

Эта часть работы выложена в ознакомительных целях. Если вы хотите получить работу полностью, то приобретите ее воспользовавшись формой заказа на странице с готовой работой:

<https://stuservis.ru/diplomnaya-rabota/78730>

Тип работы: Дипломная работа

Предмет: Медицина

Содержание

Введение 3

Глава 1. Организация работы лаборанта-гистолога 6

1.1. Рабочие процессы в гистологической лаборатории 6

1.2. Высокотехнологичные методы в работе лаборанта-гистолога 9

Глава 2. Собственные исследования 14

2.1. Гистологические и гистохимические окраски 14

2.2. Методика окрашивания гистологического препарата 16

2.3. Иммуногистохимические методы 24

Заключение 32

Список использованных источников и литературы 34

Глава 1. Организация работы лаборанта-гистолога

1.1. Рабочие процессы в гистологической лаборатории

Работа патологоанатомической лаборатории с операционным и биопсийным материалом регламентируется Приказом Минздрава РФ № 179-н от 24.03.2016 г. «О Правилах проведения прижизненных патологоанатомических исследований».

Патоморфологическая (гистологическая) лаборатория оснащается необходимыми оборудованием, лабораторной посудой, инструментами и химическими реактивами.

Рабочими помещениями лаборатории являются: комната, в которой производится вырезка операционного и биопсийного материала; рабочая комната лаборантов; комната для размещения аппаратуры и моечная. Рабочие помещения лаборатории оснащаются приточно-вытяжной вентиляцией.

Рабочий процесс в гистологической лаборатории представляет собой упорядоченный процесс движения поступающего на исследование материала, включающего в себя строго обязательные этапы, операции которых являются специфичными для гистологической лаборатории и дискретными.

Подготовка материала к исследованию начинается непосредственно после его забора и имеет ряд этапов. Первый этап обработки гистологического материала – его фиксация, целью которой является сохранение объекта в том виде, в каком он находится в живом организме.

Основной фиксирующей жидкостью является 10% нейтральный формалин. Таким способом сохраняется прижизненная структура и обеспечивается возможность изучения ткани. Преимущественно используется иммерсионная фиксация, когда фрагмент ткани целиком погружается в фиксирующий раствор.

Следующий этап обработки операционного и биопсийного материала – вырезка, которым врач описывает поступивший на исследование материал, вырезает из крупных объектов информативные фрагменты, помещает их в специальные кассеты.

Затем гистологический материал в кассетах помещается в аппарат для гистологической проводки, где происходит процесс обезвоживания (дегидратации) и обезжиривания, а также уплотнения ткани. При слишком мягкой ткани в процессе изготовления срезов она будет «сминаться», образуя складки, разрывы и другие артефакты, что влияет на непригодность приготовленных препаратов к изучению.

Традиционная ручная проводка осуществлялась путем последовательного погружения ткани в растворы ксилола и этилового спирта, была трудоемкой, длительной (до четырех суток). Испарение реагентов в воздух лаборатории в процессе ручной проводки провоцировало развитие у лаборантов острых и хронических поражений кровеносных органов, легких, развитие контактных дерматитов, аллергических реакций.

Качество получаемых после такой проводки препаратов во многом зависело от человеческого фактора, в данном случае действий лаборанта. В настоящее время эта проблема решается внедрением в процесс работы гистопроцессоров, имеющих закрытый контур, предотвращающий попадание испарений в воздух лаборатории. Вместо этанола в гистопроцессорах используется изопропиловый спирт.

Применение гистопроцессоров позволяет значительно уменьшить время проводки по сравнению с ручным

методом до одного часа при использовании гистопроцессора Xpress 120 за счет применения вакуум-инфильтрационной и микроволновой методик.

Заливка – это процесс создания парафинового блока, достаточно твердого, чтобы быть пригодным для резки (микротомирования). В процессе заливки фрагмент ткани заливается жидким парафином, целлоидином, пластмассой или специальными средами для заливки. Затем залитую ткань остужают до затвердевания блока.

Присадки придают парафину эластичность, что предотвращает его фрагментацию при микротомировании, поэтому чаще всего для изготовления блоков пользуются специальными заливочными средами, представляющими собой смесь парафинов с присадками в виде рисового, пчелиного воска или полимеров. Для создания гомогенной среды для заливки, воск и парафин расплавляют, охлаждают и тщательно перемешивают, повторяя такую процедуру до 5 или 10 раз. Процесс очень трудоемкий, качество получаемой среды нестабильно. Некоторые лаборатории пользуются готовыми средами для заливки, полученными в заводских условиях и не требующих дополнительной обработки, такими, как Histomix. Изготовление срезов (микротомирование или нарезка) производится на специальном приборе – микротоме, это процесс изготовления тонких парафиновых срезов. Толщина срезов, предназначенных для световой микроскопии, не должна превышать 4-5 мкм.

Окрашивание срезов позволяет выявить структуру ткани за счет неодинакового химического сродства различных элементов ткани к гистологическим красителям. Например, окраска гематоксилином и эозином позволяет выявить кислые структуры ткани, такие как ДНК и РНК, при связывании их с гематоксилином, который имеет щелочную реакцию, и цитоплазму клеток, которая окрашивается с эозином.

Перед окрашиванием срез монтируется на предметное стекло. После микротомирования срез помещают на поверхность подогретой воды в водяную баню для предупреждения формирования складок. В воде срез расправляется, а потом уже помещается на предметное стекло.

Окрашивание, как и все остальные стадии процесса изготовления гистологического препарата, может выполняться вручную и автоматически.

Заключение срезов представляет собой помещение окрашенного среза, смонтированного на предметном стекле. Срез помещается под покровное стекло с использованием среды для заключения.

Среды, применяемые для заключения гистологических препаратов, имеют коэффициент преломления, близкий к таковому у стекла – это полистирол, канадский бальзам, специальные среды для заключения.

Храниться заключенный препарат может достаточно длительное количество времени. Исключение составляет применение чистого полистирола – препарат постепенно теряет прозрачность, а сам полистирол трескается. Для предотвращения этих процессов в полистирол добавляют пластификатор, например, дибутилфталат. Это предотвращает помутнение и деформацию полистирола при заключении и хранении препаратов. При таком условии срок годности гистопрепарата значительно увеличивается, препарат может храниться в течение всего срока хранения истории болезни пациента, т.е. 25 лет.

1.2. Высокотехнологичные методы в работе лаборанта-гистолога

В настоящее время для исследования операционного и биопсийного материала кроме рутинных гистологических методов, применяются также современные высокотехнологичные методы.

Иммуногистохимическое исследование в последние десятилетия стало мощным двигателем развития клинической (прижизненной) гистологии. Эти исследования могут быть выполнены только в гистологической лаборатории, поскольку перед проведением такого исследования и назначением панелей антител необходимо достоверно определить структуру и тип анализируемой ткани, выделив в ней нормальные и атипичные клетки, инвазивный компонент опухоли. Такие исследования дают принципиально новую, более детальную по сравнению с гистологическими и гистохимическими методами, информацию о свойствах изучаемых объектов (клеток и тканей).

В основе любой иммунологической реакции лежит взаимодействие антигена с антителом, которое приводит к формированию комплекса «антиген-антитело».

Антигены - чужеродные вещества сложной органической природы, способные при попадании в организм вызывать иммунные реакции. Небольшой участок антигена, с которым будет связываться антитело, называется эпитопом.

Различают полные и неполные антигены. Полные антигены - это белки, полисахариды, нуклеиновые кислоты, синтетические высокополимерные соединения, вирусы, паразиты, бактерии. Неполные антигены, или гаптены, - низкомолекулярные соединения, которые сами по себе не могут вызывать иммунного ответа, однако, соединяясь с клетками и тканями организма, в комплексе становятся полными антигенами,

способными вызывать иммунный ответ.

Антитела - вещества белковой природы, которые образуются в организме в ответ на антигены и, специфически взаимодействуя с ними, уничтожают их, обеспечивая гуморальный иммунитет. Антитела обладают специфичностью к антигенам, т.е. связываются только с тем антигеном, на который вырабатывались.

Антитела принадлежат к группе белков иммуноглобулинов - близкие по химическому строению и свойствам глобулярные белки, которые обладают способностью соединяться с антигенами. Антигены, попадая в организм, способствуют образованию антител. Для проведения иммуногистохимических реакций к данному фрагменту присоединяют биотин, флуорохромы или ферменты.

Структурное разнообразие антител определяется последовательностью аминокислот в переменных областях тяжелых и легких цепей. Антитела, которые используются в иммунологических методиках, получают путем повторной иммунизации различных животных (чаще мышей, кроликов, крыс, овец, лошадей и др.) определенным антигеном. После выработки у

Список использованных источников и литературы

1. Приказ Минздрава РФ № 179-н от 24.03.2016 г. О Правилах проведения прижизненных патологоанатомических исследований
2. Афанасьев, Ю.И.; Кузнецов, С.Л.; Юрина, Н.А. Гистология, цитология и эмбриология; М.: Медицина; Издание 6-е, перераб. и доп. - , 2004. - 768 с.
3. Бабиченко И.И., Ковязин В.А. Новые методы иммуногистохимической диагностики опухолевого роста: Учеб. пособие. - М.: РУДН, 2008. - 109 с.
4. Галкин И.В., Сивцева М.Г., Сидорова В.П. Порядок направления биологического материала на морфологическое исследование. - М., 2010. - 40 с.
5. Кононов А.В., Поморгайло Е.Г. Методы исследования биопсий / Методическое руководство для врачей. Омск, 1998. - 48 с.
6. Мальков П.Г., М.А. Морозова, В.Н. Гриневич, В.П. Сидорова Оптимизация производственного процесса патоморфологической лаборатории в соответствии с требованиями международного стандарта качества ISO 9001:2000 // Фундаментальные исследования. - 2010. - № 2 - С. 87-98 URL: www.rae.ru/fs/?section=content&op=show_article&article_id=1650
7. Модернизация патоморфологических лабораторий с позиций теории управления рисками // Российский онкологический журнал. - 2011. - № 2. - С. 40-42.
8. Морозова М.А., Гриневич В.Н., Сидорова В.П. Оптимизация производственного процесса патоморфологической лаборатории в соответствии с требованиями международного стандарта качества ISO 9001 // Фундаментальные исследования. - 2010. - № 2. - С. 87-98
9. Пальцев М.А., Франк Г.А. Стандартные технологические процедуры при морфологическом исследовании биопсийного и операционного материала // Архив патологии. -2011. - № 3. - Приложение. - 113 с.
10. Повзун С.А, Франк Г.А. Целлюлярная патология и революция научной медицины (к 190-летию Rudolf Virchow) // Архив патологии. - 2011. - № 3. - С. 6-11
11. Румянцев Н.В., Колоколов В.Г. Методы исследований в Омском диагностическом центре / Методическое руководство для врачей. - Омск, 2003. - 304 с.
12. Семченко В.В., Барашкова С.А., Артемьев В.Н. Гистологическая техника: учебное пособие. - Омск: Омская медицинская академия, 2004. - 115 с.
13. Семченко В.В., Барашкова С.А., Ноздрин В.Н., Артемьев В.Н. Гистологическая техника: учебное пособие. - 3-е изд., доп. и перераб. - Омск-Орел: Омская областная типография, 2006. - 290 с.
14. Стародубов В.И., Франк Г.А., Морозова М.А. Комплексное технологическое решение оснащения и информатизации патоморфологических лабораторий // Социальные аспекты здоровья населения. - 2011. - № 5. - С. 35-41
15. Стороженко В.К., Шуголь С.А. Методы исследований в диагностическом центре / Методическое руководство для врачей. - Омск, 1998. - 315 с.
16. Франк Г.А. Возможности анализа диагностической и лечебной работы на материале биопсийных исследований // Клиническая медицина. - 2011. - № 5. - С. 73-74
17. Франк Г.А. Оценка деятельности патоморфологических лабораторий // Здравоохранение Российской Федерации. - 2010. - № 6. - С. 51-54
18. Франк Г.А., Завалишина Л.Э., Данилова Н.В., Москвина Л.В. Основы обеспечения качества в гистологической лабораторной технике: Руководство. - М., 2011. - 108 с.

19. Экспресс-гистология; Медицинское информационное агентство - , 2008. - 208 с.

Эта часть работы выложена в ознакомительных целях. Если вы хотите получить работу полностью, то приобретите ее воспользовавшись формой заказа на странице с готовой работой:

<https://stuservis.ru/diplomnaya-rabota/78730>