата и время поступления (число, месяц, год, ч, мин) материала
    - Ф.И.О. пациента
    - дата рождения
    - порядковый номер флакона
    - количество объектов
    - Ф.И.О. врача-патологоанатома
    - дата выдачи
    - расписка в получении

## **2. Заполнение направления на судебно-гистологическое исследование объекта (форма № 180/у или № 179/у)»**

Подготовить журнал (форма №180/у или № 179/у)

1. Заполнить соответствующие графы направления:
  - подразделение, куда направляется объект
  - Ф.И.О. возраст (год рождения) и пол умершего
  - дата смерти
  - номер и дата акта судебно-медицинской экспертизы трупа
  - общее количество и перечень объектов, направленных на исследование
  - опечатывание объекта и формы опечатывания
  - краткие обстоятельства дела
  - основные данные исследования трупа и установленный судебно-медицинский диагноз
  - вопросы, подлежащие разрешению экспертом
  - дата заполнения направления
  - фамилия, инициалы и подпись судмедэксперта, направившего материала на исследование
2. Сделать надпись на направлении «Биологическая опасность» при направлении объектов от инфицированных трупов (туберкулез, гепатит, ВИЧ и др.)

## **3. Регистрация патологоанатомического заключения в журнал регистрации**

1. Взять заполненный врачом протокол прижизненного патологоанатомического исследования биопсийного (операционного) материала
2. Взять журнал регистрации патологоанатомического исследования биопсийного (операционного) материала
3. Перенести все данные из протокола в журнал регистрации
4. Заполнить графы журнала согласно требованиям,

5. Поставить подпись, Ф.И.О. заполнявшего, дату

### **Типовые задания:**

#### **Симуляционное задание.**

- Изучить общие правила фиксации (при работе с фиксирующими жидкостями)
- Повторить использование системы контроля за реагентами, применяемой в современных гистологических процессорах.

#### **Проблемно-ситуационная задача.**

При морфологическом анализе биопсии эндометрия, полученной на 8-й день менструального цикла, обнаружено, что покровные эпителиоциты имеют кубическую форму, редко встречаются мерцательные клетки и фигуры митозов.

*Задания для студента:*

1. Осмотр препарата биопсии эндометрия
2. Соответствует ли описанная картина физиологическому состоянию эндометрии в этот период

*Образец выполнения проблемно-ситуационного задания:*

1. Осмотр препарата щитовидной железы покровные эпителиоциты имеют кубическую форму, редко встречаются мерцательные клетки и фигуры митозов
2. Соответствует ли описанная картина физиологическому состоянию эндометрии в этот период - не соответствует

#### **Ведение учетной медицинской документации:**

1. Регистрация поступившего биологического материала в журнале (форма №185/у, №186/у, № 014-2/у)
2. Заполнение направления на судебно-гистологическое исследование объекта (форма № 180/у или № 179/у)»

#### **Вопросы для закрепления теоретического материала:**

1. Макроскопическое описание при морфологическом анализе?
2. Микроскопическое описание при морфологическом анализе?
3. Подвид опухоли при морфологическом анализе?
4. Состояние краев резекции новообразования при анализе постоперационного материала?

**Отчетность:** выполнение гистологического исследования микропрепаратов органов, выполнение рисунков органов; решение задач.

#### **Требования к оформлению отчета по практической работе:**

Отчет по практической работе выполняется письменно как домашнее задание в свободной форме. В работе студент должен отразить весь объем полученной информации и сделать заключение на основе выводов.

**Критерии оценки практического занятия:** Оцениваются правильность и последовательность действий после усвоения каждого этапа занятия, и подводится средний итоговый балл. (Приложение 1).

## МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ К ПРАКТИЧЕСКОМУ ЗАНЯТИЮ № 26

### Проведение окраски цитологических мазков гематоксилин - эозином. Окрашивание цитологических мазков азур - эозиновыми смесями

<b>Цель:</b> формирование умений проводить окраски цитологических мазков гематоксилин - эозином. Окрашивание цитологических мазков азур - эозиновыми смесями окраски цитологических мазков гематоксилин - эозином. Окрашивание цитологических мазков азур - эозиновыми смесями		
<b>Тип занятия:</b> практическая работа		
<b>Планируемые результаты</b>	<b>Уметь</b>	<b>Знать</b>
	<ul style="list-style-type: none"> <li>- подготовить рабочее место для проведения окрашивания цитологических мазков и изготовления цитологических препаратов</li> <li>- осуществлять фиксацию, окраску препаратов для морфологического исследования из биоматериала различного вида</li> <li>- проводить окраску цитологических мазков гематоксилин-эозином</li> <li>- проводить окраску цитологических мазков азур-эозиновыми смесями</li> <li>- осуществлять микроскопическое исследование изготовленных цитологических мазков</li> <li>- оформлять учетно-отчетную документацию</li> <li>- архивировать оставшийся после исследования материал</li> <li>- утилизировать отработанный материал, дезинфицировать приборы, посуду, инструментарий, средства защиты</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- задачи, структуру, оборудование, правила работы и техники безопасности в патогистологической лаборатории;</li> <li>- правила взятия, обработки и архивирования материала для гистологического и гистохимического исследований;</li> <li>- критерии качества гистологических и гистохимических препаратов</li> </ul>

#### Ход практического занятия:

1. Подготовка рабочего места, проверка наличия, требуемого материально – технического оснащения.
2. Совместная постановка цели занятия и планируемых результатов освоения темы.
3. Проверка домашнего задания: теоретический разбор материала по теме.
4. Формирование умений при проведении гистологической обработки материала: подготовка рабочего места для проведения гистологической обработки материала (биологический материал, реактивы, лабораторную посуду, аппаратуру); осуществление подготовки парафиновых и целлоидиновых срезов к окрашиванию; проведение депарафинирования и окрашивания срезов; оценивание качества окрашенных срезов; проведение обработки срезов после окрашивания (обезвоживание и просветление срезов); заключение срезов оптически прозрачные среды; архивирование материала; проведение утилизации отработанного материала, дезинфекции рабочего места, посуды, инструментария и средств защиты.
5. Контроль освоенных умений: демонстрация практических умений преподавателю на оценку.

6. Подведение итога занятия.
7. Домашнее задание

#### **Оснащение занятия:**

Материально-техническое оснащение: автоклав, микроскоп, термостат электрический, бактерицидная лампа, бикс медицинский, планшет, дозатор, шпатель бактериологический, петля бактериологическая, лабораторная посуда.

Учебно-методическое оснащение: презентация, методические рекомендации к практическому занятию, симуляционное оборудование.

Программное обеспечение: Microsoft Office Word

**Учебно-методическая литература:** основная, дополнительная литература, Интернет-ресурсы

#### **Краткие теоретические и учебно-методические материалы по теме практической работы**

#### **1. Готовить материал, реактивы, лабораторную посуду и аппаратуру для гистологического исследования**

##### **Подготовка материала, реактивов, лабораторной посуды и аппаратуры для гистологического исследования**

##### **1. Подготовка материала для гистологического исследования:**

- Проверить целостность упаковки, в которой находится биологический материал:
  - целостность бечевки, которой завязан материал;
  - наличие (целостность) пломбы
- Сверить данные в направлении с доставленным материалом
- Зарегистрировать в журнале доставленный материал

##### **2. Подготовка реактивов и лабораторной посуды для гистологической обработки тканей и органов:**

- Подготовить мерные колбы и цилиндры для приготовления рабочих растворов реактивов
- Подготовить емкость (бутыль с завинчивающейся крышкой) для хранения готового раствора формалина
- Подготовить широкогорлые емкости объемом не менее 0,5литра для проведения проводки материала по батарее спиртов восходящей концентрации
- Подготовить рабочий раствор формалина для фиксации кусочков органов и тканей
- Визуально проверить качество спиртов для проводки (на предмет отсутствия мути и изменения цвета. При помутнении растворов спиртов заменить их на свежеприготовленный раствор спирта соответствующей концентрации)
- Проверить качество растворов красителей (гематоксилина и эозина). При изменении цвета или выпадении осадка, заменить на свежий раствор соответствующего красителя

##### **3. Подготовка аппаратуры для проведения гистологического исследования:**

- Включить термостат и выставить температуру 56-58<sup>0</sup>С для расплавления парафина (при температуре, ниже указанной парафин не расплавится, при более высокой температуре - закипит)
- Подготовить санный микротом к приготовлению срезов: почистить от остатков парафина (при их наличии), заточить или править микротомный нож
- Подготовить микроскоп для микроскопического исследования гистопрепаратов

**Так же подготовить:**

4. Подготовить гистологические срезы к окрашиванию
  5. Подготовить необходимые реактивы и красители:
    - раствор гематоксилина и эозина
    - карбол - ксилол для просветления срезов
    - канадский бальзам
  6. Подготовить аппаратуру для оценки качества гистопрепаратов:
    - микроскоп
    - термостол
    - санный микротом
    - микроскоп
- 2. Проводить гистологическую обработку тканей и готовить микропрепараты для исследований**

**Проведение гистологической обработки тканей и приготовление микропрепаратов для исследований**

1. Иссечение кусочков органов размером не более 1 см:
  - паренхиматозные органы иссекают следующим образом:
    - при наличии капсулы органа, чтобы попала и капсула, и сам орган
    - если орган имеет в своем строении корковое и мозговое вещество, то иссекают так, чтобы в кусочек попало и корковое и мозговое вещество
    - при наличии видимых изменений в структуре органа, иссекают здоровую часть на границе с измененной
  - полые мышечные органы и кожу иссекают таким образом, чтобы попали все слои органа
  - материал, имеющий размеры менее 1 см, дополнительного иссечения не требует.
2. Фиксация кусочков в растворе формалина 24 часа.
3. Промывка материала под проточной водой (1-2 суток)
4. Проводка материала по батарее спиртов восходящей концентрации (обезвоживание).
5. Пропитывание и заливка материала в застывающие среды (уплотнение материала)
6. Подготовка предметных стекол (обработка адгезивной жидкостью- смесью яичного белка с глицерином)
7. Изготовление среза на микротоме и наклеивание среза на предметное стекло
8. Депарафинизация срезов
9. Окрашивание среза для обзорного метода исследования (окраска гематоксилином и эозином)
10. Заключение среза в оптически прозрачную среду

**Алгоритм окраски среза гематоксилином и эозином и заключение в бальзам**

*I. Депарафинирование срезов*

1. Ксилол 1 (5-10 мин)
2. Ксилол 2 (5-10 мин)
3. Ксилол 3 (5-10 мин)
4. Спирт 1 (30 секунд)
5. Спирт 2 (30 секунд)
6. Вода (30 секунд)

*II. Окрашивание срезов*

1. Раствор гематоксилина (5-10 минут)
2. Ополоснуть водой (30 секунд)
3. Эозин (5 минут)
4. Вода (30 секунд)
5. Спирт (30 секунд)
6. Карбол- ксилол (30 секунд)



7. Ксилол (30 секунд)

### III. Заключение в бальзам

1. Нанести на срез 2-3 капли канадского бальзама
2. С помощью препаровальной иглы накрыть покровным стеклом, избегая воздушных пузырей
3. Излишки бальзама с краев стекла аккуратно удалить с помощью салфетки
4. Оставить препарат для высыхания

### 3. Оценивать качество приготовленных гистологических препаратов (см. Приложение 3):

- интенсивность окраски цитоплазмы
- интенсивность окраски ядер
- окраска межклеточного вещества тканей

#### Окраска азур-эозиновыми красителями.

Метод окрашивания по Романовскому (азур-эозиновой смесью) в разных лабораториях используется в разных модификациях – по Паппенгейму (Май-Грюнвальду-Гимзе), Лейшману, Романовскому-Гимзе и т. д.

Преимущество метода является четкое прокрашивание ядер, вследствие чего хорошо просматриваются структуры хроматина, а также бактериальная флора и простейшие.

Окраска по Романовскому-Гимзе. Краситель состоит из щелочной части (азур II – яркий синий цвет), и кислой части (эозин – розово-красный цвет).

В настоящее время используется готовый краситель Романовского-Гимзе, из которого перед началом работы готовят рабочий раствор из расчета 1 капля краски на 1 мл дистиллированной воды.

Высохший фиксированный мазок помещается в кювету с рабочим раствором краски на 25–40 минут (конкретное время устанавливается опытным путем для каждой партии красителя). Бактерии окрашиваются в фиолетово-красный цвет, цитоплазма клеток – в голубой, ядра – в красный. При окрашивании простейших их цитоплазма приобретает голубой цвет, а ядра – красно-фиолетовый.

Результаты окрашивания (мазков крови):

- Ядра клеток – красно-фиолетовые.
- Эозинофильные гранулы – красновато-коричневые.
- Базофильные гранулы – синие.
- Нейтрофильные гранулы – фиолетовые.
- Цитоплазма лимфоцитов – голубая.
- Эритроциты – бледно-красные.
- Тромбоциты – наружная часть синяя (более светлая); внутренняя – фиолетовая (более темная).

Окраска по Маю-Грюнвальду. Данный метод очень удобен для визуализации гранулоцитов. Для окрашивания применяется готовый раствор эозин-метиленового синего по Маю-Грюнвальду. Мазок без предварительной фиксации заливают красителем, через 5 минут промывают и высушивают.

Результаты окрашивания:

- Лимфоциты – ядра: сине-фиолетовые; цитоплазма: голубая.
- Моноциты – ядра: сине-фиолетовые; цитоплазма: серо-голубая.
- Гранулоциты – ядра: сине-фиолетовые; гранулы: красные, фиолетовые, темно-синие (зависит от типа).
- Тромбоциты – наружная часть голубая; внутренняя – фиолетовая.
- Эритроциты – розовые.

*Окраска по Паппенгейму. Представляет собой комбинацию двух предыдущих методов. Сухие нефиксированные мазки помещаются в кювету с раствором Мая-Грюнвальда на 3–5 минут. После этого контейнер с мазками ополаскивается дистиллированной водой, после чего мазки помещаются в кювету с разведенным раствором Романовского-Гимзы на 20–30 минут. После этого мазки промываются проточной водой и высушиваются.*

Результаты окрашивания:

- Ядра клеток – красно-фиолетовые.
- Цитоплазма лимфоидных клеток – светло-синяя.
- Лимфоидная азурная грануляция – ярко-синяя.
- Миелоидная азурная грануляция – фиолетовая.
- Нейтрофильные гранулы – светло-фиолетовые.
- Эозинофильные гранулы – красные, красно-коричневые.
- Базофильные гранулы – темно-фиолетовые, черные.
- Эритроциты – розовые (полихроматофильные эритроциты - синеватые).
- Тельца Жолли – красновато-фиолетовые.
- Тельца Ауэра – ярко-красные.

**Микроскопия окрашенных парафиновых срезов с целью контроля качества окраски.**

Гистологический препарат любой формы должен отвечать следующим требованиям:

1. Сохранять прижизненное состояние структур (при фиксации материала);
2. Быть достаточно тонким и прозрачным. Для изучения его под микроскопом в проходящем свете (изготовление срезов на микротоме).
3. Быть контрастным, то есть изучаемые структуры должны под микроскопом четко определяться (при окрашивании);
4. Препараты для световой микроскопии должны долго сохраняться и использоваться для повторного изучения (заключение в бальзам).

**Оценка качества окрашивания:**

1. Окраска срезов должна быть равномерной с четким дифференцированием различных структур;
2. Срезы должны быть хорошо просветлены;
3. Не допустимо загрязнение срезов инородными частицами, кристаллами красителя, а также попадание пузырьков воздуха под покровное стекло;
4. Из одного объекта изготавливают 1 - 2 среза для одной методики окраски; при необходимости число срезов может быть большим, вплоть до серии последовательных срезов;

#### **4. Архивировать оставшийся от исследования материал**

Оставшийся после исследования материал подготовить для архивного хранения:

- Снять скальпелем материал с блока, завернуть в марлевую салфетку и индивидуальный пакет и присвоить номер исследования, указать дату.
- Поместить в выбранную тару парафиновый блок
- К таре прикрепить бирку с датой и номером исследования
- Поместить на специальный промаркированный стеллаж

#### **5. Оформлять учетно-отчетную документацию**

- Зарегистрировать поступивший биоматериал в журнале регистрации

Регистрация поступившего биологического материала в журнале (форма №185/у, №186/у, № 014-2/у)

7. Подготовить журнал (форма №185/у или № 186/у)
8. Проверить целостность упаковки, в которой находится биологический материал:
  - целостность бечевки, которой завязан материал;

- наличие (целостность) пломбы
9. Взять направление на исследование и сверить данные в направлении с доставленным материалом
  10. Зарегистрировать в журнале форма № 186/у «Журнал исследования трупной крови в лаборатории», указать данные:
    - присвоить порядковый номер;
    - Ф.И.О., возраст трупа, от которого взят материал;
    - фамилия эксперта, направившего материал;
    - № акта вскрытия;
    - дата вскрытия;
    - дата поступления материала в отделение;
    - упаковка, в которой поступил материал;
  11. Зарегистрировать в журнале форма № 185/у «Журнал регистрации мазков и тампонов», указать данные:
    - присвоить порядковый номер
    - фамилия эксперта, направившего мазок, тампон;
    - № и дата направления
    - дата поступления
    - в каком виде поступил мазок, тампон
    - принадлежность мазка, тампона
    - возраст
  12. Зарегистрировать в журнале форма № 014-2/у «Журнал регистрации поступления биопсийного (операционного) материала и выдачи результатов прижизненных патолого-анатомических исследований» указать данные:
    - присвоить порядковый номер
    - наименование направившей МО (структурное подразделение)
    - дата и время поступления (число, месяц, год, ч, мин) материала
    - Ф.И.О. пациента
    - дата рождения
    - порядковый номер флакона
    - количество объектов
    - Ф.И.О. врача-патологоанатома
    - дата выдачи
    - расписка в получении
- Заполнение направления на судебно-гистологическое (судебно-химическое) исследование**

**Заполнение направления на судебно-гистологическое исследование объекта (форма № 180/у или № 179/у)»**

4. Подготовить журнал (форма №180/у или № 179/у)
5. Заполнить соответствующие графы направления:
  - подразделение, куда направляется объект
  - Ф.И.О. возраст (год рождения) и пол умершего
  - дата смерти
  - номер и дата акта судебно-медицинской экспертизы трупа
  - общее количество и перечень объектов, направленных на исследование
  - опечатывание объекта и формы опечатывания
  - краткие обстоятельства дела
  - основные данные исследования трупа и установленный судебно-медицинский диагноз
  - вопросы, подлежащие разрешению экспертом
  - дата заполнения направления

- фамилия, инициалы и подпись судмедэксперта, направившего материала на исследование

6. Сделать надпись на направлении «Биологическая опасность» при направлении объектов от инфицированных трупов (туберкулез, гепатит, ВИЧ и др.)

7. Проводить утилизацию отработанного материала, дезинфекцию и стерилизацию использованной лабораторной посуды, инструментария, средств защиты

Утилизация отработанного материала, дезинфекция и стерилизация лабораторной посуды, инструментария, средств защиты

1) **Приготовление дезинфицирующего раствора** (см. инструкцию, прилагаемую к используемому в лаборатории дезинфицирующему средству)

2) **Сбор и утилизация отходов (отработанного материала)** (см. СанПиН 3.3684-21 "Санитарно-эпидемиологические требования к содержанию территорий городских и сельских поселений, к водным объектам, питьевой воде и питьевому водоснабжению, атмосферному воздуху, почвам, жилым помещениям, эксплуатации производственных, общественных помещений, организации и проведению санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий".)

3) **Дезинфекция лабораторной посуды, инструментария, средств защиты** проводится в соответствии с инструкцией, прилагаемой к используемому дезинфицирующему средству (концентрация дез.раствора, экспозиция)

4) **Предстерилизационная очистка** лабораторной посуды и инструментария проводится путем механического удаления загрязнения. Контроль ПСО на наличие остатков дез.раствора.

5) **Стерилизация лабораторной посуды и инструментария:**

- стерилизация сухим жаром 180<sup>0</sup>С - 60 минут
- автоклавирование при давлении 1,5 атм. в течение 60 минут, для уничтожения споровой микрофлоры – 90 минут при 2 атм.

#### **Типовые задания:**

##### **Симуляционное задание.**

- Проведите этап гистологического окрашивания - окрашивание препарата гематоксилин - эозином
- Проведите этап гистологического окрашивания - отмывка (просветление)
- Ошибки в протоколе гистологического окрашивания (назовите, прокомментируйте их).

#### **Проблемно-ситуационная задача.**

Вам нужно провести двойную окраску гематоксилином - эозином препарат, эта методика является наиболее распространенным методом окрашивания ядер и фона - цитоплазмы и различных неклеточных структур.

##### **Задания для студента:**

1. Проведите перенос среза из воды в раствор красителя
2. Проведите окраску препарата
3. Проведите перенос среза из гематоксилина в дистиллированную воду
4. Проведите промывку в воде с небольшим количеством щелочи
5. Осуществите окрашенные гематоксилином и промытые водопроводной водой срезы переносят в дистиллированную воду на 3 - 5 минут.
6. Проведите перенос среза из раствора эозина на 1 минуту в дистиллированную воду
7. Результат окраски

**Образец выполнения проблемно-ситуационного задания:**

1. Срезы из воды переносят в раствор красителя. Вполне созревший раствор красителя обычно дает хорошие результаты через 2-3 минуты, однако продолжительность окраски зависит не только от самого красителя, но и от объекта, и может составлять до 15-20 мин.
2. Начиная окраску, нужно на первых 2-3 срезах определить время окраски и затем уже, строго придерживаясь установленного срока, красить все остальные срезы данного блока. Нужно только помнить, что во всех случаях, если краска зрелая, для получения хорошего окрашивания ядер требуется не более 5-6 минут.
3. Срез из гематоксилина переносят в дистиллированную воду и на предметном стекле контролируют при слабом увеличении микроскопа (а если необходимо, то и при сильном, накрыв срез предварительно покровным стеклом). Если окраска была удачной, ядра клеток имеют интенсивный красновато-фиолетовый цвет, в них отчетливо видны ядрышко и глыбки хроматина (при обычных, приведенных выше методах фиксации), цитоплазма клеток не окрашена. Если ядра имеют слабый фиолетовый цвет и в них не удается отчетливо видеть какие-либо структуры, следует увеличить время окраски. Когда ядра настолько сильно закрашены, что выглядят почти черными (красноватый оттенок сохраняется), внутриядерные структуры видны нечетко, а цитоплазма клеток имеет красновато-фиолетовую окраску, нужно уменьшить время окраски.
4. Далее следует промывка в воде с небольшим количеством щелочи. В такой подщелочной воде срезы синеют через 20-30 секунд. Практически промывают срез в течение 10-15 минут (до его посинения) в водопроводной воде, которая всегда содержит следы щелочноземельных металлов и потому является слабо щелочной средой.
5. Окрашенные гематоксилином и промытые водопроводной водой срезы переносят в дистиллированную воду на 3 - 5 минут. Для окраски цитоплазмы клеток срезы переносят на 0,5-2 минуты в раствор эозина. Продолжительность обработки здесь также зависит от самого объекта, фиксации и т. д., поэтому следует в каждом отдельном случае определить продолжительность окраски на нескольких срезах. При удачной окраске срез имеет равномерный желтовато-розовый цвет (само название этой краски происходит от греческого слова эос - заря), на фоне которого отчетливо выделяются окрашенные в синий цвет ядра. Если препарат имеет бледный розоватый или 38 желтоватый оттенок, нужно увеличить время окраски.
6. Из раствора эозина срезы переносят на 1 минуту в дистиллированную воду (для несколько перекрашенных срезов время промывки можно увеличить до получения желаемого тона) и, обезвожив в спиртах, заключают через карбол - ксилол в канадский бальзам. Следует иметь в виду, что в спиртах окраска срезов эозином несколько ослабляется, поэтому проводить срезы до карбол - ксилола следует быстро.
7. Окраска гематоксилином - эозином является наиболее распространенным методом окрашивания ядер и фона - цитоплазмы и различных неклеточных структур

#### **Ведение учетной медицинской документации:**

1. Регистрация поступившего биологического материала в журнале (форма №185/у, №186/у, № 014-2/у)
2. Заполнение направления на судебно-гистологическое исследование объекта (форма № 180/у или № 179/у)»

#### **Вопросы для закрепления теоретического материала:**

1. Назовите физико-химические процессы, лежащие в основе окрашивания тканей?
2. Перечислите группы красителей. Назовите основные красители и структуры, которые они окрашивают?

3. Укажите кислые красители и структуры, которые они окрашивают?
4. Назовите нейтральные красители и окрашиваемые ими структуры?
5. Охарактеризуйте типы, методы и способы гистологического окрашивания?

**Отчетность:** конспектирование алгоритмов, выполнение практических заданий.

**Требования к оформлению отчета по практической работе:**

Отчет по практической работе выполняется письменно как домашнее задание в свободной форме. В работе студент должен отразить весь объем полученной информации и сделать заключение на основе выводов.

**Оценка практической работы:**

Оцениваются правильность и последовательность действий после усвоения каждого этапа занятия, и подводится средний итоговый балл

**Критерии оценки практического занятия:** Оцениваются правильность и последовательность действий после усвоения каждого этапа занятия, и подводится средний итоговый балл. (Приложение 1).

**МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ К ПРАКТИЧЕСКОМУ ЗАНЯТИЮ № 27**  
**Проведение окраски цитологических мазков специальными методами.**  
**Полихромная окраска по М.Г. Арсеньевой**  
**Окрашивание цитологических препаратов экспресс – методами**

**Цель:** формирование умений окрашивать цитологические мазки полихромной окраской по методу М.Г. Арсеньевой; проведение окраски цитологических препаратов экспресс - методами

**Тип занятия:** практическая работа

Планируемые результаты	Уметь	Знать
	<ul style="list-style-type: none"> <li>- подготовить рабочее место для проведения окрашивания цитологических мазков и изготовления цитологических препаратов</li> <li>- осуществлять фиксацию, окраску препаратов для морфологического исследования из биоматериала различного вида</li> <li>- проводить окраску цитологических мазков по методу М.Г. Арсеньевой</li> <li>- проводить окраску цитологических препаратов экспресс-методами</li> <li>- осуществлять микроскопическое исследование изготовленных цитологических мазков</li> <li>- оформлять учетно-отчетную документацию</li> <li>- архивировать оставшийся после исследования материал</li> <li>- утилизировать отработанный материал, дезинфицировать приборы, посуду, инструментарий, средства защиты</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- задачи, структуру, оборудование, правила работы и техники безопасности в патогистологической лаборатории;</li> <li>- правила взятия, обработки и архивирования материала для гистологического и гистохимического исследований;</li> <li>- морфофункциональную характеристику тканей и органов человека.</li> </ul>

**Ход практического занятия:**

1. Подготовка рабочего места, проверка наличия, требуемого материально – технического оснащения.
2. Совместная постановка цели занятия и планируемых результатов освоения темы.
3. Проверка домашнего задания: теоретический разбор материала по теме.
4. Формирование умений готовить рабочее место для проведения окраски цитологических мазков по методу М.Г. Арсеньевой и экспресс-методом, приготовить фиксирующий раствор (смесь Никифорова) и рабочие растворы красителей, провести полихромную окраску мазков по методу М.Г. Арсеньевой и экспресс-методом; оценить качество окрашивания, регистрировать результаты исследования, проводить утилизацию отработанного материала, дезинфекцию и стерилизацию использованной лабораторной посуды, инструментария, средств защиты
5. Контроль освоенных умений: демонстрация практических умений преподавателю на оценку.
6. Подведение итога занятия. Тестирование
7. Домашнее задание

### **Оснащение занятия:**

Материально-техническое оснащение: автоклав, микроскоп, термостат электрический, бактерицидная лампа, бикс медицинский, планшет, дозатор, шпатель бактериологический, петля бактериологическая, лабораторная посуда.

Учебно-методическое оснащение: презентация, методические рекомендации к практическому занятию, симуляционное оборудование.

Программное обеспечение: Microsoft Office Word

Учебно-методическая литература: основная, дополнительная литература, Интернет-ресурсы

### **Краткие теоретические и учебно-методические материалы по теме практической работы**

#### **1. Готовить материал, реактивы, лабораторную посуду и аппаратуру для гистологического исследования**

##### **Подготовка материала, реактивов, лабораторной посуды и аппаратуры для гистологического исследования**

##### **1. Подготовка материала для гистологического исследования:**

- Проверить целостность упаковки, в которой находится биологический материал:
  - целостность бечевки, которой завязан материал;
  - наличие (целостность) пломбы
- Сверить данные в направлении с доставленным материалом
- Зарегистрировать в журнале доставленный материал

##### **2. Подготовка реактивов и лабораторной посуды для гистологической обработки тканей и органов:**

- Подготовить мерные колбы и цилиндры для приготовления рабочих растворов реактивов
- Подготовить емкость (бутыль с завинчивающейся крышкой) для хранения готового раствора формалина
- Подготовить широкогорлые емкости объемом не менее 0,5 литра для проведения проводки материала по батарее спиртов восходящей концентрации
- Подготовить рабочий раствор формалина для фиксации кусочков органов и тканей
- Визуально проверить качество спиртов для проводки (на предмет отсутствия мути и изменения цвета. При помутнении растворов спиртов заменить их на свежеприготовленный раствор спирта соответствующей концентрации)
- Проверить качество растворов красителей (гематоксилина и эозина). При изменении цвета или выпадении осадка, заменить на свежий раствор соответствующего красителя

##### **3. Подготовка аппаратуры для проведения гистологического исследования:**

- Включить термостат и выставить температуру 56-58<sup>0</sup>С для расплавления парафина (при температуре, ниже указанной парафин не расплавится, при более высокой температуре - закипит)
- Подготовить санный микротом к приготовлению срезов: почистить от остатков парафина (при их наличии), заточить или править микротомный нож
- Подготовить микроскоп для микроскопического исследования гистопрепаратов

##### **Так же подготовить:**

7. Подготовить гистологические срезы к окрашиванию
8. Подготовить необходимые реактивы и красители:



- раствор гематоксилина и эозина
- карбол - ксилол для просветления срезов
- канадский бальзам

9. Подготовить аппаратуру для оценки качества гистопрепаратов:

- микроскоп
- термостол
- санный микротом
- микроскоп

**Проводить гистологическую обработку тканей и готовить микропрепараты для исследований**

**Проведение гистологической обработки тканей и приготовление микропрепаратов для исследований**

1. Иссечение кусочков органов размером не более 1 см:
  - паренхиматозные органы иссекают следующим образом:
    - при наличии капсулы органа, чтобы попала и капсула, и сам орган
    - если орган имеет в своем строении корковое и мозговое вещество, то иссекают так, чтобы в кусочек попало и корковое и мозговое вещество
    - при наличии видимых изменений в структуре органа, иссекают здоровую часть на границе с измененной
  - полые мышечные органы и кожу иссекают таким образом, чтобы попали все слои органа
  - материал, имеющий размеры менее 1 см, дополнительного иссечения не требует.
2. Фиксация кусочков в растворе формалина 24 часа.
3. Промывка материала под проточной водой (1-2 суток)
4. Проводка материала по батарее спиртов восходящей концентрации (обезвоживание).
5. Пропитывание и заливка материала в застывающие среды (уплотнение материала)
6. Подготовка предметных стекол (обработка адгезивной жидкостью- смесью яичного белка с глицерином)
7. Изготовление среза на микротоме и наклеивание среза на предметное стекло
8. Депарафинизация срезов
9. Окрашивание среза для обзорного метода исследования (окраска гематоксилином и эозином)
10. Заключение среза в оптически прозрачную среду

**Алгоритм окраски среза гематоксилином и эозином и заключение в бальзам**

*I. Депарафинирование срезов*

1. Ксилол 1 (5-10 мин)
2. Ксилол 2 (5-10 мин)
3. Ксилол 3 (5-10 мин)
4. Спирт 1 (30 секунд)
5. Спирт 2 (30 секунд)
6. Вода (30 секунд)

*II. Окрашивание срезов*

1. Раствор гематоксилина (5-10 минут)
2. Ополоснуть водой (30 секунд)
3. Эозин (5 минут)
4. Вода (30 секунд)
5. Спирт (30 секунд)
6. Карбол- ксилол (30 секунд)
7. Ксилол (30 секунд)

*III. Заключение в бальзам*

1. Нанести на срез 2-3 капли канадского бальзама
2. С помощью препаровальной иглы накрыть покровным стеклом, избегая воздушных пузырей
3. Излишки бальзама с краев стекла аккуратно удалить с помощью салфетки
4. Оставить препарат для высыхания

### **Полихромная окраска по М.Г. Арсеньевой**

Полихромный метод окраски дифференцировать клетки на эозинофильные (красные) и базофильные (синие), и монохромные методы (окраска гематоксилином и эозином или гематоксилином и фуксином). Фиксация препарата производилась в метиловом спирте (15 минут). Окрашивание препаратов производилось гематоксилином-эозином. Фиксированные мазки окрашивались водным раствором гематоксилина до получения бледно-фиолетового окрашивания (7 – 10 минут). После промывания проточной водой мазки вновь окрашивались 1%-ным водным раствором эозина в течение 0,5 мин, промывались проточной водой и высушивались. При полихромном методе поверхностные клетки окрашиваются в красный или сине-зеленый цвет, промежуточные и парабазальные – в сине-зеленый, базальные – в темно-синий.

### **Экспресс – методы окраски цитологических препаратов.**

Окраски по Алексеву. Ответ дается уже через 5–10 минут. Метод Алексева предусматривает ускоренную обработку цитологических препаратов азурэозиновыми смесями по принципу Романовского с целью получения привычной цитологической картины. Методика приготовления препаратов.

Обработка препаратов может производиться двумя способами:

1. Предметные стекла с высохшими на воздухе препаратами в количестве 3–5 штук, укладывают на полочку для окраски отпечатками или мазками кверху. Глазной пипеткой на каждый препарат наносят раствор краски Романовского-Гимзы в количестве 5–8 капель. Краска должна покрыть весь мазок или отпечаток. В таком состоянии препарат оставляют на 60 секунд, в течение которых он фиксируется метанолом, входящим в состав краски, и частично окрашиваются его элементы. Затем к краске на предметных стеклах добавляют 10–16 капель нейтральной дистиллированной воды, нагретой до 50–60° и покачиванием смешивают краску с водой. Препарат оставляют на 1–2 минуты. Затем струей нейтральной дистиллированной воды из колбы-промывалки, не сливая, омывают краску с препарата. Остаток воды сливают и препарат просушивают фильтровальной бумагой. Окрашенный препарат просматривают под микроскопом сначала с малым увеличением, а при нахождении подозрительных мест переходят на иммерсионный объектив. Остальные мазки оставляют залитыми краской на 3–5 минут на тот случай, если первый препарат окажется бледно окрашенным. Первым обычно красится самый тонкий из препаратов, так как он быстрее пропитывается и сушится.
2. Окраска по этому методу тканевых и опухолевых клеток и лейкоцитов почти не отличается от окраски их в препаратах, обрабатываемых обычными цитологическими методами. При этом четко выделяется структура ядер, хорошо видны нуклеолы, зернистость и включения протоплазмы. Эритроциты частично гемолизируются, что облегчает исследование.
2. Приготавливают 0,4% раствор сухой краски Лейшмана в метаноле (метиловый спирт). Для ускорения растворения краски ее можно в закрытом флаконе поместить в водяную баню при 60° на 1 час, помешивая. При охлаждении краску следует профильтровать. Раствор стоек. Препараты укладывают на полочку для окраски, покрывают нетолстым слоем раствора краски Лейшмана (12–15 капель на каждый препарат) и оставляют их на 20–30 секунд. Затем, не сливая краски Лейшмана со стекла, добавляют к ней раствор краски Романовского-Гимзы на нейтральной дистиллированной воде (1,6 капли на 1 мл воды), нагретый до 50–60°, в количестве, способном удержаться на стекле. Первый препарат смывают через 2–3 минуты, остальные – докрашивают. Препарат высушивают фильтровальной бумагой и исследуют под

микроскопом. Микроскопическая картина при этом способе окраски более яркая, чем при первом. Эритроциты сохраняются. Особенно четко выступают темные нуклеолы на нежно окрашенных ядрах. Дистиллированная вода для разведения краски и смывания ее с препаратов должна иметь рН 6,8–7,0.

## **2. Оценивать качество приготовленных гистологических препаратов**

- интенсивность
  - окраски цитоплазмы
  - интенсивность окраски ядер
  - окраска межклеточного вещества тканей

### **Оценка качества окрашивания:**

1. Окраска срезов должна быть равномерной с четким дифференцированием различных структур;
2. Срезы должны быть хорошо просветлены;
3. Не допустимо загрязнение срезов инородными частицами, кристаллами красителя, а также попадание пузырьков воздуха под покровное стекло;
4. Из одного объекта изготавливают 1 - 2 среза для одной методики окраски; при необходимости число срезов может быть большим, вплоть до серии последовательных срезов;

## **3. Архивировать оставшийся от исследования материал**

Оставшийся после исследования материал подготовить для архивного хранения:

- Снять скальпелем материал с блока, завернуть в марлевую салфетку и индивидуальный пакет и присвоить номер исследования, указать дату.
- Поместить в выбранную тару парафиновый блок
- К таре прикрепить бирку с датой и номером исследования
- Поместить на специальный промаркированный стеллаж

## **4. Оформлять учетно-отчетную документацию**

- Зарегистрировать поступивший биоматериал в журнале регистрации

**Регистрация поступившего биологического материала в журнале (форма №185/у, №186/у, № 014-2/у)**

1. Подготовить журнал (форма №185/у или № 186/у)
2. Проверить целостность упаковки, в которой находится биологический материал:
  - целостность бечевки, которой завязан материал;
  - наличие (целостность) пломбы
3. Взять направление на исследование и сверить данные в направлении с доставленным материалом
4. Зарегистрировать в журнале форма № 186/у «Журнал исследования трупной крови в лаборатории», указать данные:
  - присвоить порядковый номер;
  - Ф.И.О., возраст трупа, от которого взят материал;
  - фамилия эксперта, направившего материал;
  - № акта вскрытия;
  - дата вскрытия;
  - дата поступления материала в отделение;
  - упаковка, в которой поступил материал;
5. Зарегистрировать в журнале форма № 185/у «Журнал регистрации мазков и тампонов», указать данные:
  - присвоить порядковый номер

- фамилия эксперта, направившего мазок, тампон;
- № и дата направления
- дата поступления
- в каком виде поступил мазок, тампон
- принадлежность мазка, тампона
- возраст

6. Зарегистрировать в журнале форма № 014-2/у «Журнал регистрации поступления биопсийного (операционного) материала и выдачи результатов прижизненных патолого-анатомических исследований» указать данные:

- присвоить порядковый номер
- наименование направившей МО (структурное подразделение)
- дата и время поступления (число, месяц, год, ч, мин) материала
- Ф.И.О. пациента
- дата рождения
- порядковый номер флакона
- количество объектов
- Ф.И.О. врача-патологоанатома
- дата выдачи
- расписка в получении

- **Заполнение направления на судебно-гистологическое (судебно-химическое) исследование**

**Заполнение направления на судебно-гистологическое исследование объекта (форма № 180/у или № 179/у)»**

1. Подготовить журнал (форма №180/у или № 179/у)
2. Заполнить соответствующие графы направления:
  - подразделение, куда направляется объект
  - Ф.И.О. возраст (год рождения) и пол умершего
  - дата смерти
  - номер и дата акта судебно-медицинской экспертизы трупа
  - общее количество и перечень объектов, направленных на исследование
  - опечатывание объекта и формы опечатывания
  - краткие обстоятельства дела
  - основные данные исследования трупа и установленный судебно-медицинский диагноз
  - вопросы, подлежащие разрешению экспертом
  - дата заполнения, направления
  - фамилия, инициалы и подпись судмедэксперта, направившего материала на исследование
3. Сделать надпись на направлении «Биологическая опасность» при направлении объектов от инфицированных трупов (туберкулез, гепатит, ВИЧ и др.)

**5. Проводить утилизацию отработанного материала, дезинфекцию и стерилизацию использованной лабораторной посуды, инструментария, средств защиты**

**Утилизация отработанного материала, дезинфекция и стерилизация лабораторной посуды, инструментария, средств защиты**

1) *Приготовление дезинфицирующего раствора* (см. инструкцию, прилагаемую к используемому в лаборатории дезинфицирующему средству)

2) *Сбор и утилизация отходов (отработанного материала)* (см. СанПиН 3.3684-21"

"Санитарно-эпидемиологические требования к содержанию территорий городских и сельских поселений, к водным объектам, питьевой воде и питьевому водоснабжению, атмосферному воздуху, почвам, жилым помещениям, эксплуатации производственных,

общественных помещений, организации и проведению санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий".)

3) **Дезинфекция лабораторной посуды, инструментария, средств защиты** проводится в соответствии с инструкцией, прилагаемой к используемому дезинфицирующему средству (концентрация дез.раствора, экспозиция)

4) **Предстерилизационная очистка** лабораторной посуды и инструментария проводится путем механического удаления загрязнения. Контроль ПСО на наличие остатков дез.раствора.

5) **Стерилизация лабораторной посуды и инструментария:**

- стерилизация сухим жаром 180<sup>0</sup>С - 60 минут
- автоклавирование при давлении 1,5 атм. в течение 60 минут, для уничтожения споровой микрофлоры – 90 минут при 2 атм.

#### **Типовые задания:**

##### **Симуляционное задание.**

- Провести световую микроскопию (изучение гистологического препарата)
- Повторить использование системы контроля за реагентами, применяемой в современных гистологических процессорах.
- Ошибки в протоколе гистологического окрашивания (назовите, прокомментируйте их)

#### **Проблемно-ситуационная задача.**

Препарат мазка красного костного мозга. В поле зрения видна клетка с ядром, состоящим из многих сегментов, мелкая зернистость окрашивается как основными, так и кислыми красителями,

##### **Задания для студента:**

1. Проведите осмотр препарата мазка красного костного мозга
2. Провести контроль качества гистологического микропрепарата
3. Назовите эту клетку

##### **Образец выполнения проблемно-ситуационного задания:**

1. Осмотр препарата мазка красного костного мозга. В поле зрения видна клетка с ядром, состоящим из многих сегментов.
2. Провести контроль качества гистологического микропрепарата:  
Препарат достаточно тонкий и прозрачный, клетки расположены в один слой; контрастный, четко определяются изучаемые структуры (ядра и цитоплазма клеток, межклеточное вещество, границы оболочек органа); препарат заключен в бальзам, потому может длительно храниться и использоваться повторно.
3. Назовите эту клетку - мегакариоцит.

#### **Ведение учетной медицинской документации:**

3. Регистрация поступившего биологического материала в журнале (форма №185/у, №186/у, № 014-2/у)
4. Заполнение направления на судебно-гистологическое исследование объекта (форма № 180/у или № 179/у)»

#### **Вопросы для закрепления теоретического материала:**

1. Перечислите красители полихромной окраски по методу М.Г. Арсеньевой.
2. Поясните результаты окрашивания по методу М.Г. Арсеньевой
3. Назовите растворитель для приготовления красок-фиксаторов Лейшмана, Май-Грюнвальда, Романовского из сухих красок.

4. Поясните методики окрашивания цитологических мазков экспресс-методами по Н.Г. Алексееву.
5. Назовите цели использования специальных методов окраски цитологических препаратов.

**Отчетность:** конспектирование алгоритмов, выполнение практических заданий.

**Требования к оформлению отчета по практической работе:**

Отчет по практической работе выполняется письменно как домашнее задание в свободной форме. В работе студент должен отразить весь объем полученной информации и сделать заключение на основе выводов.

**Оценка практической работы:**

Оцениваются правильность и последовательность действий после усвоения каждого этапа занятия, и подводится средний итоговый балл

**Критерии оценки практического занятия:** Оцениваются правильность и последовательность действий после усвоения каждого этапа занятия, и подводится средний итоговый балл. (Приложение 1).

**МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ К ПРАКТИЧЕСКОМУ ЗАНЯТИЮ № 28**  
**Проведение лабораторных морфологических исследований**

<b>Цель:</b> формирование и закрепление умений проводить лабораторные морфологические исследования		
<b>Тип занятия:</b> практическая работа		
<b>Планируемые результаты</b>	<b>Уметь</b>	<b>Знать</b>
	<ul style="list-style-type: none"> <li>- готовить материал, реактивы, лабораторную посуду и аппаратуру для проведения исследований цитологических мазков</li> <li>- проводить обработку биологического материала для морфологического исследования и изготовления препаратов: приготовление цитологических мазков, фиксация мазков, окрашивание препаратов с соблюдением техники безопасности при работе с химическими реактивами и биоматериалом</li> <li>- оценивать качество приготовленных цитологических препаратов</li> <li>- проводить морфологическое исследование для определения морфологических особенностей нормальных и патологических изменений клеток эпителия различных органов</li> <li>- оформлять учетно-отчетную документацию</li> <li>- архивировать оставшийся от исследования материал</li> <li>- утилизация отработанного материала, дезинфекцию и стерилизацию использованной лабораторной посуды, инструментария, средств защиты</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- задачи, структуру, оборудование, правила работы и техники безопасности в патогистологической лаборатории;</li> <li>- правила взятия, обработки и архивирования материала для гистологического и гистохимического исследований;</li> <li>- морфофункциональную характеристику тканей и органов человека.</li> </ul>

**Ход практического занятия:**

1. Подготовка рабочего места, проверка наличия, требуемого материально – технического оснащения.
2. Совместная постановка цели занятия и планируемых результатов освоения темы.
3. Проверка домашнего задания: теоретический разбор материала по теме.
4. Формирование умений подготовить рабочее место для проведения цитологического исследования, проводить цитологическое исследование мазков, выявлять в мазках нормальный клеточный состав, признаки, характерные для воспалительных и опухолевых процессов при микроскопии; приготовить простые и сложные фиксаторы; подготовить предметные стекла, приготовить цитологические мазки из разных видов биоматериала и зафиксировать их; провести утилизацию отработанного материала, дезинфекцию рабочего места, посуды, инструментария и средств защиты; соблюдать правил техники безопасности при работе с биоматериалом и химическими реактивами; приготовить рабочие растворы красителей, проводить окраску цитологических мазков гематоксилином-эозином, азур-эозиновыми смесями и экспресс-методами, оценивать качество окрашивания, подготовить оставшийся от исследования материал к хранению.

5. Контроль освоенных умений: демонстрация практических умений преподавателю на оценку.

**Оснащение занятия:**

Материально-техническое оснащение: автоклав, микроскоп, термостат электрический, бактерицидная лампа, бикс медицинский, планшет, дозатор, шпатель бактериологический, петля бактериологическая, лабораторная посуда.

Учебно-методическое оснащение: презентация, методические рекомендации к практическому занятию, симуляционное оборудование.

Программное обеспечение: Microsoft Office Word

**Учебно-методическая литература:** основная, дополнительная литература, Интернет-ресурсы

**Краткие теоретические и учебно-методические материалы по теме практической работы**

1. Готовить материал, реактивы, лабораторную посуду и аппаратуру для гистологического исследования

**Подготовка материала, реактивов, лабораторной посуды и аппаратуры для гистологического исследования**

1. Подготовка материала для гистологического исследования:

- Проверить целостность упаковки, в которой находится биологический материал:
  - целостность бечевки, которой завязан материал;
  - наличие (целостность) пломбы
- Сверить данные в направлении с доставленным материалом
- Зарегистрировать в журнале доставленный материал

2. Подготовка реактивов и лабораторной посуды для гистологической обработки тканей и органов:

- Подготовить мерные колбы и цилиндры для приготовления рабочих растворов реактивов
- Подготовить емкость (бутыль с завинчивающейся крышкой) для хранения готового раствора формалина
- Подготовить широкогорлые емкости объемом не менее 0,5литра для проведения проводки материала по батарее спиртов восходящей концентрации
- Подготовить рабочий раствор формалина для фиксации кусочков органов и тканей
- Визуально проверить качество спиртов для проводки (на предмет отсутствия мути и изменения цвета. При помутнении растворов спиртов заменить их на свежеприготовленный раствор спирта соответствующей концентрации)
- Проверить качество растворов красителей (гематоксилина и эозина). При изменении цвета или выпадении осадка, заменить на свежий раствор соответствующего красителя

3. Подготовка аппаратуры для проведения гистологического исследования:

- Включить термостат и выставить температуру 56-58<sup>0</sup>С для расплавления парафина (при температуре, ниже указанной парафин не расплавится, при более высокой температуре - закипит)
- Подготовить санный микротом к приготовлению срезов: почистить от остатков парафина (при их наличии), заточить или править микротомный нож
- Подготовить микроскоп для микроскопического исследования гистопрепаратов

**Так же подготовить:**



10. Подготовить гистологические срезы к окрашиванию

11. Подготовить необходимые реактивы и красители:

- раствор гематоксилина и эозина
- карбол - ксилол для просветления срезов
- канадский бальзам

12. Подготовить аппаратуру для оценки качества гистопрепаратов:

- микроскоп
- термостол
- санный микротом
- микроскоп

## 2. Проводить гистологическую обработку тканей и готовить микропрепараты для исследований

### Проведение гистологической обработки тканей и приготовление микропрепаратов для исследований

1. Иссечение кусочков органов размером не более 1 см:

- паренхиматозные органы иссекают следующим образом:

- при наличии капсулы органа, чтобы попала и капсула, и сам орган
- если орган имеет в своем строении корковое и мозговое вещество, то иссекают так, чтобы в кусочек попало и корковое и мозговое вещество
- при наличии видимых изменений в структуре органа, иссекают здоровую часть на границе с измененной

- полые мышечные органы и кожу иссекают таким образом, чтобы попали все слои органа

- материал, имеющий размеры менее 1 см, дополнительного иссечения не требует.

2. Фиксация кусочков в растворе формалина 24 часа.

3. Промывка материала под проточной водой (1-2 суток)

4. Проводка материала по батарее спиртов восходящей концентрации (обезвоживание).

5. Пропитывание и заливка материала в застывающие среды (уплотнение материала)

6. Подготовка предметных стекол (обработка адгезивной жидкостью- смесью яичного белка с глицерином)

7. Изготовление среза на микротоме и наклеивание среза на предметное стекло

8. Депарафинизация срезов

9. Окрашивание среза для обзорного метода исследования (окраска гематоксилином и эозином)

10. Заключение среза в оптически прозрачную среду

### Алгоритм окраски среза гематоксилином и эозином и заключение в бальзам

#### I. Депарафинирование срезов

1. Ксилол 1 (5-10 мин)

2. Ксилол 2 (5-10 мин)

3. Ксилол 3 (5-10 мин)

4. Спирт 1 (30 секунд)

5. Спирт 2 (30 секунд)

6. Вода (30 секунд)

#### II. Окрашивание срезов

1. Раствор гематоксилина (5-10 минут)

2. Ополоснуть водой (30 секунд)

3. Эозин (5 минут)

4. Вода (30 секунд)

5. Спирт (30 секунд)

6. Карбол- ксилол (30 секунд)

7. Ксилол (30 секунд)

### III. Заключение в бальзам

1. Нанести на срез 2-3 капли канадского бальзама
2. С помощью препаровальной иглы накрыть покровным стеклом, избегая воздушных пузырей
3. Излишки бальзама с краев стекла аккуратно удалить с помощью салфетки
4. Оставить препарат для высыхания

### 3. Оценивать качество приготовленных гистологических препаратов (см. Приложение 3):

- интенсивность окраски цитоплазмы
- интенсивность окраски ядер
- окраска межклеточного вещества тканей

### Микроскопия окрашенных парафиновых срезов с целью контроля качества окраски.

Гистологический препарат любой формы должен отвечать следующим требованиям:

1. Сохранять прижизненное состояние структур (при фиксации материала);
2. Быть достаточно тонким и прозрачным. Для изучения его под микроскопом в проходящем свете (изготовление срезов на микротоме).
3. Быть контрастным, то есть изучаемые структуры должны под микроскопом четко определяться (при окрашивании);
4. Препараты для световой микроскопии должны долго сохраняться и использоваться для повторного изучения (заключение в бальзам).

### Оценка качества окрашивания:

1. Окраска срезов должна быть равномерной с четким дифференцированием различных структур;
2. Срезы должны быть хорошо просветлены;
3. Не допустимо загрязнение срезов инородными частицами, кристаллами красителя, а также попадание пузырьков воздуха под покровное стекло;
4. Из одного объекта изготавливают 1 - 2 среза для одной методики окраски; при необходимости число срезов может быть большим, вплоть до серии последовательных срезов;

### 4. Архивировать оставшийся от исследования материал

Оставшийся после исследования материал подготовить для архивного хранения:

- Снять скальпелем материал с блока, завернуть в марлевую салфетку и индивидуальный пакет и присвоить номер исследования, указать дату.
- Поместить в выбранную тару парафиновый блок
- К таре прикрепить бирку с датой и номером исследования
- Поместить на специальный промаркированный стеллаж

### 5. Оформлять учетно-отчетную документацию

- Зарегистрировать поступивший биоматериал в журнале регистрации

Регистрация поступившего биологического материала в журнале (форма №185/у, №186/у, № 014-2/у)

1. Подготовить журнал (форма №185/у или № 186/у)
2. Проверить целостность упаковки, в которой находится биологический материал:
  - целостность бечевки, которой завязан материал;
  - наличие (целостность) пломбы
3. Взять направление на исследование и сверить данные в направлении с доставленным материалом

4. Зарегистрировать в журнале форма № 186/у «Журнал исследования трупной крови в лаборатории», указать данные:
  - присвоить порядковый номер;
  - Ф.И.О., возраст трупа, от которого взят материал;
  - фамилия эксперта, направившего материал;
  - № акта вскрытия;
  - дата вскрытия;
  - дата поступления материала в отделение;
  - упаковка, в которой поступил материал;
5. Зарегистрировать в журнале форма № 185/у «Журнал регистрации мазков и тампонов», указать данные:
  - присвоить порядковый номер
  - фамилия эксперта, направившего мазок, тампон;
  - № и дата направления
  - дата поступления
  - в каком виде поступил мазок, тампон
  - принадлежность мазка, тампона
  - возраст
6. Зарегистрировать в журнале форма № 014-2/у «Журнал регистрации поступления биопсийного (операционного) материала и выдачи результатов прижизненных патолого-анатомических исследований» указать данные:
  - присвоить порядковый номер
  - наименование направившей МО (структурное подразделение)
  - дата и время поступления (число, месяц, год, ч, мин) материала
  - Ф.И.О. пациента
  - дата рождения
  - порядковый номер флакона
  - количество объектов
  - Ф.И.О. врача-патологоанатома
  - дата выдачи
  - расписка в получении
    - **Заполнение направления на судебно-гистологическое (судебно-химическое) исследование**

**Заполнение направления на судебно-гистологическое исследование объекта (форма № 180/у или № 179/у)»**

1. Подготовить журнал (форма №180/у или № 179/у)
2. Заполнить соответствующие графы направления:
  - подразделение, куда направляется объект
  - Ф.И.О. возраст (год рождения) и пол умершего
  - дата смерти
  - номер и дата акта судебно-медицинской экспертизы трупа
  - общее количество и перечень объектов, направленных на исследование
  - опечатывание объекта и формы опечатывания
  - краткие обстоятельства дела
  - основные данные исследования трупа и установленный судебно-медицинский диагноз
  - вопросы, подлежащие разрешению экспертом
  - дата заполнения направления
  - фамилия, инициалы и подпись судмедэксперта, направившего материала на исследование
3. Сделать надпись на направлении «Биологическая опасность» при направлении объектов от инфицированных трупов (туберкулез, гепатит, ВИЧ и др.)

6. Проводить утилизацию отработанного материала, дезинфекцию и стерилизацию использованной лабораторной посуды, инструментария, средств защиты

Утилизация отработанного материала, дезинфекция и стерилизация лабораторной посуды, инструментария, средств защиты

1) *Приготовление дезинфицирующего раствора* (см. инструкцию, прилагаемую к используемому в лаборатории дезинфицирующему средству)

2) *Сбор и утилизация отходов (отработанного материала)* (см. СанПиН 3.3684-21 "Санитарно-эпидемиологические требования к содержанию территорий городских и сельских поселений, к водным объектам, питьевой воде и питьевому водоснабжению, атмосферному воздуху, почвам, жилым помещениям, эксплуатации производственных, общественных помещений, организации и проведению санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий".)

3) *Дезинфекция лабораторной посуды, инструментария, средств защиты* проводится в соответствии с инструкцией, прилагаемой к используемому дезинфицирующему средству (концентрация дез.раствора, экспозиция)

4) *Предстерилизационная очистка* лабораторной посуды и инструментария проводится путем механического удаления загрязнения. Контроль ПСО на наличие остатков дез.раствора.

5) *Стерилизация лабораторной посуды и инструментария:*

- стерилизация сухим жаром 180<sup>0</sup>С - 60 минут
- автоклавирование при давлении 1,5 атм. в течение 60 минут, для уничтожения споровой микрофлоры – 90 минут при 2 атм.

#### **Типовые задания:**

##### **Симуляционное задание.**

- Провести световую микроскопию (изучение гистологического препарата)
- Повторить использование системы контроля за реагентами, применяемой в современных гистологических процессорах.
- Ошибки в протоколе гистологического окрашивания (назовите, прокомментируйте их)

#### **Проблемно-ситуационная задача.**

На препарате поперечный срез извитого семенного канальца, на котором видны фигуры митоза в сперматогониях и сперматоцитах первого порядка

*Задания для студента:*

1. Проведите осмотр препарата поперечного среза извитого семенного канальца
2. Провести контроль качества гистологического микропрепарата.
3. На каком этапе сперматогенеза находятся клетки

*Образец выполнения проблемно-ситуационного задания:*

1. Осмотр препарата поперечного среза извитого семенного канальца
2. Провести контроль качества гистологического микропрепарата:  
Препарат достаточно тонкий и прозрачный, клетки расположены в один слой; контрастный, четко определяются изучаемые структуры (ядра и цитоплазма клеток, межклеточное вещество, границы оболочек органа); препарат заключен в бальзам, потому может длительно храниться и использоваться повторно.
3. На каком этапе, сперматогенеза находятся клетки - период размножения и период роста.

**Практические умения:**

Оценка «5» - студент обладает системными теоретическими знаниями, знает методику выполнения практических навыков, нормативы и проч., без ошибок самостоятельно демонстрирует выполнение практических умений;

Оценка «4» - студент обладает теоретическими знаниями, знает методику выполнения практических навыков, нормативы и проч., самостоятельно демонстрирует выполнение практических умений, допуская некоторые неточности (малосущественные ошибки), которые самостоятельно обнаруживает и быстро исправляет;

Оценка «3» - студент обладает удовлетворительными теоретическими знаниями, знает основные положения методики выполнения практических навыков, нормативы и проч., демонстрирует выполнение практических умений, допуская некоторые ошибки, которые может исправить при коррекции их преподавателем;

Оценка «2» - студент не обладает достаточным уровнем теоретических знаний, не знает методики выполнения практических навыков, нормативы и проч. и/или не может самостоятельно продемонстрировать практические умения или выполняет их, допуская грубые ошибки.

*Критерии оценивания***Практические умения:**

Оценка «5» - студент обладает системными теоретическими знаниями, знает методику выполнения практических навыков, нормативы и проч., без ошибок самостоятельно демонстрирует выполнение практических умений;

Оценка «4» - студент обладает теоретическими знаниями, знает методику выполнения практических навыков, нормативы и проч., самостоятельно демонстрирует выполнение практических умений, допуская некоторые неточности (малозначительные ошибки), которые самостоятельно обнаруживает и быстро исправляет;

Оценка «3» - студент обладает удовлетворительными теоретическими знаниями, знает основные положения методики выполнения практических навыков, нормативы и проч., демонстрирует выполнение практических умений, допуская некоторые ошибки, которые может исправить при коррекции их преподавателем;

Оценка «2» - студент не обладает достаточным уровнем теоретических знаний, не знает методики выполнения практических навыков, нормативы и проч. и/или не может самостоятельно продемонстрировать практические умения или выполняет их, допуская грубые ошибки.

**Проводить утилизацию отработанного материала, дезинфекцию и стерилизацию использованной лабораторной посуды, инструментария, средств защиты**

**Утилизация отработанного материала, дезинфекция и стерилизация лабораторной посуды, инструментария, средств защиты**

- 1) *Приготовление дезинфицирующего раствора* (см. инструкцию, прилагаемую к используемому в лаборатории дезинфицирующему средству)
- 2) *Сбор и утилизация отходов (отработанного материала)* (см. СанПиН 3.3684-21 "Санитарно-эпидемиологические требования к содержанию территорий городских и сельских поселений, к водным объектам, питьевой воде и питьевому водоснабжению, атмосферному воздуху, почвам, жилым помещениям, эксплуатации производственных, общественных помещений, организации и проведению санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий".)
- 3) *Дезинфекция лабораторной посуды, инструментария, средств защиты* проводится в соответствии с инструкцией, прилагаемой к используемому дезинфицирующему средству (концентрация дез.раствора, экспозиция)
- 4) *Предстерилизационная очистка* лабораторной посуды и инструментария проводится путем механического удаления загрязнения. Контроль ПСО на наличие остатков дез.раствора.
- 5) *Стерилизация лабораторной посуды и инструментария:*
  - стерилизация сухим жаром 180<sup>0</sup>С - 60 минут
  - автоклавирование при давлении 1,5 атм. в течение 60 минут, для уничтожения спорной микрофлоры – 90 минут при 2 атм.

## БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

### *Основные:*

1. Кишкун, А. А. Клиническая лабораторная диагностика : том 2 : учебник : в 2 т. / А. А. Кишкун, Л. А. Беганская. - 2-е изд., перераб. и доп. - Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2021. - 624 с. - ISBN 978-5-9704-6085-6. - Текст : электронный // ЭБС "Консультант студента" : [сайт]. - URL : <https://www.studentlibrary.ru/book/ISBN9785970460856.html> (дата обращения: 15.02.2023). - Режим доступа : по подписке.
2. Ленченко Е.М. Цитология, гистология и эмбриология: учебник для СПО.--2-е изд.испр. и доп.- Москва: Юрайт ,2023 .- 347с.
3. Шабалова, И. П. Теория и практика лабораторных цитологических исследований : учебник / И. П. Шабалова, Н. Ю. Полонская, К. Т. Касоян. - Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2022. - 176 с. - ISBN 978-5-9704-6742-8. - Текст : электронный // ЭБС "Консультант студента" : [сайт]. - URL : <https://www.studentlibrary.ru/book/ISBN9785970467428.html> (дата обращения: 15.02.2023). - Режим доступа : по подписке.
4. Афонин, А. Н. Теория и практика лабораторных гистологических исследований / А. Н. Афонин, Т. Ю. Белозерова, Т. П. Зимина. — 3-е изд., стер. — Санкт-Петербург :Лань, 2022. — 196 с. — ISBN 978-5-8114-9647-1. — Текст : электронный // Лань : электронно-библиотечная система. — URL: <https://e.lanbook.com/book/198539> (дата обращения: 15.02.2023). — Режим доступа: для авториз. пользователей.

### *Дополнительная литература:*

1. Бойчук, Н. В. Гистология. Атлас для практических занятий / Бойчук Н. В. , Исламов Р. Р. , Кузнецов С. Л. , Чельшев Ю. А. - Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2010. - 160 с. - ISBN 978-5-9704-1919-9. - Текст : электронный // ЭБС "Консультант студента" : [сайт]. - URL : <https://www.studentlibrary.ru/book/ISBN9785970419199.html> (дата обращения: 27.02.2023). - Режим доступа : по подписке.

### *Нормативно-правовая документация:*

1. Приказ МЗ России № 380 от 25.12.97 «О состоянии и мерах по совершенствованию лабораторного обеспечения диагностики и лечения пациентов в учреждениях здравоохранения РФ» (<http://docs.cntd.ru/document/901708702>)
2. Приказ МЗ России № 45 от 07.02.2000 г. «О системе мер по повышению качества клинических лабораторных исследований в учреждениях здравоохранения Российской Федерации» (<http://docs.cntd.ru/document/901755005>)
3. Приказ МЗ РФ № 64 от 21.02.2000 г. «Об утверждении номенклатуры клинических лабораторных исследований» (<http://docs.cntd.ru/document/901757900>)
4. Приказ МЗ РФ № 220 от 26.05.2003 г. об утверждении отраслевого стандарта «Правила проведения внутрилабораторного контроля качества количественных методов клинических лабораторных исследований» (<http://docs.cntd.ru/document/901868423>)
5. Приказ МЗ РФ № 408 от 12.07.1989 г. «О мерах по снижению заболеваемости вирусным гепатитом в стране»; (<http://docs.cntd.ru/document/9038200>)
6. Приказ МЗ РФ № 179н от 24.03.2016 "О правилах проведения патолого - анатомических исследований" (<http://docs.cntd.ru/document/420347243>)
7. Санитарно-эпидемиологические правила СП 1. 3. 2322-08 «Безопасность работы с микроорганизмами III - IV групп патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней», утв. приказом Глав.гос. сан. врача РФ № 4 от 28.01.2008; (<http://docs.cntd.ru/document/902091086>)
8. Приказ МЗ РФ № 354н от 06.06.2013 г. «О порядке проведения патологоанатомических вскрытий»; (<http://docs.cntd.ru/document/499028407>)
9. Приказ МЗ № 1095 от 23.10.1981 г. «О штатных нормативах медицинского персонала патолого-анатомических отделений»; (<http://docs.cntd.ru/document/902066273>)

10. Методические рекомендации «Правила оформления медицинской документации патолого-анатомического отделения», М., 1987 г.; (<http://www.forens-med.ru/book.php?id=1115>)

***Профильные web-сайты Интернета:***

1. [http://Labx.narod.ru/documents/bases\\_histologic\\_metods.html](http://Labx.narod.ru/documents/bases_histologic_metods.html)
2. [http://www.medkursor.ru/biblioteka/potomorf\\_diagn/metody\\_gist\\_isslidov/1098.html](http://www.medkursor.ru/biblioteka/potomorf_diagn/metody_gist_isslidov/1098.html)
3. [www.tumor.su/diagnoztika/citometodi.html](http://www.tumor.su/diagnoztika/citometodi.html)
4. [www.primer.ru/manuals/cytology/methods.html](http://www.primer.ru/manuals/cytology/methods.html)

***Электронные пособия:***

1. «Атлас микроскопического строения органов и тканей». – Халупенко И.А., Трофимович Н.А., Омск, 2005, перераб. и доп., 2010.