BioVitrum
www.biovitrum.ru

ДИАГНОСТИКА, СПАСАЮЩАЯ ЖИЗНЬ

Артефакты в гистологической технике и способы их устранения

Ксения Воловик
Специалист по обучению работе на оборудовании
ООО «БиоВитрум»

Причины возникновения ошибок

1) Методики и протоколы
2) Оборудование и расходные материалы
3) Коммуникация (внутри лаборатории/между отделениями)

Методики и протоколы

BioVitrum
www.biovitrum.ru

1) Как материал зафиксирован?
2) Протоколы проводки, окраски
3) Температурный режим
4) Разделение потоков по типу материала

В устранении этих ошибок могут помочь СОПы – стандартные операционные процедуры.

Проводка

BioVitrum
www.biovitrum.ru

Нет универсального протокола!

Протокол зависит от:

1) Используемого оборудования
2) Используемых реагентов
3) Типа материала
4) Внешних факторов – температура, pH воды и т.д.

Необходимо валидировать протокол для Ваших конкретных условий

Недостаточная проводка

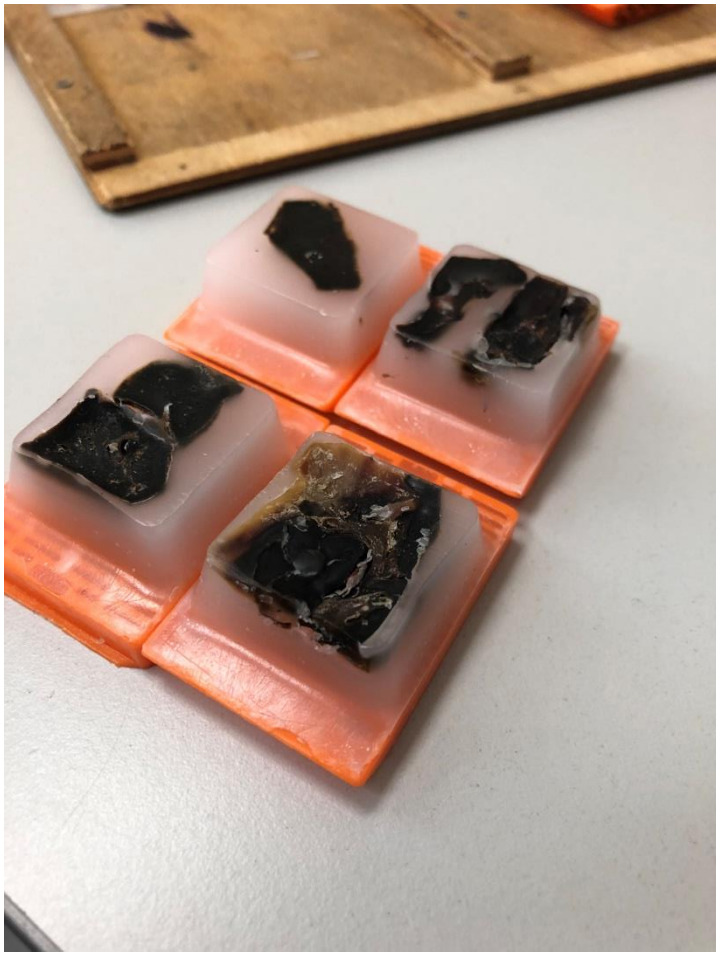
BioVitrum
www.biovitrum.ru

Примеры

Недостаточная проводка

BioVitrum
www.biovitrum.ru

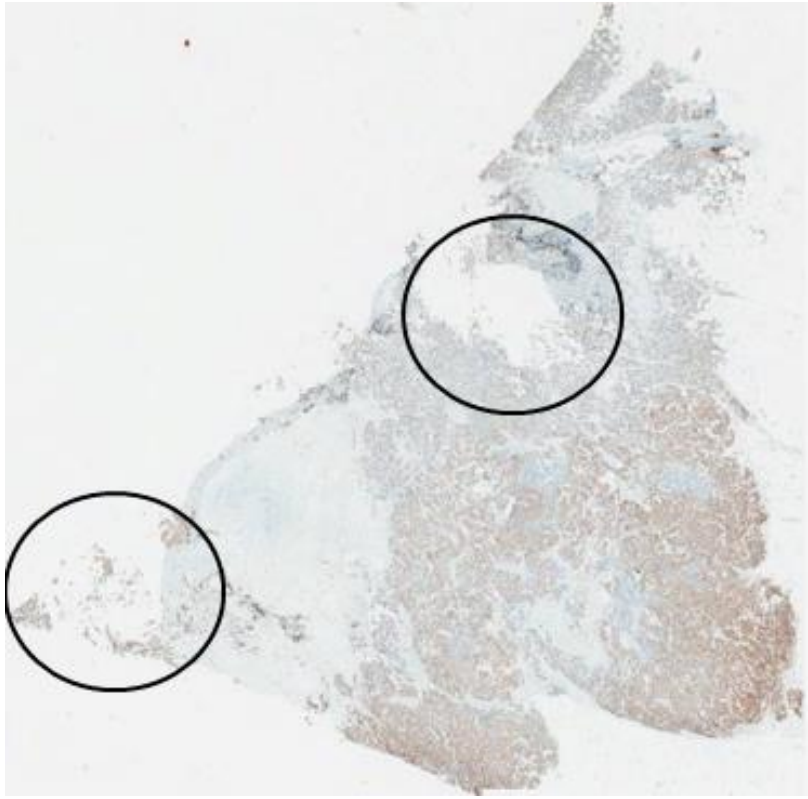
Примеры

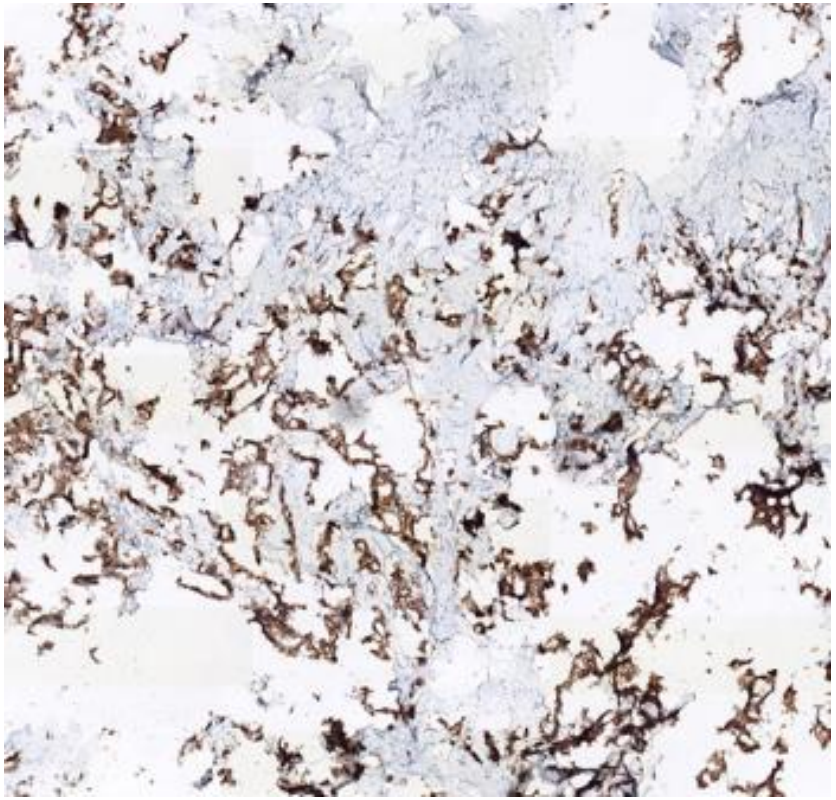


Пересушенный материал

Примеры

Пересушенный материал

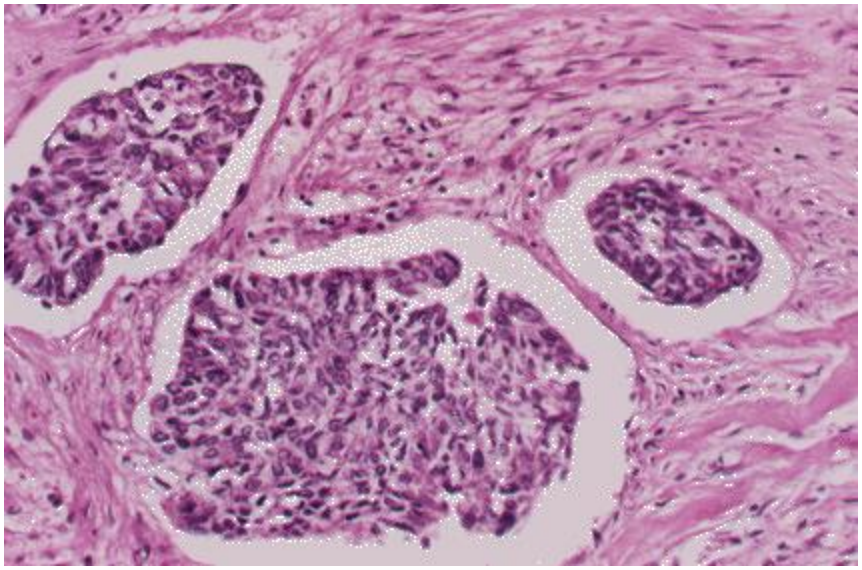




Артефакты проводки

«Сморщивание»

Может возникать при помещении материала сразу в спирт высокой концентрации



Артефакты проводки

BioVitrum
www.biovitrum.ru

Что ещё бывает при проводке?

- Контаминация (грязные реактивы)
- Высушивание (недостаточно реактивов в канистрах)
- Аварийная остановка прибора — перебой электропитания, поломка, неплотно присоединённая канистра и т.д. (конкретный дефект будет зависеть от стадии остановки)
- Перепутанные реактивы

Ошибки при заливке

BioVitrum
www.biovitrum.ru

- Неправильная ориентировка образца
- Термические повреждения
- Механические повреждения
- Пузыри в блоке

Довольно легко исправимы при наличии материала в блоке.

Ошибки при заливке

BioVitrum
www.biovitrum.ru

К чему может привести?

Ошибки при микротомии

BioVitrum
www.biovitrum.ru

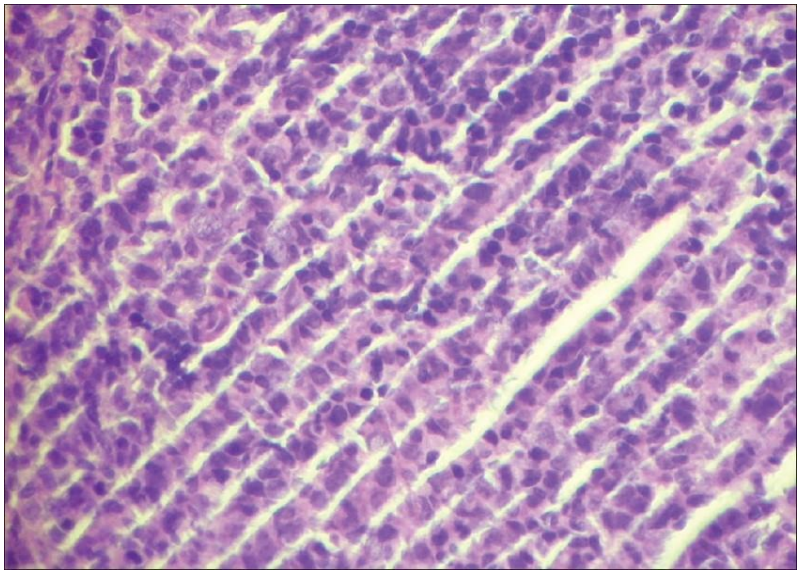
Какие могут быть?

- “Эффект жалюзи”;
- Складки;
- Смещение компонентов ткани;
- Разрывы ткани;
- Незакреплённый нож;
- Контаминация лезвия или пластины;
- Неадекватное увлажнение;
- Тупое лезвие

Эффект жалюзи

Причина – малозаметная вибрация лезвия с маленькой амплитудой, которая может быть вызвана:

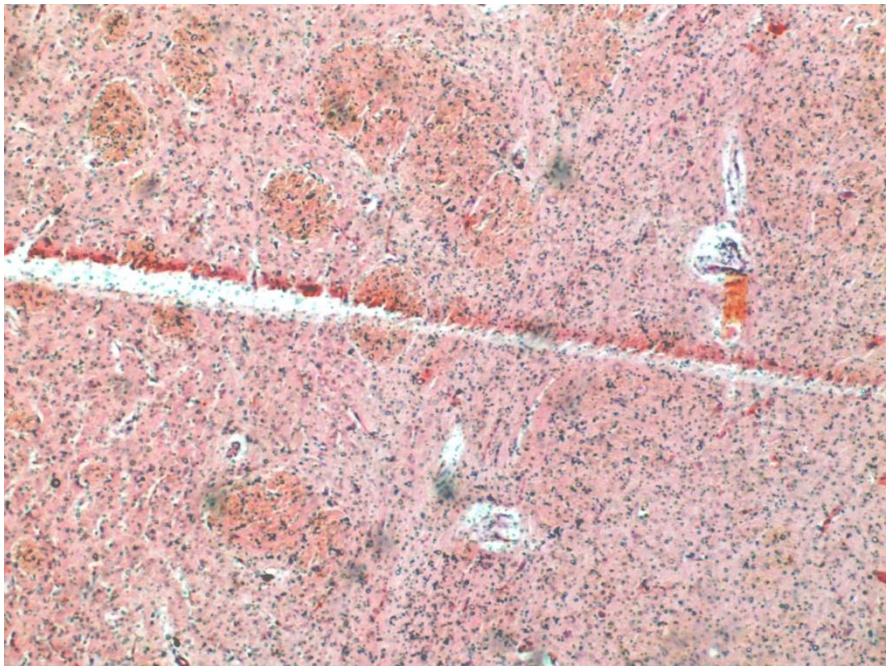
1) Плохим закреплением блока;
2) Плохим закреплением лезвия;
3) Плохим закреплением держателя лезвия (станины);
4) Очень твёрдой тканью (кальцинаты и проч.)



Единичные разрывы правильной формы

Причины:

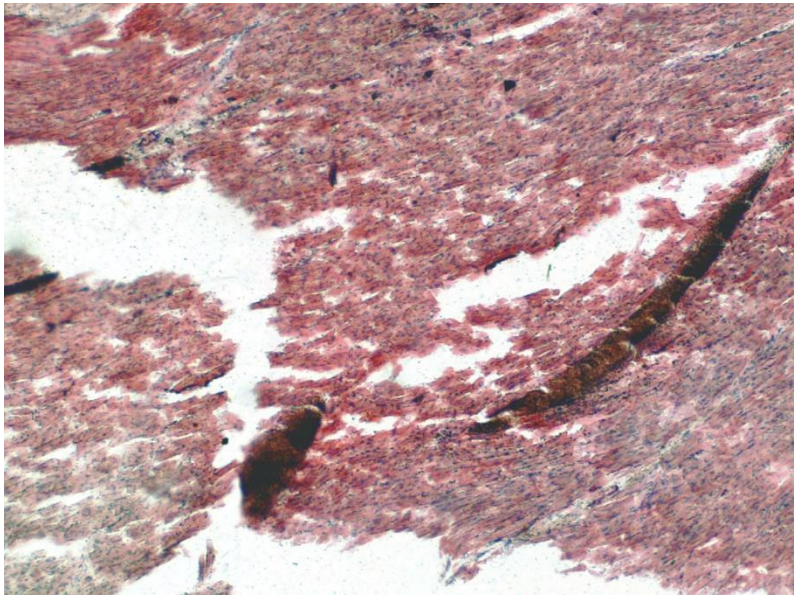
- Тупое лезвие
- Остановка в процессе резки
- Неравномерная резка (переменная скорость)
- Плохое закрепление (ножа, блока…)



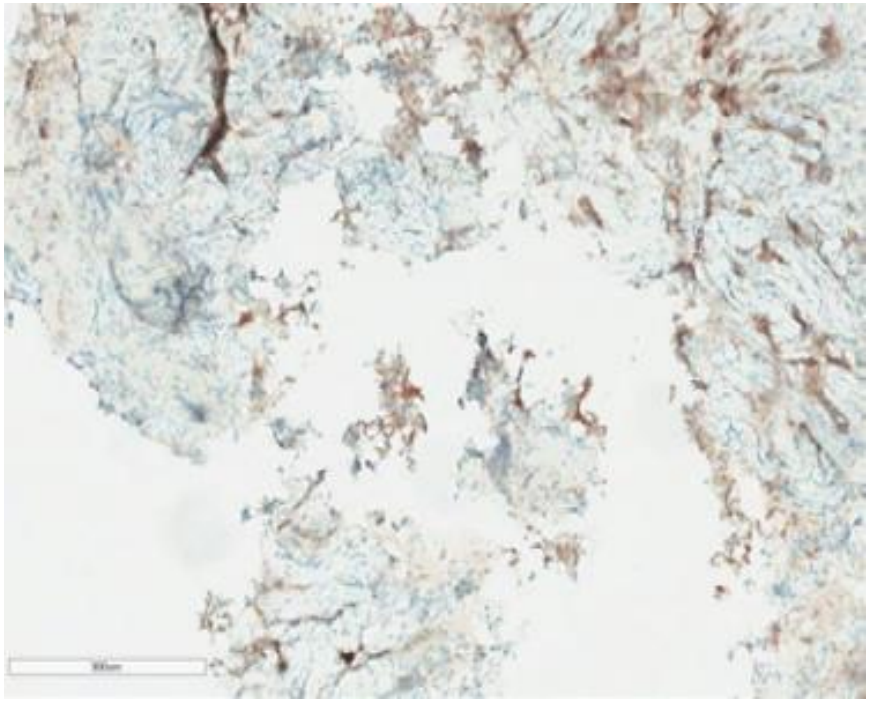
Разрывы неправильной формы

Чаще всего при расправлении на водяной бане (перегрев или длительность пребывания), но бывает и механическое повреждение плохо зафиксированной ткани (при недостаточно деликатном обращении плохо фиксированная ткань рвётся даже от простейших манипуляций).

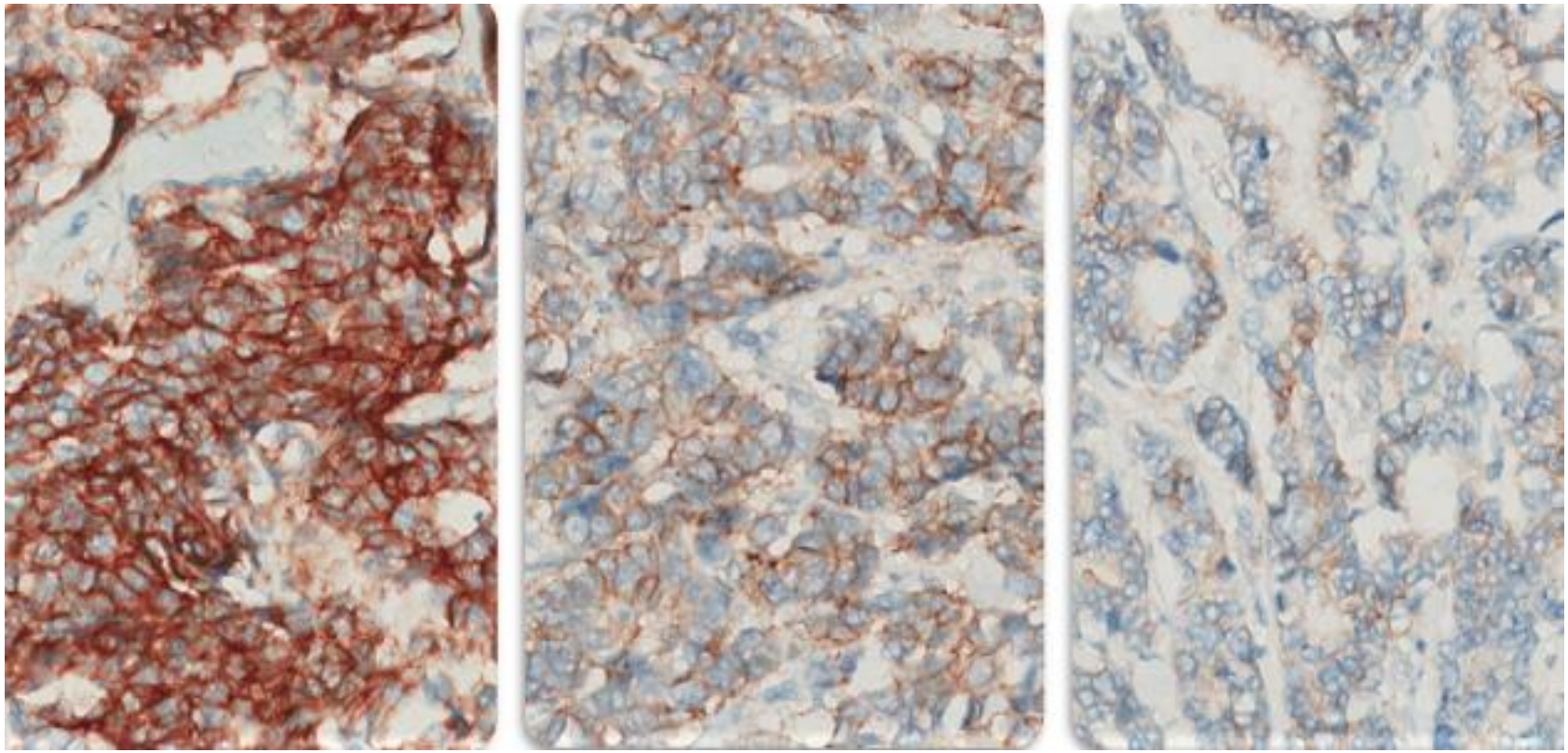
Необходимо следить за температурой водяной бани (40-42 градуса) и за временем нахождения срезов на воде.



Разрывы на срезах



Неравномерная толщина среза



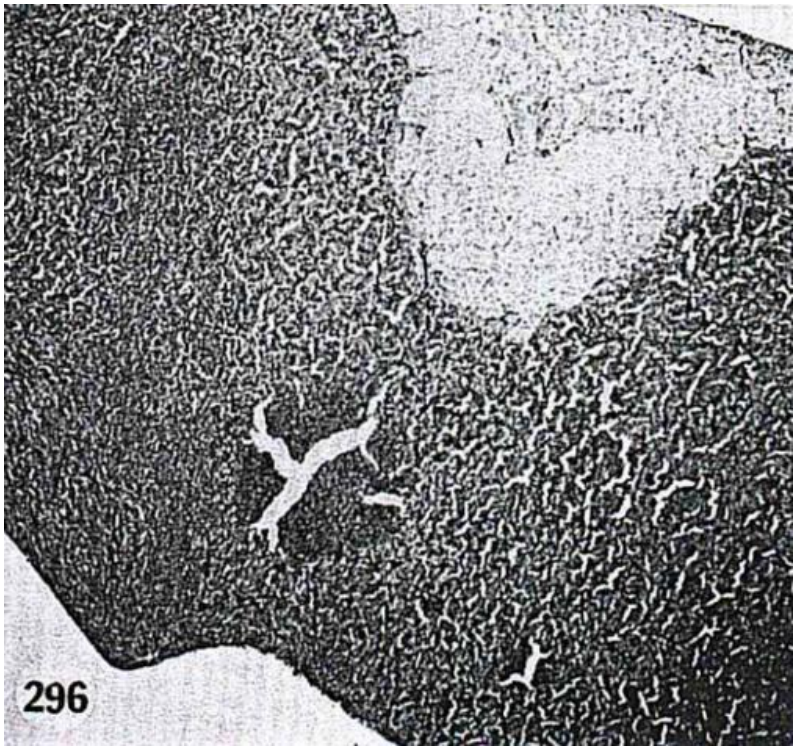
Закипание срезов

BioVitrum
www.biovitrum.ru

Ошибки в работе с нагревательным столиком

Причина: остаточные капли воды под срезом.

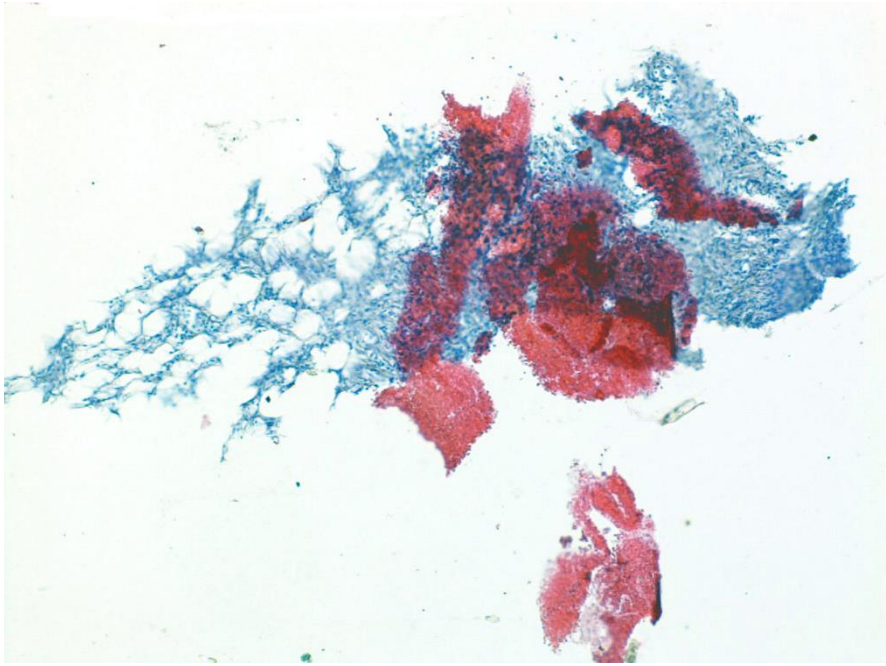
При сушке на нагревательном столике плашмя испаряются, прорывая и перегревая ткань.



Контаминация на водяной бане

Наиболее распространена контаминация именно на этом этапе.

Хорошо, если ткань разная, но если одинаковая?...



Окраска препаратов

Основная окраска – гематоксиин-эозин

Гематоксилин Майера

Гематоксилин Карацци

Гематоксилин Джилла

Гематоксилин Гарриса

Гематоксилин Эрлиха

Эозин водно-спиртовой концентрированный

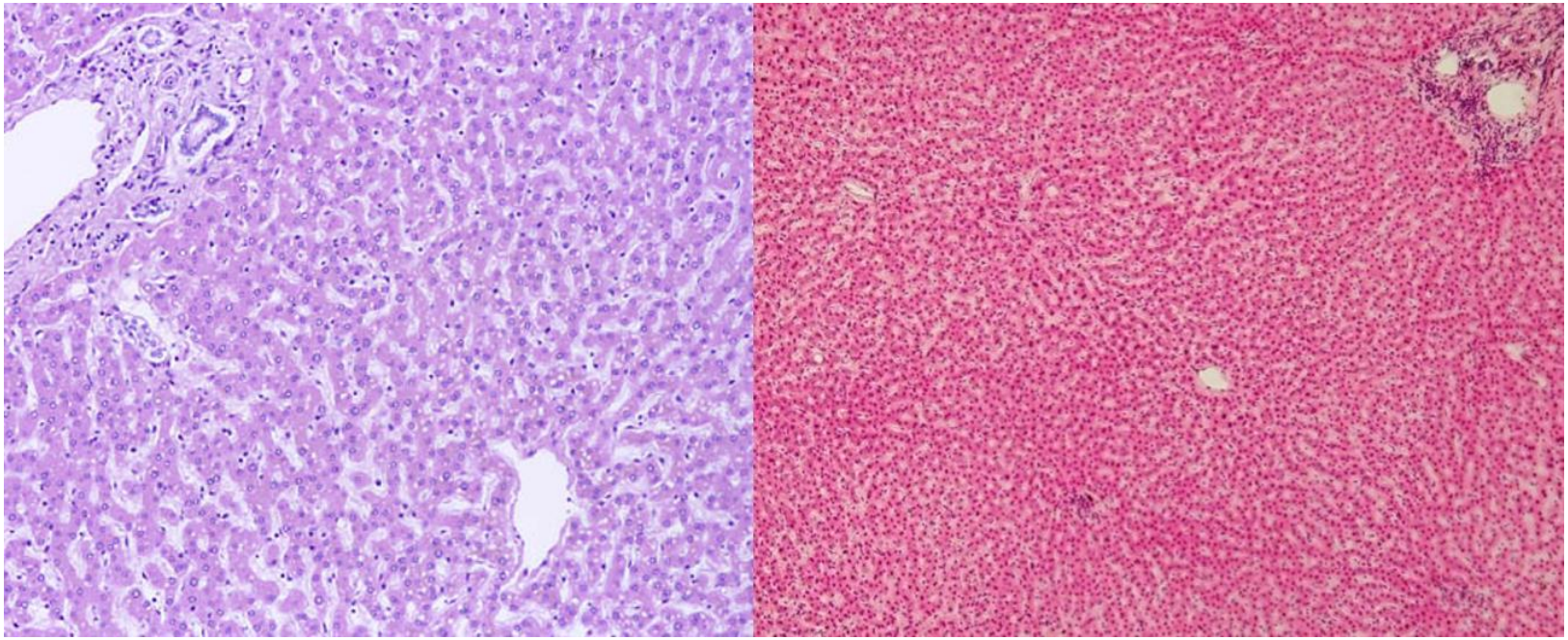
Эозин, водный раствор

Эозин, спиртовой раствор

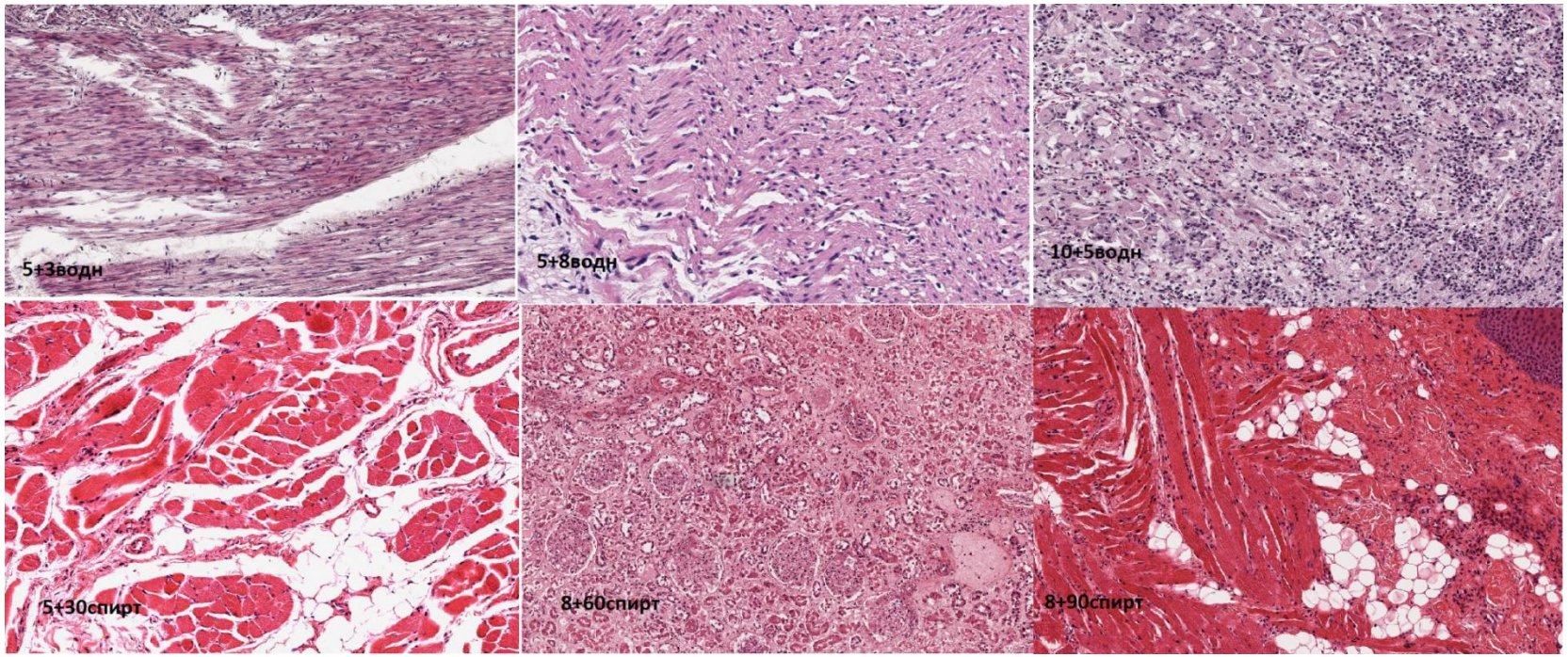
Подбор протокола окраски

BioVitrum
www.biovitrum.ru

Как правильно?



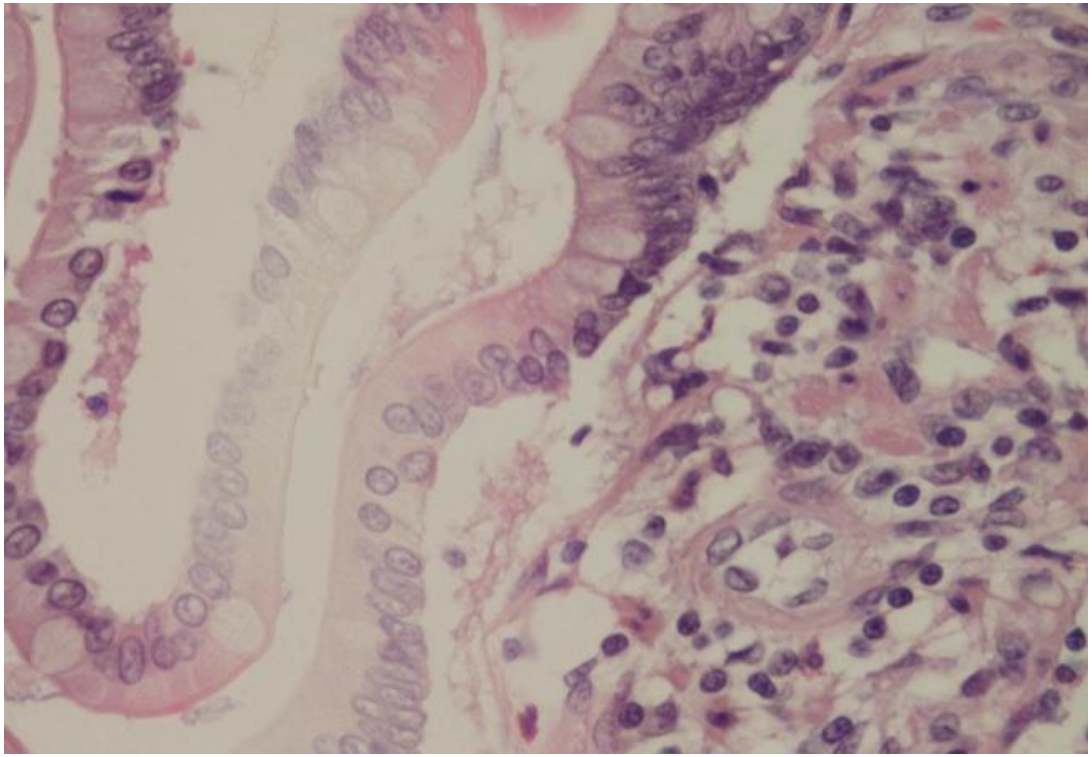
Подбор реагентов и протокола



Протокол окраски

BioVitrum
www.biovitrum.ru

Недостаточная депарафинизация

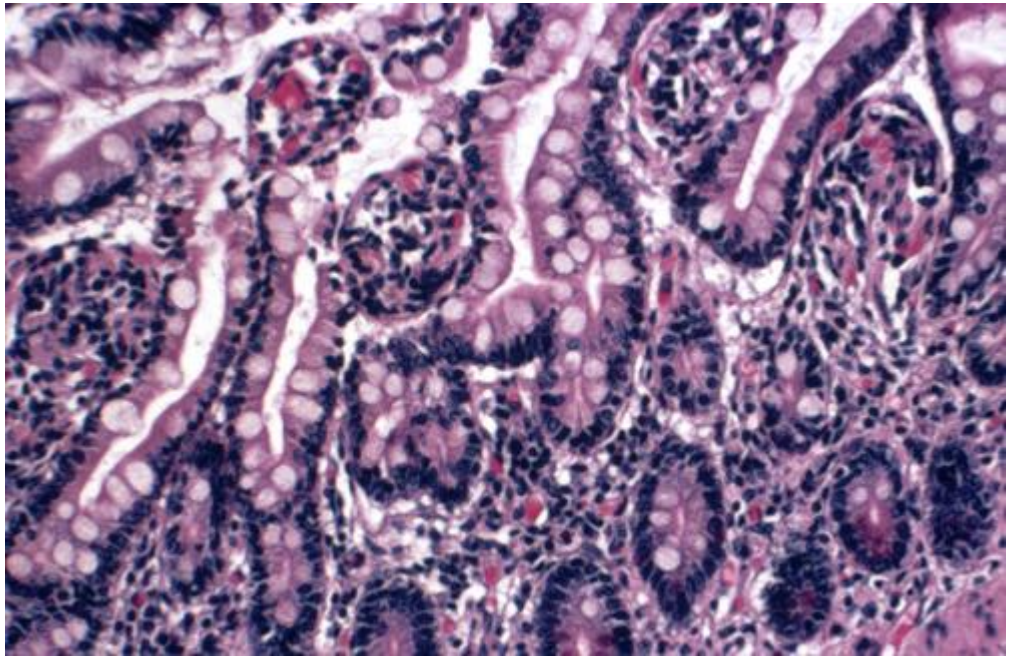


Окраска

BioVitrum
www.biovitrum.ru

Срок годности реактивов

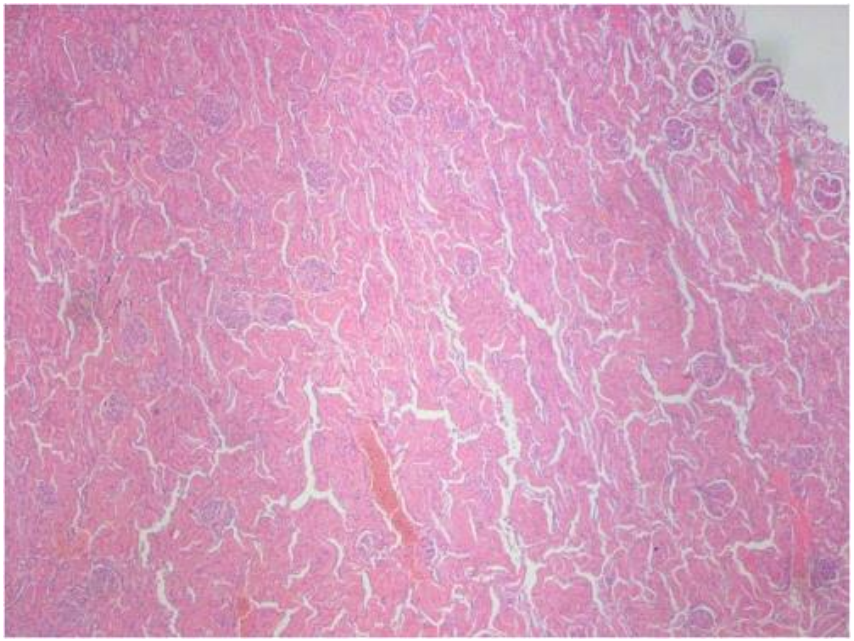
При перезревании гематоксилина происходит избыточное окрашивание фиолетового-коричневого цвета.



Окраска

Высушивание препарата в ходе окраски

При сильном высушивании частицы среза сворачиваются и начинают опадать с предметного стекла, такой препарат становится вовсе непригоден к просмотру.



Этапы гистологического исследования

BioVitrum
www.biovitrum.ru

Определение

1. Забор материала для исследования (проводится вне лаборатории)
2. ***Обработка материала и получение гистологического препарата***
3. Микроскопическое исследование препарата врачом-патологоанатомом и постановка диагноза

Взаимодействие с «поставщиками»

1) Взятие материала
2) Транспортировка
3) Фиксация

Взаимодействие с «поставщиками»

BioVitrum
www.biovitrum.ru

Важно!

Выстраивать отношения с оперблоком/ эндоскопистами:

1) Избегание перегрева и высушивания материала
2) Максимально быстро помещать материал в фиксатор
3) Использование 10% нейтрального формалина (НЕ готовить самостоятельно, НЕ физраствор, НЕ спирт, НЕ вода)
4) Использование подходящей тары
5) Соблюдение условий хранения и транспортировки (не перегревать, не переохлаждать)

Если поступает материал в блоках:

1) Растопить парафин, в котором принесли материал

2) Выдержать материал 3-4 часа в растопленном парафине, который используется в Вашей лаборатории в термостате

3) Залить блоки заново и изготовить препараты

СПАСИБО за внимание!