

**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ**

УТВЕРЖДАЮ

Заместитель министра,
Главный государственный врач
Республики Беларусь

 В.И. Ключенович

2 апреля 2003 г.

Регистрационный № 162–1202

**СПОСОБ ПРИГОТОВЛЕНИЯ МАЗКОВ
ЭНДОТЕЛИАЛЬНЫХ КЛЕТОК СОСУДОВ
ДЛЯ ФЛУОРЕСЦЕНТНОЙ МИКРОСКОПИИ**

Инструкция по применению

Учреждение-разработчик: Гомельский государственный медицинский университет

Авторы: Е.Е. Линкевич

ПОКАЗАНИЯ К ПРИМЕНЕНИЮ

Показанием для применения предлагаемого способа является исследование эндотелия сосудистой стенки на антигенные маркеры инфекционных агентов иммуноцитохимическим методом.

ПЕРЕЧЕНЬ НЕОБХОДИМОГО МЕДИЦИНСКОГО ОБОРУДОВАНИЯ, ПРЕПАРАТОВ, ИНСТРУМЕНТАРИЯ

1. Полоски фильтровальной бумаги.
2. Лоток медицинский.
3. Анатомический пинцет.
4. Брюшистый скальпель.
5. Обезжиренные предметные стекла.
6. Физиологический раствор.
7. Вариопипетка, наконечники (25 мкл).
8. Фиксатор: ацетон (х.ч.) или этанол 96%.
9. Часы.
10. Холодильник (+4° С).
11. Камера для фиксации мазков.

ОПИСАНИЕ ТЕХНОЛОГИИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ МЕТОДА

Предлагаемый способ приготовления мазков эндотелиальных клеток апробирован и используется для иммунофлуоресцентной микроскопии. Материалом для исследования служит соскоб эндотелия сосудистой стенки.

Образец исследуемого сосуда над медицинским лотком отмывается физиологическим раствором, укладывается эндотелиальной поверхностью кверху на полоску фильтровальной бумаги. На предварительно обезжиренное в смеси Никифорова предметное стекло отдельными каплями наносится физиологический раствор. Стерильным скальпелем осторожно, мягким коротким движением с интересующего участка образца сосуда производится соскоб эндотелия. Соскоб переносится скальпелем в капли физиологического раствора на предметное стекло и равномерно распределяется по объему капли. Полученные мазки высушиваются на воздухе в течение 20–30 мин и фиксируются в х.ч. ацетоне, охлажденном до

+4° С, в течение 10 мин. Для меньшей деформации эндотелиоцитов рекомендуется фиксировать мазки в 96% этаноле 5–10 мин. Фиксирование производится в камере для фиксации.

ВОЗМОЖНЫЕ ОШИБКИ И ОСЛОЖНЕНИЯ

1. Малое количество клеток эндотелия в мазке. Для предупреждения ложноотрицательного результата в иммунофлуоресцентном анализе биологический материал должен быть взят в достаточном количестве.

2. Ложноположительный результат иммунофлуоресцентного анализа. Этого можно избежать промыванием исследуемого образца сосуда физиологическим раствором для удаления остатков биологических жидкостей и использованием стерильного инструментария для каждого исследуемого участка образца сосуда.

Противопоказания: гнилостные изменения исследуемого образца.