



УКРАЇНА

(19) UA (11) 44134 (13) U
(51) МПК (2009)
G01N 1/28

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ

ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

видається під
відповідальність
власника
патенту

(54) СПОСІБ ОБРОБКИ ФІКСОВАНОГО ЕМБРІОНАЛЬНОГО МАТЕРІАЛУ ДЛЯ ГІСТОЛОГІЧНОГО ДОСЛІДЖЕННЯ

1

2

(21) u200901852

(22) 02.03.2009

(24) 25.09.2009

(46) 25.09.2009, Бюл.№ 18, 2009 р.

(72) СІЛКІНА ЮЛІЯ ВАЛЕРІЇВНА, ТВЕРДОХЛІБ
ІГОР ВОЛОДИМИРОВИЧ, ГОРБУНОВ АНДРІЙ
ОЛЕКСАНДРОВИЧ, ГОРЕЛОВА НАТАЛІЯ ІВАНІВ-
НА

(73) ДНІПРОПЕТРОВСЬКА ДЕРЖАВНА МЕДИЧНА
АКАДЕМІЯ

(57) Спосіб обробки фіксованого ембріонального
матеріалу для гістологічного дослідження, що

включає зневоднення в етиловому спирті, одноразове просочування хлороформом та парафіном, який **відрізняється** тим, що зневоднення проводять, заливаючи матеріал на 24 години спочатку 70 %-ним, а потім - 100 %-ним етиловим спиртом, просочування в хлороформі і наступне просочування парафіном проводять протягом 24 годин кожне, при цьому зневоднення та просочування в хлороформі проводять при температурі 25-27 °С.

Корисна модель відноситься до медицини та біології, здебільшого до гістології, а саме до техніки виготовлення гістологічних препаратів, і може бути використана при морфологічних дослідженнях органів та тканин, що розвиваються, в гістології, анатомії, ембріології, патологічній анатомії для роботи з ембріональним матеріалом, а також для наукових цілей.

Відомий процес дегідратації та заливки в парафін (ущільнення) досліджуємих гістологічних об'єктів шляхом зневоднювання зразків тканини в двох порціях 96% або (та) абсолютного етилового спирту по 3-4 години в кожній; після цього зразки перекладають в хлороформ на 1-2 години при температурі 35-40°C, в хлороформ з парафіном на 0,5-1 годину (температура 35-40°C), в першу порцію парафіну на 1 годину і в другу на 0,5-1 годину (температура 54-55°C) з подальшою заливкою в парафін. Час від початку фіксації до заливки в парафін блоку складає щонайменше 10 годин [1].

Різні модифікації цього методу дозволяють застосовувати його для ембріонального матеріалу, але тривалість та складність гістологічної обробки збільшуються, використовуються допоміжні речовини, проте якість збереження первинних структур органів та ембріону загалом підвищується не значно, або не змінюється зовсім [2].

Найбільш близьким до корисної моделі, що пропонується, є процес заливки гістологічних препаратів, який включає фіксацію та зневоднення препарату в етиловому спирті, а також просочування парафіном [3]. Зневоднення препарату в

етиловому спирті проводять чотириразово. Просочування проводять послідовно в три етапи - в хлороформі, хлороформі з парафіном і у чистому парафіні. Фіксацію, зневоднення та перші два етапи просочування проводять при температурі 35-40°C, а третій - при температурі 56-60°C. При цьому фіксацію, зневоднення та просочування здійснюють при постійному перемішуванні.

Недоліками цього способу є термічне, хімічне та механічне пошкодження матеріалу, який може бути досить чутливим до змін середовища, температури та кількості маніпуляцій з ним.

Наведені методичні особливості приведенного способу обробки біологічних об'єктів свідчать про те, що він не придатний до використання при роботі з ембріональним матеріалом.

Це зумовлено тим, що при триманні ембріональної тканини у спиртах зазначених концентрацій та температурі протягом вказаного часу вона ущільнюється більше норми, а при обробці її сумішшю парафіну з хлороформом при температурі 37°C - часто відбувається руйнування структури ембріональних клітин, міжклітинних зв'язків, втрачає органом нативної структури.

Технічний результат від використання запропонованої нами моделі полягає в зменшенні термічного, хімічного та механічного пошкодження ембріонального матеріалу при гістологічному дослідженні, що забезпечує збереження первинної структури органів та ембріону загалом, а також зниження матеріалоемності дослідження.

UA (19) 44134 (11) 44134 (13) U

В основу корисної моделі поставлено задачу розробити такий спосіб обробки ембріонального матеріалу для гістологічного дослідження, який шляхом видозмінення алгоритму обробки зменшує травматизацію об'єктів, що досліджуються, та знижує матеріалоемність процедури.

Поставлена задача вирішується тим, що в способі обробки фіксованого ембріонального матеріалу для гістологічного дослідження, що включає зневоднення в етиловому спирті, одноразове просочування хлороформом та парафіном, зневоднення проводять, заливаючи матеріал на 24 години спочатку 70%-ним, а потім - 100%-ним етиловим спиртом, просочування в хлороформі і наступне просочування парафіном проводять протягом 24 годин кожне, при цьому зневоднення та просочування в хлороформі проводять при температурі 25 - 27°C.

Загальними ознаками корисної моделі, що збігаються з ознаками прототипу є те, що при обробці застосовуються розчини етилового спирту, хлороформ та парафін. Відмітними ознаками є те, що всі етапи зневоднення та просочування відбуваються в звичайних температурних режимах (при кімнатній температурі 25 - 27°C) та загальна кількість операцій обробки зменшена.

Обробка ембріонального матеріалу 70%-ним та 100%-ним етиловим спиртом протягом доби у кожному середовищі в достатній мірі зневоднює матеріал, не ущільнюючи його занадто, та дозволяє знизити кількість маніпуляцій із зразком, які додатково травмують його. Збільшення терміну обробки хлороформом при кімнатній температурі дозволяє відмовитись від обробки зразка сумішшю парафіну та хлороформу (так званій «парафіновій каші») при температурі 37°C, яка дуже часто травмує тканину, порушуючи її нативну структуру. Запропонований спосіб дозволяє зберегти первинну структуру ембріонального матеріалу.

Кожна із наведених ознак способу є суттєвою, бо в разі виключення будь-якої з них із вищезазначеної сукупності погіршується якість кінцевого результату, а від так, зростає кількість необхідного додаткового матеріалу та речовин для обробки, зростає термін проведення процедури, втрачається можливість використання об'єкту в ембріології, що взагалі запобігає розв'язанню поставленої задачі.

Заявлений спосіб здійснюється таким чином.

Зразок ембріонального матеріалу (чи весь ембріон) фіксують у розчині Буена (суміш льодової оцтової кислоти, насиченого водного розчину пікринової кислоти та формаліну у співвідношенні

1:15:5) або у 10%-ному нейтральному формаліні протягом доби. Після цього обережно промивають 70%-ним етиловим спиртом та залишають у ньому на 24 години, потім цей спирт зливають і заливають зразок на 24 години 100%-ним етиловим спиртом та на 24 години хлороформом. Після цього зразок заливають парафіном або парапластом. Отже, використання способу обробки ембріонального матеріалу дозволяє підготувати його за 3 доби для подальшого дослідження, зменшити травматизацію об'єкта внаслідок мінімізації кількості маніпуляцій із зразком, дозволяє зберегти первинну структуру тканини та органів, а також скоротити витрати на речовини для обробки зразка.

Експериментальне використання запропонованого методу було проведено у лабораторії кафедри гістології Дніпропетровської державної медичної академії. Були взяті ембріони щурів, мишей, курки, фіксовані у розчині Буена або у 10% нейтральному формаліні; виготовлені розчини етилового спирту (70%-го та 100%-го), хлороформ. Зразки після фіксатора було промито у 70%-ному етиловому спирті, обсушені на фільтрувальному папері, після чого склянки заливали чистим розчином 70%-ного спирту на 24 години (відношення об'єму розчину до об'єму зразка повинно становити не менше 1:10). На другу добу зразки просушували фільтраційним папером та заливали 100%-ним спиртом на 24 години. На третю добу зразки знову просушували та заливали у склянки хлороформ на 24 години. Всі розчини заливали у ті самі склянки, перевертаючи їх перед зміною розчину на фільтраційний папір для просушування. Це дозволяло мінімізувати маніпуляції з об'єктом з метою запобігання травматизації його при перенесенні у іншу склянку чи при зміні речовин. Після обробки ембріонального матеріалу, яка займала в цілому 3 доби, зразки заливали у парапласт для подальшого дослідження.

Використання способу обробки ембріональної тканини за цією трійною схемою дозволило у 100% випадків отримати збережену тканину та зменшити матеріальні витрати.

Запропонована корисна модель може бути багаторазово відтворена і використана в ембріології, гістології, анатомії, патологічній анатомії.

Джерела інформації:

1. Меркулов Г.А. Курс патогистологической техники. - Л.: Медицина - 1961. - с.50-51.
2. Ромейс Б. Микроскопическая техника /Б. Ромейс; [пер. с немец. В.Александрова]. - М.: Издательство иностранной литературы, 1953. - 718с.
3. Патент України № 11934, G01N1/28, 2006.