Фиксация материала – основа качественной пробоподготовки

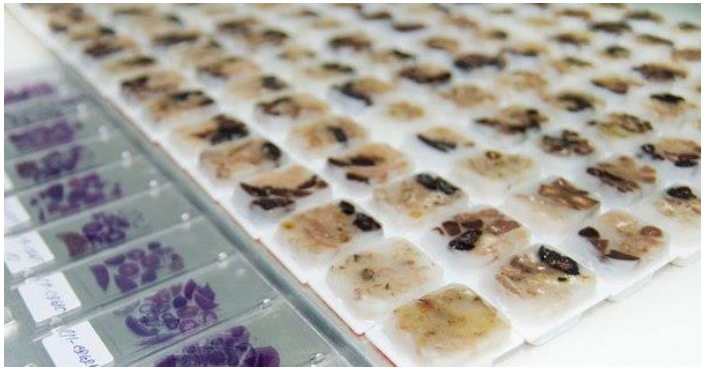
Ксения Воловик
Специалист по обучению работе на оборудовании
ООО «БиоВитрум»

Фиксация

Определение

Обработка образца, предназначенного для микроскопического исследования, с целью сохранить, насколько это возможно, его структуру в неизменном состоянии.

В противном случае под действием собственных ферментов, действия бактерий и в силу других причин образец становится непригодным для исследования.



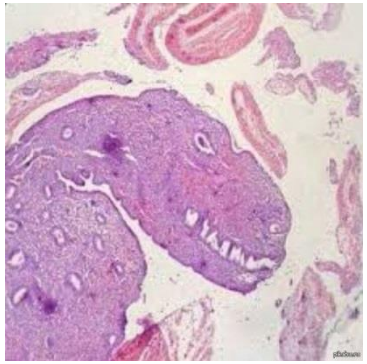
Фиксация

BioVitrum
www.biovitrum.ru

Цели:

- Блокировка ферментов
- Уничтожение бактерий
- Уплотнение ткани

«Ткань не зафиксирована» - значит, не сохранила свою нативную структуру.



Фиксаторы

BioVitrum
www.biovitrum.ru

Растворы, используемые для фиксации материала:

- Формалин
- Этиловый спирт*
- Метиловый спирт
- Жидкость Буэна
- Жидкость Карнуа
- Формалин + этанол в разных пропорциях
- И т.д.

10% забуференный формалин

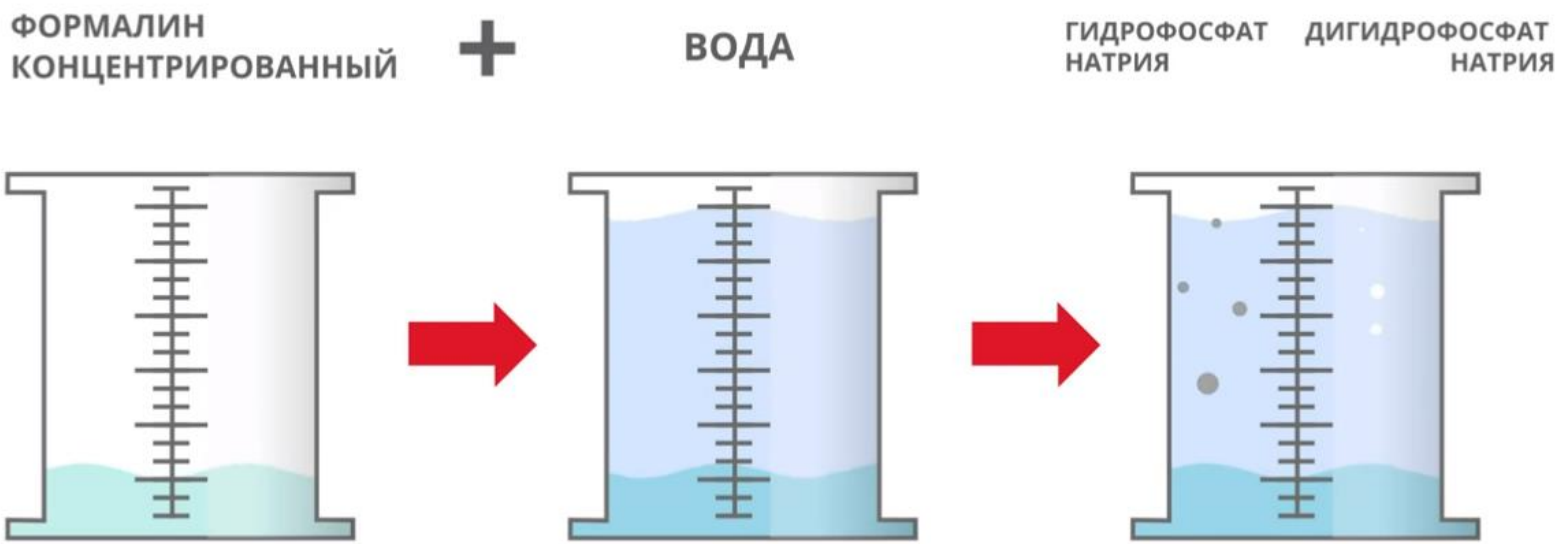
BioVitrum
www.biovitrum.ru

«Золотой стандарт» в гистологии

10% забуференный формалин

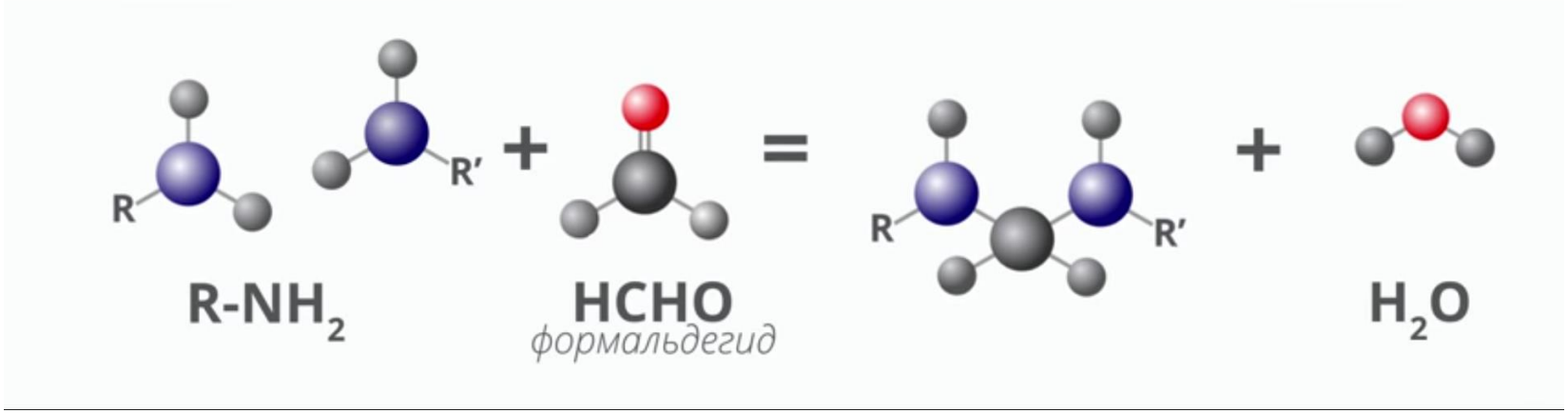
BioVitrum
www.biovitrum.ru

Если готовим формалин самостоятельно



Фиксация

Механизм фиксации 10% раствором формалина



Фиксация

BioVitrum
www.biovitrum.ru

Долабораторный этап работы с тканью

Включает в себя:

- Прижизненные манипуляции (оперативные, диагностические)
- Посмертные манипуляции (вскрытие)
- Забор материала
- Транспортировка
- Хранение материала в лаборатории

Фиксация

BioVitrum
www.biovitrum.ru

Долабораторный этап работы с тканью

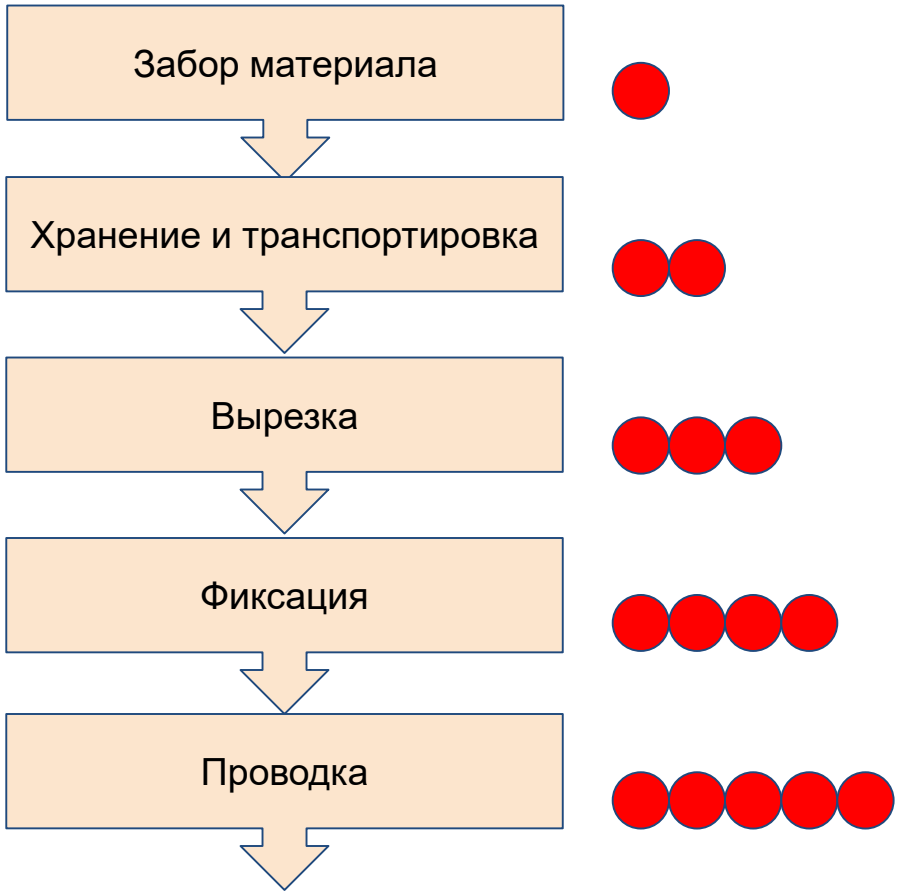
Чем ближе ошибка к началу работы с материалом, тем сложнее её исправить

Примеры:

- Неправильно наклеенное покровное стекло снять относительно легко;
- Перезалить блок нетрудно;
- Существуют методики обесцвечивания неправильно окрашенной ткани;
- Незафиксированный материал зафиксировать нельзя, он уже испорчен!

Фиксация

Накопление ошибок:



Фиксация

BioVitrum
www.biovitrum.ru

Долабораторный этап работы с тканью

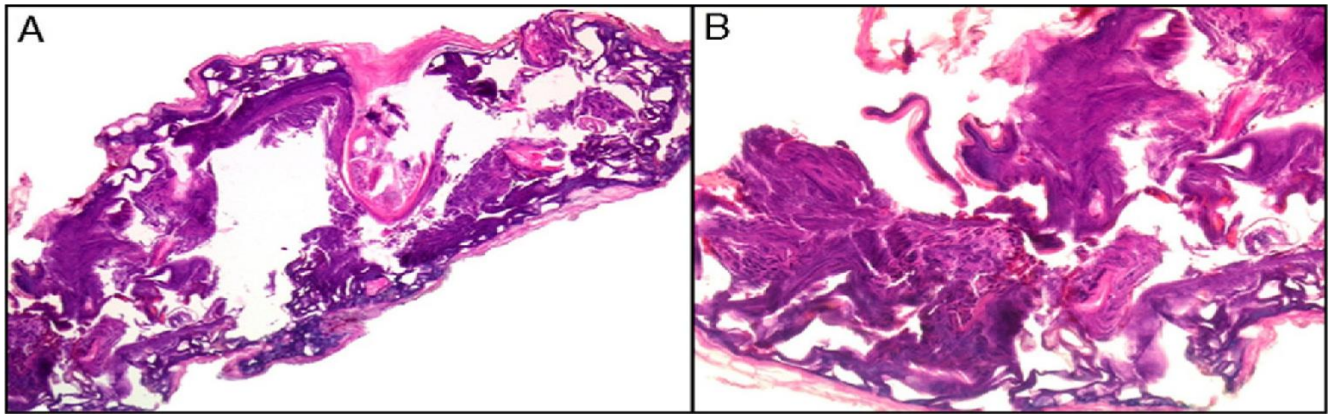
Большая часть ваших результатов находится в руках операционных сестёр, санитарок, интернов, хирургов и водителей.

С ними нужно находить общий язык!

Коммуникация с коллегами – один из важнейших аспектов для качественного исследования

Фиксация

Ошибки долабораторного этапа работы с тканью

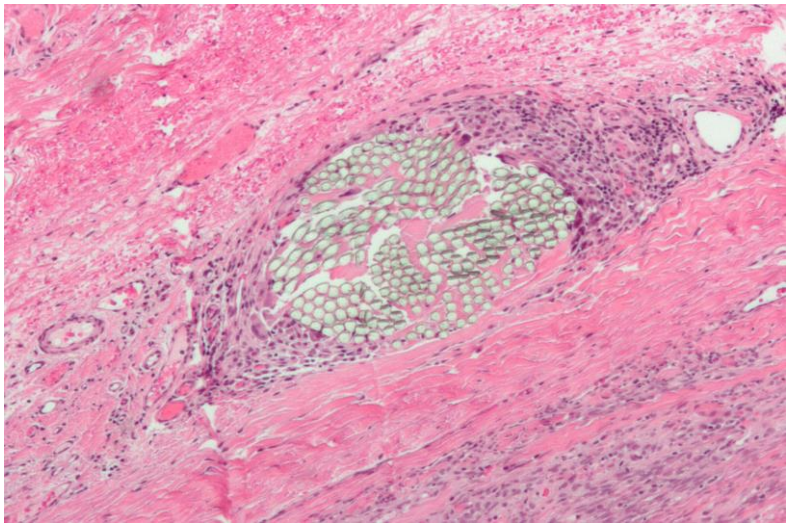


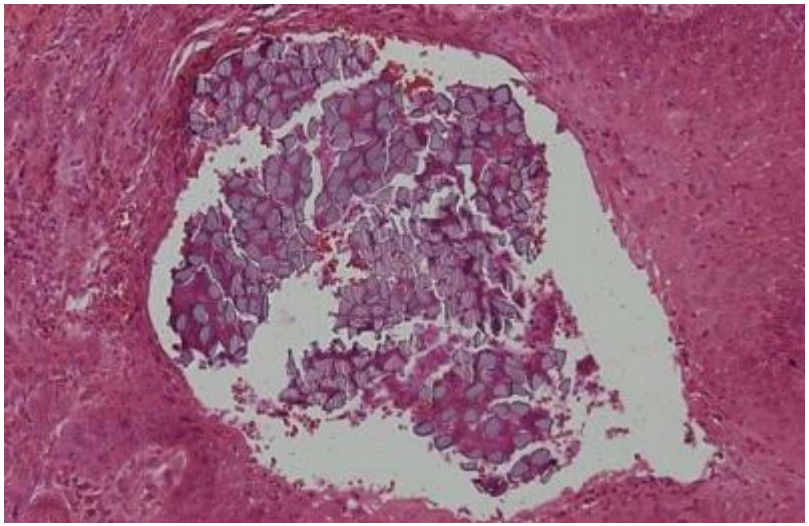
Термические повреждения

Фиксация

BioVitrum
www.biovitrum.ru

Ошибки долабораторного этапа работы с тканью



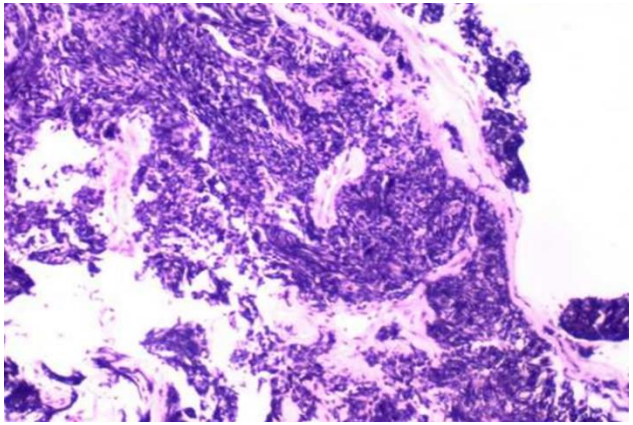


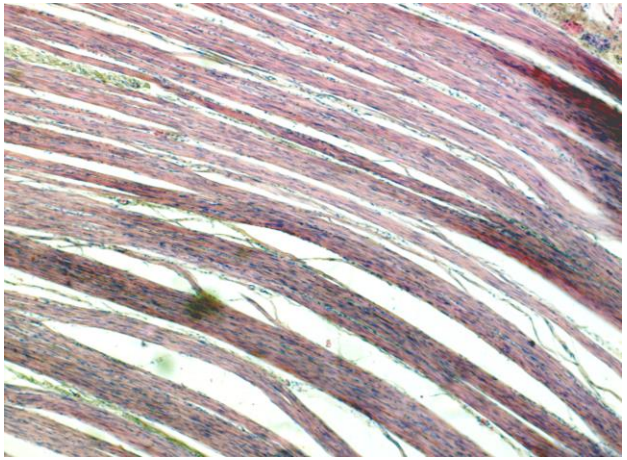
Шовный материал - обычно плотнее окружающей ткани даже после фиксации и проводки. Поэтому, возникают проблемы при микротомии.

Фиксация

Ошибки долабораторного этапа работы с тканью

Артефакты «сдавления» - встречаются относительно часто. Могут формироваться на нескольких стадиях работы с тканью: при заборе материала, при вырезке, реже – при заливке.

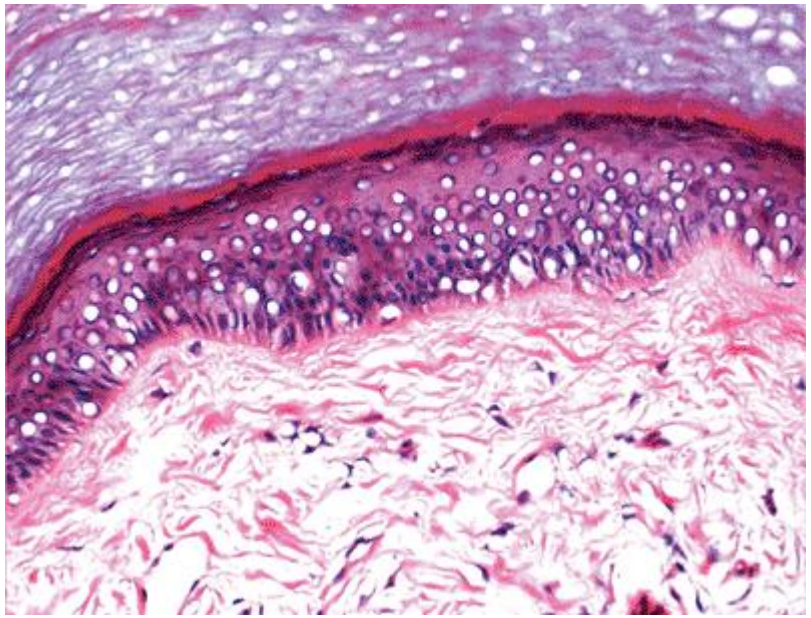




Фиксация

Ошибки долабораторного этапа работы с тканью

Артефакты «заморозки» - могут возникать на разных этапах: при ошибке персонала оперблока, при транспортировке в зимнее время (последнее встречается довольно часто, сочетается с переохлаждением формалина и потерей им фиксирующих свойств).



Фиксация

BioVitrum
www.biovitrum.ru

Ошибки долабораторного этапа работы с тканью

Температурные воздействия, включая сезонные – один из самых серьёзных факторов, незаметно влияющих на качество препаратов.

“Незаметно” — не потому, что результат не виден, а потому, что отследить это сложно.

Формалин перестал фиксировать? – проверьте, не хранится (хранился) ли он при отрицательной температуре!

Без видимых причин ухудшилось качество препаратов? – была ли резкая смена погоды, на то она могла повлиять?

Фиксация

Артефакты, связанные с фиксатором

При транспортировке свежего нефиксированного материала ***до вырезки*** нет никаких шансов, что материал профиксируется (формалин медленно проникает в ткани и может надёжно фиксировать только тонко вырезанный материал).

Зато испортить материал на этом этапе можно несколькими способами.

Фиксация

Артефакты, связанные с фиксатором – как бороться?

1. Чёткие инструкции для оперблока и других «постащиков» материала
2. Использование готовых ёмкостей с формалином.
3. Испорченный (высушенный, гнилой, без чёткой маркировки) в работу не принимать.

Фиксация

Лабораторный этап

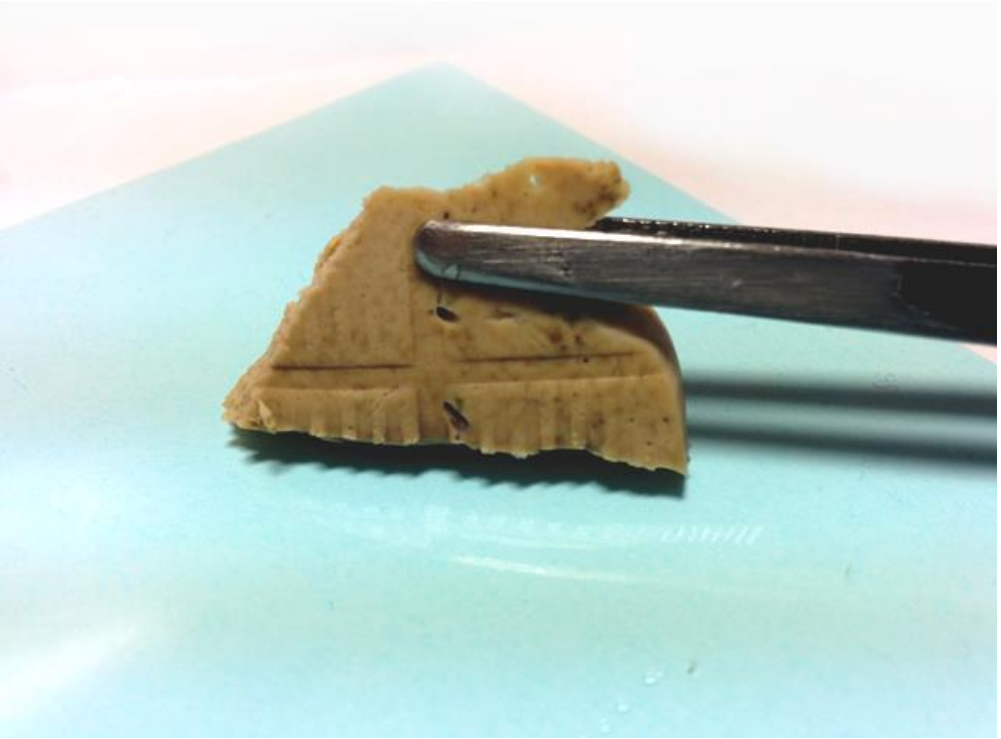
Главные требования к фиксации материала:

1) Толщина вырезки 3-4 мм
2) Соотношение материал:фиксатор 1:20
3) Время фиксации – 24 ч

Фиксация

BioVitrum
www.biovitrum.ru

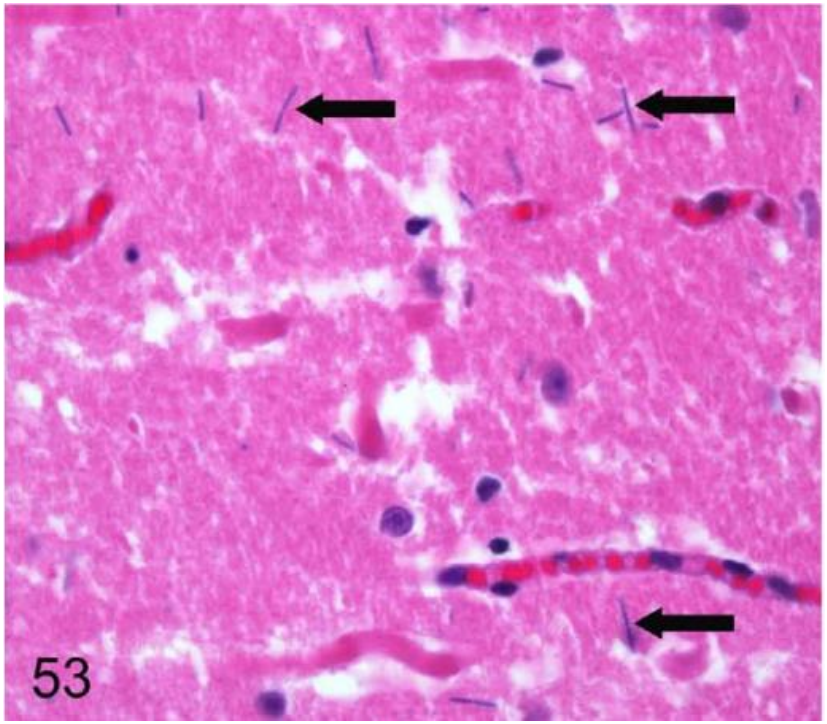
Соблюдение толщины вырезки



Фиксация

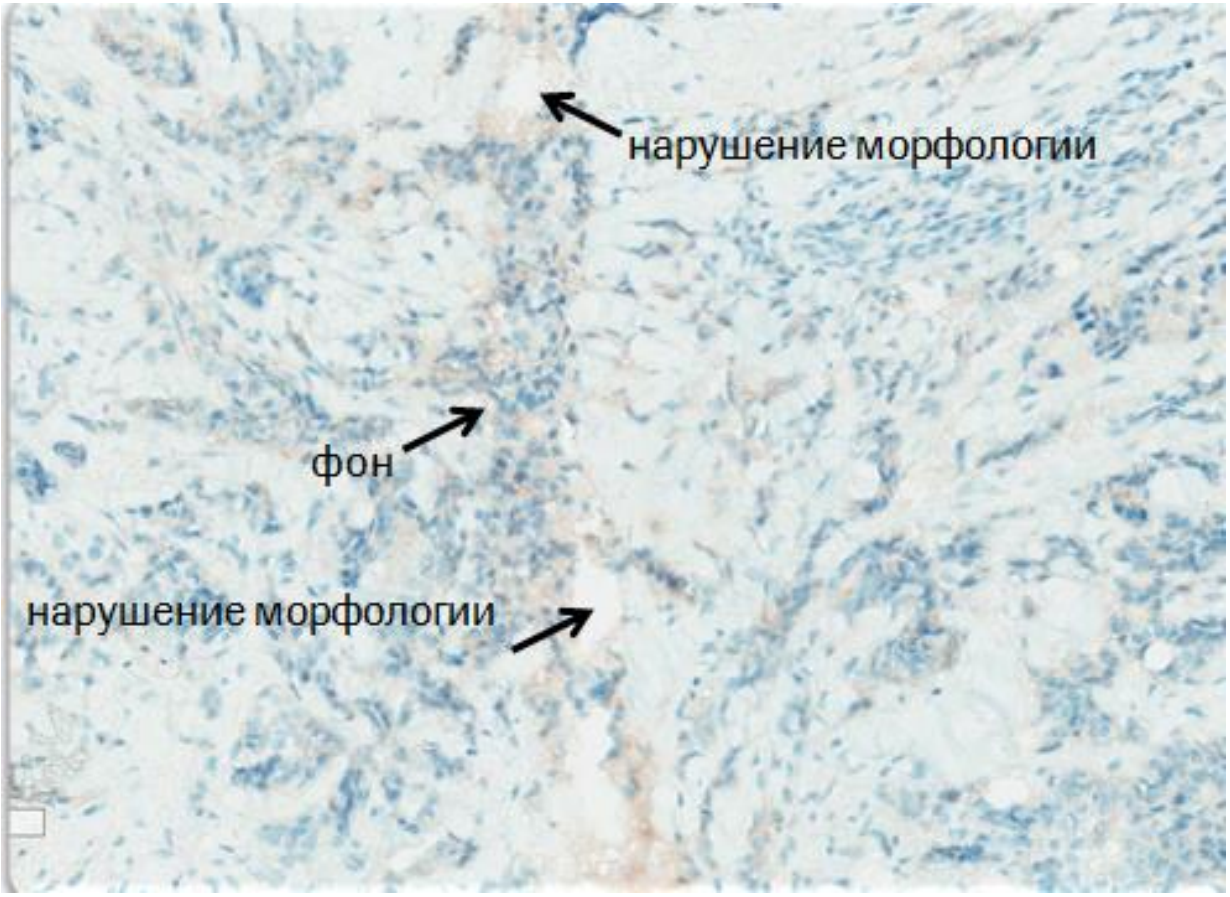
Своевременное помещение материала в формалин

В противном случае – обсеменение материала бактериями



Фиксация

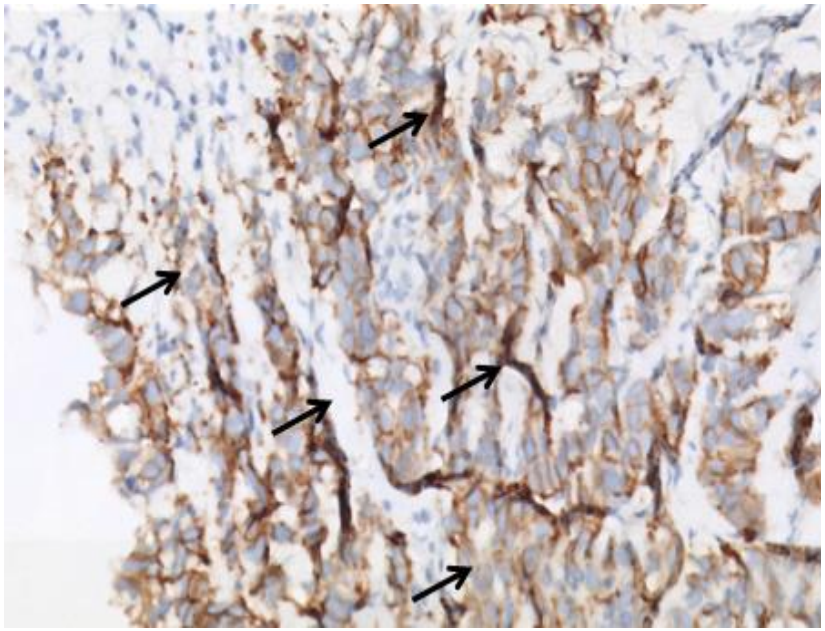
Отложенная фиксация

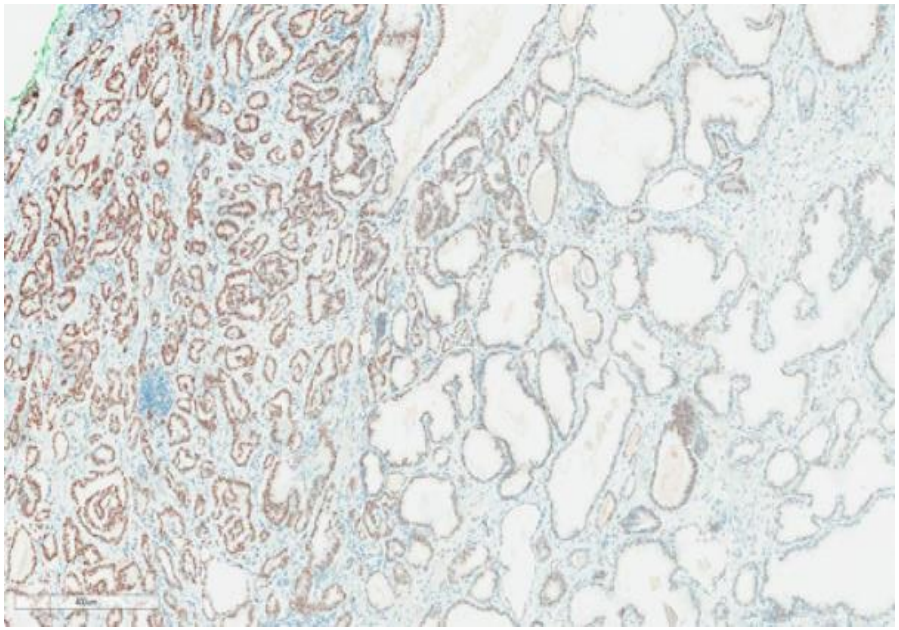


Фиксация

BioVitrum
www.biovitrum.ru

Недостаточная фиксация





Фиксация

Неравномерная фиксация – «краевой эффект»

Может возникать при использовании формалина высокой концентрации

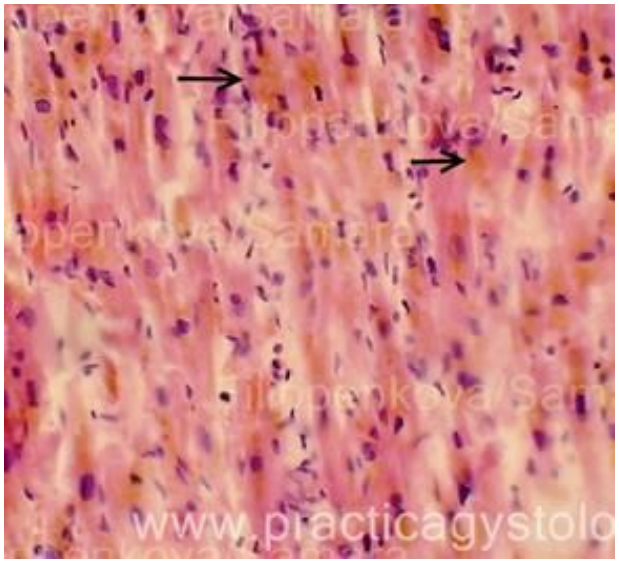
Либо при вырезке слишком толстых образцов материала

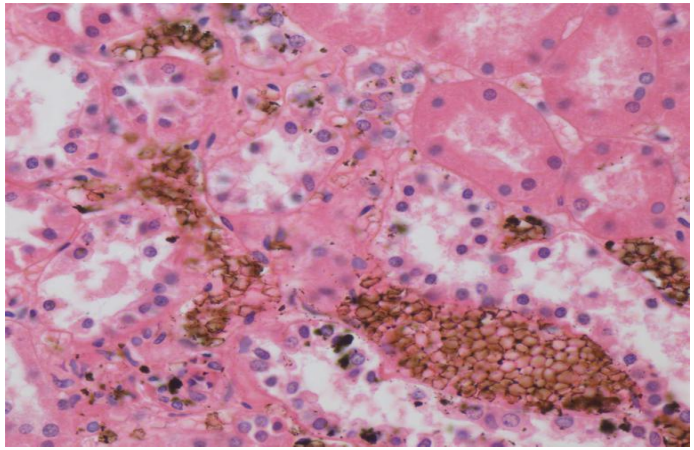
Фиксация

Формалиновый пигмент

Может возникать при использовании кислого формалина (не забуференного)

В случае, если формалин готовится в лаборатории самостоятельно, соблюдать прописи





Фиксация

BioVitrum
www.biovitrum.ru

Общие рекомендации

- Контроль за долабораторным этапом работы с материалом
- Использование готового 10% забуференного формалина
- Правильное хранение формалина
- Соотношение ткань:формалин - минимум 1:20
- Использование свежих растворов
- Достаточное время фиксации
- Правильная вырезка (толщина)

Фиксация

BioVitrum
www.biovitrum.ru

Вопросы?