



МЕДИЦИНСКИ УНИВЕРСИТЕТ – ПЛЕВЕН

ФАКУЛТЕТ „МЕДИЦИНСКИ КОЛЕЖ“ – ЦЕНТЪР ЗА ДИСТАНЦИОННО ОБУЧЕНИЕ

КАТЕДРА “МЕДИКО-ДИАГНОСТИЧНИ ДЕЙНОСТИ”

ТЕЗИС НА ТЕМАТИЧНА ЕДИНИЦА №15

ЗА РЕДОВНО ЗАНЯТИЕ И САМОСТОЯТЕЛНА ДИСТАНЦИОННА ПОДГОТОВКА ПО

„УЧЕБНА КЛИНИЧНА ПРАКТИКА”

ЗА СТУДЕНТИ ОТ МУ – ПЛЕВЕН, РЕДОВНО ОБУЧЕНИЕ, СПЕЦИАЛНОСТ

„МЕДИЦИНСКИ ЛАБОРАНТ”

ТЕМА: „Фиксация – общи правила . Видове фиксатори“

РАЗРАБОТИЛИ:
Маргарита Моллова
Красимира Лисаева
Валентина Козова
Петринка Лачовска
Тоня Пацева

Гр. Плевен

2020 год.

I. Теоретична постановка

Фиксация – общи правила

Видове фиксатори

Определение

Фиксацията представлява процес на закрепване / съхранение / на прижизнената структура на клетките и тъканите в обработваното късче. В основата на действието на фиксаторите лежат физико-химични процеси и на първо място – коагулация на белтъците. Ензимите са белтъци, което води до инактивирането им и спиране на метаболитните процеси в клетките. Така клетката се съхранява в своя прижизнен вид, дори и след отделянето и от живия организъм.

Основни изисквания към фиксаторите

1. Достатъчно бързо да проникват в тъканите т.е. да имат добра дифузионна способност.
2. Да действат “меко”, като не предизвикват груби нарушения в тъканните структури / сбръчкване, прекомерно уплътнение /.

Трябва да се има предвид, че тъканите и органите са химично и морфологично нееднородни, затова фиксаторите оказват нееднакво въздействие върху тях.

От казаното следва, **че не съществува универсален фиксатор**. Една и съща фиксираща течност може да даде напълно противоположни резултати. **Например – спирта добре фиксира гликогена, но напълно разтваря мазнините.**

Правила за фиксация

1. Размерът на тъканните късчета трябва да е такъв, че да осигури пълното му пропиване в оптимално за даден фиксатор време. Времето за фиксация се определя от дифузионната способност на фиксатора. Например: ниска дифузионна способност имат осмиевата киселина, пикриновата киселина, а висока – формалин, трихлороцетна киселина, метилов спирт и др. При фиксация с 1% осмиева киселина в продължение на 4 часа фиксатора прониква на дълбочина само 0,5-1мм., докато за същото време формалинът прониква на 4-5мм.
2. Количеството на фиксатора трябва да превишава най-малко 20пъти обема на изследвания материал, тъй като водата влизаща в състава на тъканите изменя концентрацията и свойствата на фиксатора.
3. Тъканното късче се поставя така, че да се осигури едновременното му пропиване от всички страни.
4. Точно да се спазва времето за фиксация. То се определя от вида на фиксатора и големината на материала.
5. Фиксацията е завършена, когато фиксиращата течност напълно е пропила материала – еднаква консистенция и оцветяване по цялата повърхност. Излишното престояване във фиксаторите се отразява

неблагоприятно, като предизвиква свиване или набъбване на тъканите. **Само 10% формалин и фиксатора на Буен са подходящи за по-продължително съхранение на материали.**

6. Фиксацията се извършва на стайна температура. Само при хистохимични и електронномикроскопски изследвания - на 4°C.
7. Освен фиксация на тъканни късчета, съществуват и методи на прижизнена фиксация на оргати или целия организъм чрез пропускане / **перфузия** / на фиксаторите през кръвоносните съдове / през артерия, през аорта или лява камера на сърцето /. Метода е приложим само при животни.

Видове фиксатори

1. Прости фиксатори / фиксиращи вещества /
2. Сложни фиксатори / фиксиращи смеси /

Прости фиксатори

1. **Формалин** – това е най-разпространеният и най-евтин фиксатор. В чист вид той представлява 40% воден разтвор на формалдехид. **Като фиксатор се използва 10% воден разтвор, който се приготвя от 1 част 40% формалдехид и 3 части водопроводна вода.** Солите на последната неутрализират следите от мравчена киселина и метилов алкохол, които нормално се съдържат в 40% формалдехид.

Формалина има следните свойства:

- Висока степен на дифузия;
- Способност за добро съхранение на тъканите;
- Оказва продължително фиксиращо действие / до няколко години /, без да влошава качествата на материала;
- Съхранява липидите;

Неутрализация на формалина – измерва се рН на приготвения 10% разтвор – трябва да е строго неутрално /рН 7,0/. Неутрализацията се извършва с калциев карбонат / магнезиев карбонат / в количество, че на дъното на съдът да се образува слой с дебелина 1,5-2см. или чрез добавяне капки на 7%NaOH. По този начин се неутрализира примесън на мравчена киселина и метилов алкохол, които придават на разтвора слабо кисел характер.

Продължителността на фиксация във формалин е 24-48часа.

- Продължителното съхранение във формалин придава плътност на тъканите, затрудняваща по-нататъшната обработка. Този недостатък се отстранява чрез поставяне на материала за 2 седмици в 1% AgNO₃ или 10% разтвор на лимонена киселина.
- При фиксация във формалин се появяват тъмнокафяви кристални утайки /формалинови пигменти/ - резултат на въздействието на формалина с намиращия се в кръвоносните съдове хемоглобин. Формалиновите утайки се отделят чрез поставяне на неоцветените

срезии в 1-5% амонячен разтвор или 70° етилов алкохол за 5 минути до 4 часа.

- Продължителното действие на формалиновите пари силно възпалява лигавиците. Намокрянето на кожата с формалин оказва дъбилен ефект.

2. Етилов спирт / етанол /

Най-често се използват 95° и абсолютен етилов алкохол. Фиксиращото действие на спирта се основава на отнемане на вода от тъканите и коагулация на белтъците.

Недостатъци:

- Сбръчкване на клетките, в резултат на бързото отделяне на вода;
- Разтваряне на липидите и хемоглобина;

Предимства:

- Бърза фиксация;
- Не изисква последващо обезводняване на тъканите преди включване в парафин или целоидин;
- Подходящ е за хистохимични изследвания;
- Запазва гликогена, пикочната киселина, желязото, калция, които лесно се разтварят от други фиксатори;

Продължителността на фиксация зависи от големината на материала. За тънки ципи – 15-30 минути, за късчета с големина 0,5 куб. см. от 2 до 4 часа.

3. Метилов спирт / метанол / - в микроскопската техника се използва абсолютен метилов спирт, свободен от примеси, за фиксация на кръвни натривки, миелограми. Метанола е силна отрова. Продължителност на фиксация 3 – 5 минути.

4. Ацетон – използва се за фиксация на замразени срезии, за време 5-10 минути.

Сложни фиксатори / фиксиращи смеси /

1. Течност на Мюлер

Използването в чист вид е ограничено, но служи като изходен разтвор за приготвяне на други сложни фиксатори – Ценкер, Максимов, Хели.

Състав на Мюлерова течност:

- Калиев бихромат – 2,5гр.
- Натриев сулфат – 1,0гр.
- Дестилирана вода – 100мл.

2. Течност на Ценкер / сублиматна смес /

- Течност на Мюлер – 100мл.
- Живачен двухлорид / сублимат / - 5,0гр.
- Ледена оцетна киселина – 5мл.

Тя е най- добрия фиксатор за приготвяне на обзорни препарати. Продължителността за фиксация е от 1-24 часа, в зависимост от

големината на тъканното късче. След фиксация тъканните късчета се промиват във вода за 20-24 часа, след което се поставят в 70° йодиран спирт за отделяне на сублимата. Йодираният спирт трябва да има цвят на силен чай. Отмиването на сублимата се извършва с няколко порции йодиран спирт, който се сменя на 18-24 часа, докато спирта престане да се обезцветява.

Ако ледената оцетна киселина се замени със същото количество формол, тогава фиксиращата течност се означава като фиксатор на Хели.

3. Течност на Максимов / Ценкер –формол /

Представлява видоизменена течност на Ценкер, в която ледената оцетна киселина е заменена с 10мл. формол. Използва се за хематологични изследвания. Продължителността на фиксация е 6 часа – при големина на късчето 5куб.мм.

4. Течност на Буен

Тя е един от най-добрите фиксатори, тъй като относително бързо прониква в тъканите и предизвиква незначително свиване. Използва се за фиксация на ембрионална тъкан.

Състав:

- Наситен разтвор на пикринова киселина – 75мл.
- Формол – 25мл.
- Ледена оцетна киселина – 5мл.

Продължителността на фиксация е 2-24 часа, зависи от големината на обекта. По-продължителния престой не влошава качеството на фиксацията и последващата обработка. След фиксация тъканните късчета се пренасят в 70-80° спирт за отделяне на пикриновата киселина. Спирта се сменя 2-3 пъти за 2-3 часа.

5. Течност на Карнуа – добър фиксатор е на ядрените структури и за много хистохимични методи / за доказване на НК, белтъци, полизахариди /.

Недостатък: - сбръчкване на цитоплазмата и съединителната тъкан.

Състав:

- Абсолютен етилов алкохол – 60мл.
- Хлороформ – 30мл.
- Ледена оцетна киселина – 10мл.

Продължителността на фиксация е 1-5 часа. След фиксация се пренасят веднага в абсолютен спирт за 2-3 часа.

II. Практически задачи за самостоятелна работа на студентите.

Дидактически тест

Фиксация. Общи правила. Видове фиксатори.

Име.....Фамилия.....Фак.№.....

1.Посочете двете основни изисквания, на които трябва да отговаря фиксатора.

а/.....

б/.....

2. Кое от изброените твърдения е правилно?

а/Формалинът е универсален фиксатор

б/Няма универсален фиксатор

в/Една и съща фиксираща течност може да даде напълно противоположни резултати

3.Посочете пет задължителни условия за успешна фиксация.

а/.....

б/.....

в/.....

г/.....

д/.....

4.Посочете верните отговори.

а/Фиксацията се извършва при стайна температура

б/При хистохимични и електронномикроскопски изследвания фиксацията се извършва на 4 градуса

в/Фиксацията се извършва на 37 градуса

5.Посочете верния отговор.

а/перфузията е метод за вземане на материали за хистологични изследвания

б/перфузията е метод за спешно хистологично изследване

в/перфузията е метод за приживено фиксиране на тъканите

6.Посочете верните отговори. Фиксаторите биват:

а/прости и сложни

б/елементарни и специални

в/фиксиращи вещества и фиксиращи смеси

7.Избройте четири прости фиксатори.

а/.....

б/.....

в/.....

г/.....

8.Посочете четири специални фиксатори.

а/.....

б/.....

в/.....

г/.....

9.Посочете верния отговор.

а/10% формалин се приготвя от 2части 40% формалдехид и една част вода

б/10% формалин се приготвя от 1част 40% формалдехид и три части дестилирана вода

в/10% формалин се приготвя от 1част 40% формалдехид и три части чешмяна вода

10.Посочете верния отговор.

- а/Сложните фиксатори се приготвят 1 до 2 дни преди работа
- б/ Сложните фиксатори се приготвят 1 седмица преди работа
- в/ Сложните фиксатори се приготвят непосредствено преди работа

Септември 2020 год.
Гр. Плевен
Маргарита Моллова

Изготвили:

Красимира Лисаева
Валентина Козова
Петринка Лачовска
Тоня Пацева