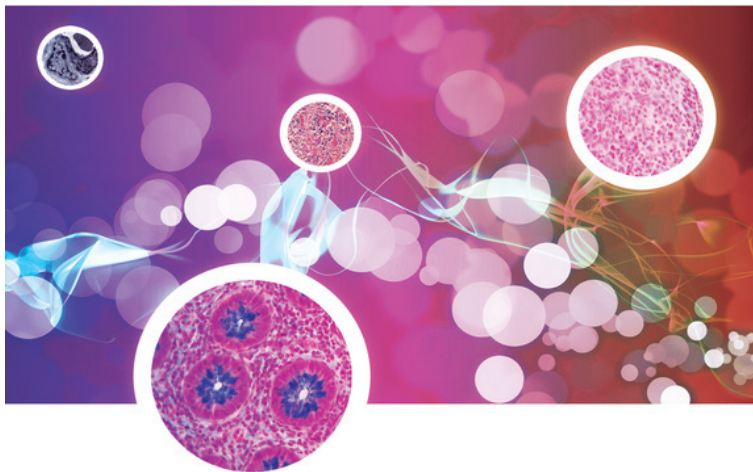


Морфологическая диагностика

Подготовка материала для гистологического
исследования и электронной микроскопии

Руководство

Под редакцией Д. Э. Коржевского



Санкт-Петербург
СпецЛит

Коллектив авторов

Морфологическая диагностика.
Подготовка материала для
гистологического исследования
и электронной микроскопии

*http://www.litres.ru/pages/biblio_book/?art=10244834
Морфологическая диагностика. Подготовка материала для
гистологического исследования и электронной микроскопии.*

*Руководство: 2013
ISBN 978-5-299-00569-1*

Аннотация

В руководстве кратко изложен материал, необходимый для освоения современных методов гистологического и ультраструктурного исследования. Приведены сведения о теоретических основах используемых методов и практических приемах, часть из которых разработана и усовершенствована авторами издания.

Справочное пособие предназначено для специалистов, применяющих в своей работе различные методы гистологического исследования и электронную микроскопию (врачей-патологоанатомов, неврологов, гематологов, бактериологов, судебно-медицинских экспертов и научных

работников), а также будет полезно для студентов биологических и медицинских факультетов, изучающих соответствующие дисциплины.

Содержание

ПРИНЯТЫЕ СОКРАЩЕНИЯ	5
ПРЕДИСЛОВИЕ	7
Раздел I	11
Глава 1	11
1.1. Общие положения	11
1.2. Фиксация материала для световой микроскопии	13
1.2.1. Ацетон	15
1.2.2. Этанол	16
1.2.3. Сложные фиксирующие жидкости, содержащие этанол	19
1.2.4. Метанол	22
1.2.5. Изопропанол	23
1.2.6. Уксусная кислота	24
1.2.7. Формалин	25
Конец ознакомительного фрагмента.	27

Морфологическая диагностика. Подготовка материала для гистологического исследования и электронной микроскопии

ПРИНЯТЫЕ СОКРАЩЕНИЯ

БСА – бычий сывороточный альбумин

ГОФП – гематоксилин-основной фуксин-пикриновая
кислота

ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота

РНК – рибонуклеиновая кислота

ОКГ – оранжевый, красный, голубой

СФУ – спирт-формалин-уксусная кислота

ШИК – шифф-йодная кислота

EDTA – этилендиаминтетрауксусная кислота

DDSA – додециловый ангидрид янтарной кислоты

DMP-30 – 3-диметиламинометилфенол

MNA – метиловый эфир надовой кислоты

PI – пропидия иодид

ПРЕДИСЛОВИЕ

Среди современных методов лабораторной и клинической диагностики морфологические методы по праву занимают одно из первых мест благодаря своей информативности и диагностическому значению. К ним относятся методы, применяемые при гистологической и цитологической диагностике в онкологии, гематологии, неврологии, патологической анатомии и судебной медицине, а также многочисленные методы лучевой диагностики, которые не рассматриваются в настоящей книге. В отдельных случаях точный диагноз не может быть установлен без использования ультраструктурного исследования (электронной микроскопии). Иногда может оказаться полезным и применение специальных методов микроскопии – поляризационной, флуоресцентной и конфокальной лазерной. Все эти морфологические методы используются и при проведении научных исследований для разработки адекватных биологических моделей заболеваний человека и создания новых лекарственных препаратов и технологий, предназначенных для лечения моделируемых заболеваний.

В связи с высокой информативностью и исключительной иллюстративностью морфологические методы исследования достаточно широко используются не только специалистами – гистологами и патологоанатомами, профессиональная под-

готовка которых предусматривает детальное изучение гистотехнологии и основ ультраструктурного исследования, но и врачами, а также научными работниками других специализаций. В этих случаях как у клиницистов, так и у научных работников иногда возникает необоснованное впечатление о простоте использования гистологических методов и легкости получения необходимой информации с их помощью. Тем не менее некоторые гистологические методы достаточно сложны даже для опытного специалиста-морфолога (современные методы электронной микроскопии, иммуноцитохимии, конфокальной лазерной микроскопии). Поэтому одной из главных задач настоящего руководства является ознакомление специалистов различных профилей с ключевым разделом гистологического и электронно-микроскопического исследования – пробоподготовкой. Без адекватной пробоподготовки невозможно получить содержательные результаты высокого качества, пригодные для диагностики и научных целей. Именно на этом этапе исследования делают большинство ошибок начинающие специалисты и формируется подавляющее большинство артефактов, способных ввести в заблуждение даже опытных аналитиков.

В представленном руководстве обобщен опыт ведущих отечественных и зарубежных специалистов в области гистологической техники и гистотехнологии. Многие из представленных протоколов в настоящее время используются при проведении исследований, выполняемых в лаборатории

функциональной морфологии центральной и периферической нервной системы в Институте экспериментальной медицины (ИЭМ). Часть из приведенных в настоящем издании сведений отражает многолетний опыт ведущей отечественной гистологической школы, созданной Николаем Григорьевичем Хлопиным и Владимиром Павловичем Михайловым, который бережно сохраняли и передали своим коллегам сотрудники лаборатории экспериментальной гистологии ИЭМ. Данные, касающиеся подготовки материала для электронной микроскопии, представлены с учетом многообразного собственного опыта авторов соответствующего раздела и методических разработок сотрудников лаборатории цитологии ИЭМ, организованной профессором А. А. Маниной.

Авторы считают своим долгом поблагодарить всех, кто способствовал выходу в свет этой книги. Особо следует отметить неоценимую помощь лаборанта-исследователя Ларисы Николаевны Шатило при отработке и проверке методов заливки гистологического материала. В работе над отдельными текстами, вошедшими в настоящую книгу, принимал участие к. м. н. А. В. Гиляров. Протокол окраски головного мозга по методу Клувера – Баррера выверен сотрудницей физиологического отдела им. И. П. Павлова ИЭМ М. А. Шкляевой. В разработке метода одновременного селективного выявления эозинофильных гранулоцитов и тучных клеток дыхательных путей принимал участие аспирант Санкт-

Петербургской химикофармацевтической академии П. А. Ворончихин. Рисунки выполнены И. С. Кирик.

Редактор руководства приносит сердечную благодарность своим учителям – доценту Людмиле Ростиславовне Сапожниковой, профессору Георгию Сильвестровичу Катинасу и члену-корреспонденту РАМН Владимиру Александровичу Отеллину.

Авторы надеются, что представленные в книге прописи и протоколы, а также сведения о производителях высококачественных реагентов, материалов и приборов для микроскопии и диагностики помогут всем, кто планирует использовать в своей повседневной работе и научных исследованиях современные методы гистологии, цитологии и электронной микроскопии.

Раздел I

ПОДГОТОВКА МАТЕРИАЛА ДЛЯ ГИСТОЛОГИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ

Глава 1

ФИКСАЦИЯ МАТЕРИАЛА ДЛЯ ГИСТОЛОГИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ

1.1. Общие положения

Фиксация – один из ключевых этапов гистологического исследования, от которого во многом зависит качество получаемого препарата. Фиксированный не по правилам или недофиксированный препарат, как правило, непригоден для микроскопического анализа, поэтому необходимо тщательно соблюдать правила фиксации и регулярно контролировать качество реагентов, используемых для приготовления фиксирующих растворов.

Фиксация обеспечивает стабилизацию и уплотнение тканевых структур. Выбор фиксирующей среды зависит от задач исследования. Объем фиксирующей жидкости должен превышать объем кусочков не менее чем в 10 раз. Кусочки в растворе не должны слипаться и скапливаться на дне банки. В большинстве случаев (если нет особых указаний) фиксацию следует проводить при комнатной температуре, поскольку охлаждение раствора ведет к замедлению процесса фиксации, а подогрев – к быстрому развитию аутолиза в центральной части фиксируемого объекта (той области, в которую не успел проникнуть фиксатор).

Важным моментом является правильное иссечение объектов, предназначенных для фиксации и дальнейшего гистологического исследования. Кусочки органов следует вырезать острым ножом или бритвой. Не рекомендуется пользоваться ножницами во избежание травмирования объектов. Нельзя сдавливать кусочки, скоблить или протирать их поверхность, особенно слизистую и серозную оболочки.

Для микроскопического исследования вырезают кусочки органов толщиной 0,5 – 1,0 см. Длина и ширина могут быть различными (обычно 1,0 × 1,5 см). При этом стараются сформировать объект с таким расчетом, чтобы получаемый срез поместился на стандартное предметное стекло. Ввиду медленного проникновения фиксатора в глубину ткани не рекомендуется брать для исследования более толстые кусочки. Кусочки сразу же помещают в фиксирующую жидкость.

Недопустимо обмывание кусочков водой перед фиксацией (это может привести к удалению объектов, имеющих диагностическое значение, и появлению артефактов).

1.2. Фиксация материала для световой микроскопии

Световая микроскопия – микроскопия в проходящем свете видимого спектрального диапазона с использованием способности различных компонентов гистологического препарата к селективному восприятию биологических красителей. Для того чтобы структуры, наблюдаемые в микроскоп, хорошо сохранялись при обработке иссеченного материала, необходимо сделать их устойчивыми к действию применяемых при проводке и окраске химических реагентов. Подобная устойчивость структур, а также уплотнение материала достигаются в ходе фиксации. Фиксация необходима и для максимального сохранения внутриклеточных и тканевых взаимоотношений, только при этом условии можно получить информативные препараты для диагностических и исследовательских целей.

Существуют физические и химические способы фиксации. К первым относятся действие высокой температуры и влияние электромагнитного излучения в сверхвысокочастотном диапазоне (микроволновая фиксация). В настоящее время высокотемпературная фиксация применяется редко.

По С. С. Вайлю, кусочки нефиксированной ткани помещают в кипящую воду на 1 – 3 мин, после чего переносят в 90 – 100 %-й этанол и после обезвоживания заливают в парафин. Р. Лилли (1969) рекомендует использовать для варки изотонический раствор хлорида натрия (0,85 – 0,90 %) и изготавливать срезы на замораживающем микротоме без заливки. В этом случае препарат можно получить через несколько минут после доставки срочной биопсии. К возникающим артефактам относят сильное сморщивание тканей и разрушение нежных структурных образований (Вайль С. С., 1934).

Микроволновая фиксация осуществляется при помощи современных лабораторных установок, позволяющих контролировать температуру обрабатываемого объекта. Преимущество этого метода перед другими способами фиксации состоит в мгновенном проникновении фиксирующего фактора во все части объекта. Экспериментальными исследованиями установлено, что оптимальная температура при микроволновой фиксации составляет 45 – 55 °С. Перегрев объекта до температур выше 65 °С ведет к появлению артефактной вакуолизации цитоплазмы и пикнотизации ядер клеток. Данный метод фиксации рекомендован при проведении срочных биопсий (Bancroft J. D. [et al.], 2002).

Химические методы фиксации основаны на влиянии на тканевые структуры различных химических веществ (спиртов, альдегидов, кетонов, кислот, солей), которые, проникая в фиксируемый материал, вызывают многообразные физи-

ко-химические процессы, приводящие к стабилизации его структуры. Различают простые и сложные (составные) фиксаторы. К первым могут быть отнесены ацетон, этанол, метанол, формалин, тетраоксид осмия. Вторая группа намного более разнообразна и включает сотни различных составных фиксирующих растворов, обладающих различными преимуществами и недостатками.

1.2.1. Ацетон

Ацетон как самостоятельное фиксирующее вещество редко применяется в гистологии из-за сильного сжатия фиксируемого материала. Тем не менее его нередко используют для фиксации цитологических мазков и криостатных срезов, выполненных из нефиксированного материала. Считается, что кратковременная фиксация ацетоном (15 мин) позволяет сохранить часть антигенов, которые разрушаются при других способах фиксации и последующей заливке объектов в парафин. По мнению Б. Ромейса (1954), фиксация чистым ацетоном имеет смысл лишь при необходимости быстрого получения гистологического препарата. Для этого кусочки органов толщиной 1 – 3 мм помещают на 1 – 3 ч в безводный ацетон, переносят на 30 мин в ацетон-бензол (1: 1), затем на 30 – 60 мин в бензол и заливают в парафин. Непосредственный перенос объектов из ацетона в парафин нежелателен, так как последний почти нерастворим в ацетоне.

1.2.2. Этанол

Для фиксации тканей применяют как чистый этиловый спирт, так и различные смеси этанола и других веществ. В практической работе этанол следует применять при фиксации нервной ткани для окраски по Нисслию и при планировании выявления гликогена. В сравнении с формалиновой спиртовая фиксация дает лучшие результаты и при выявлении железа, бактерий, амилоида. В отличие от формалина спирт обладает меньшей проникающей способностью, поэтому для фиксации берут кусочки не толще 0,5 см.

Фиксирующее действие спирта основано, прежде всего, на удалении воды из тканей – обезвоживании. Этот процесс сопровождается коагуляцией белков без существенного нарушения их антигенной структуры. Согласно Б. Ромейсу (1954), в этаноле полностью сохраняется ряд веществ, которые в других жидкостях растворяются целиком или частично. К таким веществам относятся муцины, гликоген, мочевиная кислота, железо, кальций. Напротив, жиры и жироподобные вещества, холестеринные соединения растворяются и экстрагируются. В результате потери воды и липидов цитоплазма сильно сморщивается, причем больше, чем ядро клетки. Несмотря на этот недостаток, фиксация спиртом остается незаменимой для многих специальных исследований.

Обычно этанол промышленного производства, доступный для использования в гистологических целях, соответствует двум категориям:

– *ректификат*, который представляет собой очищенный перегонкой в производственных условиях 95,5 %-й этанол (96 %-й медицинский спирт);

– *абсолютный спирт*, получаемый в результате ректификации смеси спирта, воды и бензола. Вначале тройной азеотроп указанных компонентов отгоняется до полного удаления воды, затем азеотроп спирта и бензола – до полного удаления бензола.

Получение из 96 %-го этанола абсолютного спирта в лабораторных условиях весьма затруднительно, поэтому авторы не рекомендуют использовать описанные в литературе методики с прокаливанием медного купороса (из-за низкого качества получаемого спирта) и способы с применением негашеной извести и металлического кальция (из-за высокой пожароопасности). В настоящее время денатурированный абсолютный этанол поставляется многими ведущими фирмами – производителями химических реагентов для лабораторных исследований, его могут приобрести организации, имеющие соответствующую лицензию.

Перед использованием этанола следует убедиться в том, что содержание в нем воды соответствует допустимому уровню для соответствующих методов фиксации и дальнейшей обработки материала. Содержание воды проверяют ареомет-

ром (спиртометром). При этом важно соблюдать рабочую температуру, указанную на спиртометре.

Обычно для фиксации употребляется безводный, так называемый *абсолютный спирт*. Хорошие результаты фиксации удается получить в случае, если толщина объектов не превышает 5 мм. Фиксация идет очень быстро. Для очень тонких кусочков достаточно 15 – 30 мин, при толщине 1 – 2 мм – 0,5 – 1,0 ч, при толщине 3 – 4 мм – 2 – 4 ч. Важно, чтобы препараты лежали на толстом слое ваты в большом количестве спирта, а спирт не разбавлялся проникающей из препарата водой, которая при соблюдении указанных условий будет опускаться на дно. Слой ваты создает условия для равномерной фиксации, благодаря которым спирт проникает в препарат со всех сторон.

Действию абсолютного спирта препарат подвергают в течение времени, необходимого для его полного пропитывания. Длительное воздействие абсолютного этанола чрезмерно уплотняет ткани и делает их хрупкими. Плохо пропитывающиеся объекты (особенно ткани беспозвоночных) Б. Ромейс (1954) рекомендует фиксировать в кипящем абсолютном спирте (2 – 10 мин).

Сразу же после окончания фиксации зафиксированные кусочки лучше пропитать и залить (в парафин, целлоидин либо другие среды). Если нет возможности сразу залить фиксированный препарат, то он переносится в терпинеол или 80 %-й этанол, в которых материал может длительно со-

храняться без нарушения способности к окраске и резке (Ромейс Б., 1954).

Артефактами спиртовой фиксации являются сильное сморщивание клеток и смещение клеточного и ядерного содержимого, а иногда и самих ядер к середине кусочка (по направлению проникновения фиксатора в объект).

1.2.3. Сложные фиксирующие жидкости, содержащие этанол

Сочетание этанола с другими фиксирующими веществами часто используется в научных исследованиях, поскольку позволяет в значительной мере уменьшить отрицательные свойства индивидуальных фиксирующих агентов и ускорить процесс фиксации и последующей проводки, так как в спиртовых растворах одновременно с процессом фиксации начинается обезвоживание тканей.

Сочетание этанола с формальдегидом. Существует несколько вариантов прописи фиксатора, состоящего из этанола и формалина (или параформальдегида). Чаще всего используют 5 – 10 %-й раствор формалина на основе спирта различной крепости (от 70 %-го до абсолютного). Для иммуноцитохимических исследований рекомендуется использовать 1 – 2 %-й раствор формалина (или 0,5 – 0,7 %-й раствор параформальдегида) на 80 %-м этаноле.

Для приготовления 100 мл фиксатора берут 98 мл 80 %-

го этанола и 2 мл концентрированного формальдегида. Если используется сухой параформальдегид, фиксатор удобнее готовить следующим образом. Заранее готовится 4,0 %-й водный раствор параформальдегида, который может длительно сохраняться. Для этого параформальдегид растворяют в дистиллированной воде при нагревании (проще всего закрытую емкость оставить в термостате при 37 или 56 °С на 1 – 3 сут, несколько раз перемешивая раствор в течение дня). На каждые 80 мл 96 %-го этанола добавляют по 15 мл полученного водного раствора параформальдегида.

Продолжительность фиксации для иммуноцитохимии – 18 – 24 ч, для обычных окрасок – до 48 ч при комнатной температуре. После фиксации материал в воде не промывают. Обезвоживание можно начинать с 90 – 96 %-го спирта (Коржевский Д. Э. [и др.], 2010).

Абсолютный спирт с добавлением ледяной уксусной кислоты (например, 20 мл кислоты на 100 мл спирта) быстро проникает в ткани, так что в нем могут профиксироваться за несколько часов и кусочки несколько более крупные, чем в абсолютном спирте. Способ употребления и результаты сходны с теми, которые характерны при использовании абсолютного спирта. После фиксации материал переносят еще на короткий срок в чистый абсолютный спирт. Затем следует заливка (Ромейс Б., 1954).

Жидкость Карнуа. Эта фиксирующая жидкость хорошо сохраняет структуру ядра клетки и часто применяется при

необходимости быстрой фиксации и ускоренной проводки. Фиксатор готовится менее чем за 1 ч до начала фиксации. Фиксатор состоит из абсолютного спирта (можно заменить и 96 %-м), хлороформа и ледяной уксусной кислоты в соотношениях 6: 3: 1. При фиксации в жидкости Карнуа следует вырезать кусочки толщиной не более 4 мм. Продолжительность фиксации составляет 3 – 4 ч. Длительное пребывание объектов в фиксаторе в большинстве случаев нежелательно. После жидкости Карнуа материал обезвоживают в абсолютном этаноле, после чего можно сразу приступать к заливке. В случае необходимости после фиксации и обезвоживания материал можно длительно хранить в метилсалицилате (Коржевский Д. Э. [и др.], 2010).

Спирт-цинковый фиксатор по Рейману и Унна (1912) состоит из 2 % раствора хлористого цинка в 96 %-м этаноле. Этот фиксатор Б. Ромейс рекомендует для лучшего выявления цитоплазмы клеток.

Этанол-уксусная кислота. Смесь 96 %-го этанола с ледяной уксусной кислотой в соотношении 3: 1 в англоязычной литературе иногда называют жидкостью Карнуа I, а обычную жидкость Карнуа – Карнуа II. Условия фиксации материала аналогичны условиям фиксации в жидкости Карнуа.

Спирт-формалин-уксусная кислота (СФУ). Существует несколько вариантов фиксирующих растворов, в которые входят помимо этанола формалин и ледяная уксусная кислота. Все они считаются (Лилли Р., 1969) хорошими фикса-

торами для цитоплазматических структур и являются оптимальными для стабилизации гликогена в тканях. Фиксирующие растворы готовятся в день взятия материала, поскольку их качество изменяется с течением времени. *СФУ по Лилли* состоит из 85 мл 96 %-го этанола, 10 мл концентрированного (35 – 40 %) формальдегида и 5 мл ледяной уксусной кислоты. Для лучшей стабилизации гликогена рекомендуется фиксировать материал при 0 – 5 °С в течение 24 ч. После фиксации дальнейшую проводку можно начинать с 96 %-го этанола. *СФУ по Теллесницкому* готовится из 100 мл 70 %-го этилового спирта, 5 мл ледяной уксусной кислоты и 5 мл концентрированного формальдегида. Продолжительность фиксации объектов – 18 – 24 ч. После фиксации проводку следует начинать с 80 %-го этанола. В нем объекты могут быть оставлены и для длительного хранения, поскольку тинкториальные свойства не изменяются.

1.2.4. Метанол

Метанол является высокотоксичным соединением и поэтому редко используется в гистологической практике. Однако абсолютный метанол является лучшим фиксатором для мазков крови и красного костного мозга. Традиционно его рекомендуют и для фиксации других цитологических объектов. Фиксацию мазков в метаноле осуществляют следующим образом: в герметично закрытый стакан с абсолютным

метанолом помещают предметные стекла с мазками на 5 – 10 мин, затем их извлекают и просушивают (Артишевский А. А. [и др.], 1999).

Метанол-уксусная кислота. В последнее время большое распространение получил фиксатор, состоящий из метанола и уксусной кислоты в соотношении 3: 1 (мета-Карнуа). Он рекомендован для фиксации объектов, в которых планируется выявлять аргентофильные белки ядрышкового организатора (Ag-NOR). Сроки фиксации аналогичны срокам, рекомендованным для жидкости Карнуа (Коржевский Д. Э. [и др.], 2010).

Р. Лилли (1969) приводит сведения о фиксаторе *метанолхлороформ* (2: 1; время фиксации – 12 – 48 ч), который рекомендуется для экстракции липидов из нервной ткани при комбинированной заливке в целлоидин-парафин. При использовании метанол-хлороформа возможно получение срезов толщиной 2 мкм.

1.2.5. Изопропанол

Изопропанол не применяется в гистологии в качестве самостоятельного фиксирующего вещества в связи с плохим проникновением в ткани. Однако он может быть использован в комбинации с другими веществами в составе сложных фиксаторов. В качестве примера можно привести жидкость Ньюкомера и цинк-ацетонизопропанол-формальдегид (Кор-

жевский Д. Э. [и др.], 2006).

Жидкость Ньюкомера дает примерно такие же результаты фиксации, как и жидкость Карнуа. Этот фиксатор состоит из 60 мл изопропанола, 30 мл пропионовой кислоты, 10 мл ацетона и 10 мл диоксана. Образцы тканей следует фиксировать 12 – 24 ч при комнатной температуре и затем хранить при 3 °С в свежей порции фиксатора. Для промывки после фиксации и обезвоживания следует использовать изопропанол (Лилли Р., 1969).

1.2.6. Уксусная кислота

Уксусная кислота сама по себе употребляется для фиксации очень редко, так как в чистом виде она дает плохие результаты. Очень часто ее прибавляют к другим фиксирующим жидкостям. Ледяной уксусной кислотой называют 100 %-ю уксусную кислоту, концентрированная уксусная кислота содержит 4 % воды. Фиксирующее действие уксусной кислоты распространяется в основном на структуры клеточного ядра и хромосомы.

Уксусная кислота – орсеин. 1 г орсеина растворяют в 45 мл горячей уксусной кислоты, охлаждают и добавляют 55 мл дистиллированной воды. Полученный реактив обладает одновременно фиксирующими и окрашивающими свойствами. Он хорошо окрашивает гетерохроматин и хромосомы в цитологических препаратах (Лилли Р., 1969).

1.2.7. Формалин

Формалин – наиболее распространенная и универсальная фиксирующая жидкость. Формалин хорошо проникает в ткани и потому применяется для фиксации довольно крупных объектов. Формалин придает ткани плотность, вполне подходящую для резки на замораживающем микротоме и вибраторе. Существенное преимущество формалина состоит в том, что препараты можно хранить в нем годами, у них сохраняется способность к окрашиванию наиболее часто используемыми методами (гематоксилинэозином, по Ван-Гизону). Особенно ценной является способность формалина хорошо сохранять липиды, что важно для фиксации нервной ткани. Фиксация чистым формалином менее пригодна для различных цитологических исследований, например для ядерных структур, для органов кроветворения, для обнаружения гликогена или железа. Недостатками формалина являются:

- ухудшение окраски тканей при продолжительной фиксации и хранении «влажного архива»;
- возможность выпадения формалиновых осадков;
- сильное маскирующее действие на большинство антигенов, выявляемых иммуноцитохимически.

Для приготовления формалинового фиксатора используют готовый 35 – 40 % водный раствор формальдегида (аль-

дегида муравьиной кислоты). Следует учитывать, что концентрированный раствор формальдегида обычно содержит метиловый спирт (около 10 %), который добавляют для стабилизации раствора и предотвращения полимеризации формальдегида. Формалин следует хранить в защищающих от света коричневых склянках при температуре не ниже 9 °С. При более сильном охлаждении в растворе появляется муть, которая постепенно оседает в виде белого осадка (параформальдегид и триоксиметилен). При длительном хранении раствор формальдегида медленно окисляется, происходит накопление муравьиной кислоты.

В большинстве случаев препараты удовлетворительного качества можно получить при использовании в качестве фиксирующей жидкости обычного (кислого, не нейтрализованного) 10 %-го формалина. Его готовят из концентрированного раствора формальдегида, добавляя к одной его части 9 частей водопроводной воды. Не следует использовать формальдегид с белым осадком. Часто рекомендуемый способ растворения осадка путем нагревания в вытяжном шкафу на практике мало применим. При появлении незначительного осадка в емкости с концентрированным раствором формальдегида следует уменьшить его разведение (1:6 вместо 1:9). При наличии значительного осадка раствор формальдегида становится непригодным для использования (Коржевский Д. Э. [и др.], 2010).

Конец ознакомительного фрагмента.

Текст предоставлен ООО «ЛитРес».

Прочитайте эту книгу целиком, [купив полную легальную версию](#) на ЛитРес.

Безопасно оплатить книгу можно банковской картой Visa, MasterCard, Maestro, со счета мобильного телефона, с платежного терминала, в салоне МТС или Связной, через PayPal, WebMoney, Яндекс.Деньги, QIWI Кошелек, бонусными картами или другим удобным Вам способом.