

СОТРУДНИЧАЮЩИЕ ОРГАНИЗАЦИИ

*Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова,
государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования*

*Российская медицинская академия последипломного образования,
государственное бюджетное образовательное учреждение
дополнительного профессионального образования
Минздрава России*

*Российская академия наук,
федеральное государственное бюджетное учреждение*

КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ

*Мальков Павел Георгиевич,
руководитель курса патологической анатомии,
профессор кафедры физиологии и общей патологии
ФФМ МГУ имени М.В. Ломоносова,
доктор медицинских наук, доцент*

*Франк Георгий Авраамович,
заведующий кафедрой патологической анатомии
ГБОУ ДПО РМАПО Минздрава России,
доктор медицинских наук, академик РАН*

*Пальцев Михаил Александрович,
главный ученый секретарь Президиума Российской академии наук,
доктор медицинских наук, академик РАН*



Российское общество патологоанатомов

117418 Москва, ул. Цюрупы, д. 3, Тел./факс (499) 120-80-65
E-mail: morfolhum@mail.ru, Сайт: www.patolog.ru

Исх. № 30/01

25.06.2016 г.

г. Москва

В соответствии с полномочиями, определенными частью 2 статьи 76 федерального закона от 21 ноября 2011 г. № 323-ФЗ «Об основах охраны здоровья граждан в Российской Федерации», медицинская профессиональная некоммерческая организация «Российское общество патологоанатомов» разработала клинические рекомендации по вопросам оказания медицинской помощи на тему:

Стандартные технологические процедуры при проведении патолого-анатомических исследований RPS1.1(2016)

Общественное обсуждение проведено на официальном сайте Российского общества патологоанатомов с 18.03.2016 г. по 20.05.2016 г.

Клинические рекомендации размещены на официальном сайте Российского общества патологоанатомов, доступны по ссылке
http://www.patolog.ru/2016/clin_recom/clin_recom_standart_technol.pdf

Исключительное право на публикацию клинических рекомендаций Российского общества патологоанатомов предоставлено издательству «Практическая медицина» (115446 Москва, Каширское шоссе, 23, стр. 5).

Президент РОП
член-корреспондент РАН

Кактурский Л. В.



СОДЕРЖАНИЕ

ПРЕДИСЛОВИЕ	9
ОСНОВНЫЕ ТЕРМИНЫ И ОПРЕДЕЛЕНИЯ	12
ПРИЖИЗНЕННЫЕ ПАТОЛОГО-АНАТОМИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ	14
Унифицированные требования по оснащению помещений (операционных, манипуляционных, процедурных) для забора материала для прижизненных патолого-анатомических исследований	14
Посуда	14
Фиксирующий раствор	14
Маркировочные материалы	15
Учетная медицинская документация	15
Унифицированные требования по оформлению направлений на прижизненные патолого-анатомические исследования биопсийного (операционного) материала	20
Назначение	20
Сведения о направившем учреждении	20
Сведения о пациенте	21
Сведения о клиническом диагнозе и задаче исследования	22
Дополнительные клинические сведения	25
Сведения о направляемом материале	26
Дополнительные материалы	28
Сведения о враче, выполняющем забор материала	28
Дата направления	29
Заключительные положения	29
Унифицированные требования по организации предварительного (долабораторного) этапа работы с материалом для прижизненных патолого-анатомических исследований	29
Взятие материала	30
Консервация	30

Маркировка	32
Регистрация	34
Хранение	34
Транспортировка	35
Унифицированные требования по технологии приема материала для прижизненного патолого-анатомического исследования в патолого-анатомических бюро (отделениях)	37
Контроль полноты и качества оформления направления	38
Контроль качества фиксации материала	38
Контроль соответствия маркировки	39
Унифицированные требования по технологии регистрации материала для прижизненного патолого-анатомического исследования в патолого-анатомических бюро (отделениях)	40
Формы регистрационных журналов	43
Унифицированная процедура	46
Унифицированные требования по технологии макроскопического изучения и вырезки биопсийного (операционного) материала	48
Общие рекомендации по процедуре макроскопического изучения	48
Общие рекомендации по процедуре вырезки	51
Общие рекомендации по маркировке случаев/объектов	55
Общие рекомендации по процедуре фиксации	58
Унифицированные требования по технологии лабораторной обработки биопсийного (операционного) материала	62
Окончательная фиксация	62
Проводка	63
Заливка	69
Микротомия	76
Окраска	86
Заключение микропрепаратов под покровное стекло	91
Унифицированные требования по технологии микроскопического изучения биопсийного (операционного) материала	93
Общие рекомендации по процедуре микроскопического описания	93
Назначение дополнительных методов окраски и микроскопии	96

Востребование дополнительной клинической информации	97
Унифицированные требования по технологии архивирования первичных материалов прижизненных патолого-анатомических исследований	100
Организация архива первичной медицинской документации	100
Организация архива «сырого» материала (тканевых образцов в 10% растворе нейтрального формалина)	101
Организация архива парафиновых блоков	102
Организация архива микропрепаратов	103
Выдача архивных материалов	105

ПОСМЕРТНЫЕ ПАТОЛОГО-АНАТОМИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

ПОСМЕРТНЫЕ ПАТОЛОГО-АНАТОМИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ	109
Унифицированные требования по оформлению направлений на патолого-анатомические вскрытия	109
Унифицированные требования по подготовке тела умершего при направлении его в патолого-анатомическое бюро (отделение)	111
Маркировка	111
Хранение	111
Транспортировка	112
Унифицированные требования по технологии приема и регистрации тел умерших в патолого-анатомических бюро (отделениях)	112
Прием	112
Регистрация	113
Формы регистрационных журналов	116
Унифицированные требования по технологии принятия решения об отмене патолого-анатомического вскрытия	118
Унифицированные требования по технологии проведения патолого-анатомического вскрытия и взятия материала для микроскопического изучения	120
Общие рекомендации по процедуре макроскопического изучения	120
Общие рекомендации по процедуре вырезки секционного материала	121
Общие рекомендации по маркировке объектов	124
Унифицированные требования по технологии лабораторной обработки секционного материала	126

Унифицированные требования по технологии архивирования первичных материалов патолого-анатомических вскрытий	126
Организация архива первичной медицинской документации	127
Организация архива «сырого» материала (тканевых образцов в 10% растворе нейтрального формалина)	127
Организация архива парафиновых блоков	127
Организация архива микропрепаратов	128
Выдача архивных материалов	128
КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА МИКРОПРЕПАРАТОВ	129
Общие принципы организации контроля качества микропрепаратов	129
Критерии качества микропрепарата	130
ЛИТЕРАТУРА	132
ПРЕДМЕТНЫЙ УКАЗАТЕЛЬ	133

ПРЕДИСЛОВИЕ

Переход к медицинскому страхованию определил существенное изменение подходов к организации и планированию здравоохранения. В новых условиях важнейшим аспектом деятельности отрасли является стандартизация медицинской деятельности, необходимость которой продиктована прежде всего экономическими причинами. Так, принятая Федеральная программа государственных гарантий обеспечения граждан бесплатной медицинской помощью определяет виды медицинской помощи, предоставляемой населению бесплатно и финансируемой из средств бюджетов всех уровней, средств ОМС и других источников.

В дополнение к Программе государственных гарантий Минздравом РФ начата разработка отраслевых стандартов диагностики и лечения заболеваний, являющихся обязательной составной частью государственной программы. Федеральные стандарты по определению служат гарантом необходимости и достаточности объемов медицинской помощи в условиях финансирования, лимитированного обязательным медицинским страхованием, и обязательны для применения на всей территории Российской Федерации.

Кроме стандартов медицинской помощи, сформированных по нозологическому принципу и определяющих достаточные объемы медицинской помощи в условиях финансирования, лимитированного обязательным медицинским страхованием, в ряде отраслей здравоохранения, связанных с использованием лабораторных технологий, необходимо внедрение и технологических стандартов, могущих обеспечить унификацию применяемых технологий, методических подходов, порядков и правил выполнения соответствующих исследований.

Стандартизация патолого-анатомических исследований — задача важная не только с профессиональных (минимально необходимый объем исследования, унифицированное методическое обеспечение, формирование единых диагностических критериев, единой трактовки терминологии, единых подходов к формулировке заключений, создание условий для эффективного внешнего контроля качества исследований) и с экономических (нормы нагрузки персонала, планирование штатной численности, тарифы, материально-техническое обеспечение и прочее) позиций, но и с точки зрения технологической.

В нашей стране более 40 лет назад уже предпринимались попытки по унификации используемых в патолого-анатомической диагностике методов исследований, но это лишь одна сторона дела. За исключением самых общих требований, содержащихся в действующих нормативных докумен-

тах, совершенно не разработанными длительное время остаются важнейшие положения о порядке выполнения патолого-анатомических исследований и требования к организации технологического процесса в патолого-анатомических отделениях.

В порядке реализации положений статей 14, 67 Федерального закона от 21 ноября 2011 г. № 323-ФЗ «Об основах охраны здоровья граждан в Российской Федерации» (Собрание законодательства Российской Федерации, 2011, № 48, ст. 6724; 2012, № 26, ст. 3442, 3446) Министерством здравоохранения Российской Федерации изданы отраслевые приказы от 24 марта 2016 г. № 179н «О правилах проведения патолого-анатомических исследований» (зарегистрирован Министерством юстиции Российской Федерации от 14 апреля 2016 г., регистрационный № 41799) и от 6 июня 2013 г. № 354н «О порядке проведения патолого-анатомических вскрытий» (зарегистрирован Министерством юстиции Российской Федерации 16 декабря 2013 г., регистрационный № 30612).

Данными приказами утверждены соответствующие Правила и Порядок, а также основные формы учетной медицинской документации, используемой в работе патолого-анатомических бюро (отделений).

Ранее действовавшие приказ Министерства здравоохранения и медицинской промышленности Российской Федерации от 29 апреля 1994 г. № 82 «О порядке проведения патолого-анатомических вскрытий» (зарегистрирован Министерством юстиции Российской Федерации 1 июня 1994 г., регистрационный № 588), приказ Министерства здравоохранения СССР от 4 апреля 1983 г. № 375 «О дальнейшем совершенствовании патолого-анатомической службы в стране», приказ Министерства здравоохранения СССР от 23 октября 1981 г. № 1095 «О штатных нормативах медицинского персонала патолого-анатомических отделений (прозекторских)» и приказ Министерства здравоохранения РСФСР от 4 января 1988 г. № 2 «О состоянии и перспективах развития патолого-анатомической службы в РСФСР» признаны утратившими силу и не действующими на территории Российской Федерации.

С обновлением базы нормативных документов, регулирующих деятельность патолого-анатомических бюро (отделений), изменился и целый ряд базовых понятий, принципиально определяющих ключевые звенья технологических процессов в патолого-анатомических бюро (отделениях).

Особо важной задачей представляется стандартизация порядка выполнения патолого-анатомических исследований биопсийного (операционного) материала и требований к организации технологического процесса в крупных централизованных патолого-анатомических отделениях. Это широкий перечень вопросов, касающихся оформления первичной медицинской документации, порядка сбора, консервации, маркировки, хранения и транспортировки материала, организации приема, контроля маркировки и

регистрации материала, порядка лабораторной обработки материала, назначения и использования дополнительных методов окрасок (постановок реакций, определений), макро- и микроскопического изучения, формулировки заключения, порядка ретроспективного пересмотра и консультирования препаратов, осуществления контроля качества, организации архива первичных материалов исследования и многое другое.

Кажущаяся незначительность этих вопросов порождает массу неопределенностей и неоднозначных трактовок. В ряде случаев необходимо предпринимать усилия для налаживания технологии работ, выполняемых в клинике, таких как фиксация и хранение материала. В других же случаях следует задуматься о модификации или реорганизации собственного технологического процесса патолого-анатомического отделения.

ПРИЖИЗНЕННЫЕ ПАТОЛОГО-АНАТОМИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Унифицированные требования по оснащению помещений (операционных, манипуляционных, процедурных) для забора материала для прижизненных патолого-анатомических исследований



РИС. 1.
Контейнеры гистологические

Посуда

Для сбора биопсийного и операционного материала используются специализированные пластиковые контейнеры с герметично закрывающейся крышкой (рис. 1).

Запрет использования неспециализированной посуды

Не рекомендуется использовать для сбора биопсийного материала флаконы от медикаментов и прочую подручную посуду.

Фиксирующий раствор

Для консервации биопсийного (операционного) материала используется универсальный стандартный метод фиксации в 10% растворе нейтрального формалина¹³ (раствор параформа 4% на 5% фосфатном буфере, забуференный при pH 6,8–7,4).

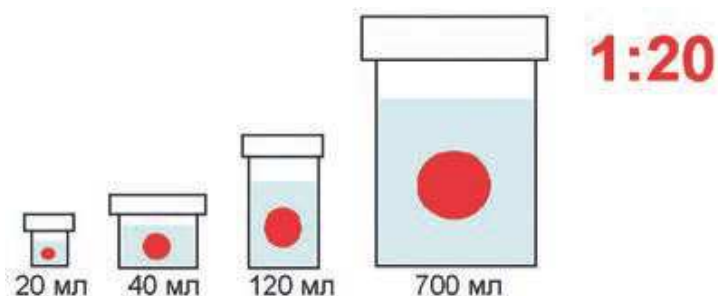
Запрет использования иных фиксирующих растворов

Запрещается использовать для консервации биопсийного (операционного) материала иных фиксирующих агентов, кроме нормативно определенных⁶, если особый способ фиксации отдельно не предусмотрен дополни-

¹³ В соответствии с пунктом 10 Правил [1].

РИС. 7

Общее правило выбора контейнеров



Уменьшение объема фиксирующей жидкости по отношению к объему помещенных в нее тканевых фрагментов недопустимо, так как всегда приводит к ухудшению качества фиксации тканей.

Последовательность действий медицинского персонала при взятии материала на патолого-анатомическое исследование:

- 1) выбрать контейнер подходящего типа (см. табл. 1);
- 2) открыть контейнер;
- 3) погрузить биопсийный материал в фиксирующую жидкость;
- 4) плотно завинтить крышку контейнера;
- 5) произвести маркировку контейнера (см. раздел «Маркировка»);
- 6) заполнить направление по форме № 014/у;
- 7) сверить данные маркировки контейнера с данными направления;
- 8) хранить плотно закрытый контейнер до отправки.

Запрет содержания иссеченного материала без фиксирующей жидкости

Во избежание аутолитических изменений и высушивания тканей запрещается оставлять тканевые образцы не погруженными в фиксирующую жидкость, например на открытом воздухе и на гигроскопичных поверхностях.

Маркировка

Каждый флакон с образцами должен быть правильно и полно маркирован сразу после взятия.

Данные, размещаемые на этикетке флакона, должны четко соответствовать данным направления, чтобы исключить ошибки в идентификации флаконов при приеме материала в патолого-анатомическом отделении.

Маркировка материала обязательно должна содержать следующие сведения (рис. 8):

- 1) краткое наименование медицинской организации;
- 2) регистрационный номер материала (из журнала регистрации биопсийного (операционного), направляемого для прижизненного патолого-анатомического исследования);



РИС. 18

Кассеты гистологические для проводки и заливки тканевых образцов. Размер поля для записи 25 × 5 мм

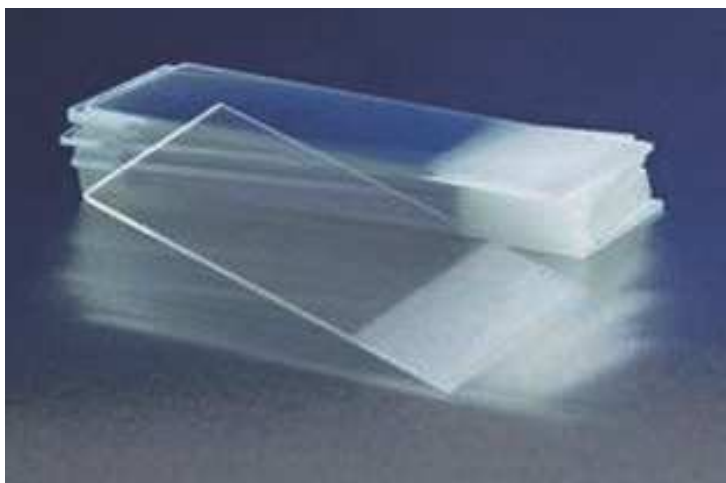


РИС. 19

Стекла предметные гистологические. Размер поля для записи 24 × 20 мм



РИС. 20

Стекла предметные гистологические с цветным полем для записи



РИС. 21

Кассеты гистологические, маркированные с помощью специализированного принтера гистологического для кассет

Унифицированные требования по технологии лабораторной обработки биопсийного (операционного) материала

Подбор оборудования для проводки следует осуществлять исходя из фактически сложившегося объема материала с учетом рекомендуемой средней нагрузки на аппарат (табл. 3).

ТАБЛИЦА 3

Рекомендуемые нормы нагрузки на оборудование

№ п/п	Основные типы гистологического лабораторного оборудования	Единица измерения	Норматив нагрузки
1	Станция для макроскопического изучения и вырезки	объектов ³³ на аппарат в год	20 000
2	Процессор тканевой карусельного типа	то же	15 000
3	Процессор тканевой процессорного типа	то же	60 000
4	Станция для заливки и изготовления парафиновых блоков	то же	20 000
5	Автомат для окраски гистологических препаратов	микропрепаратов ³⁴ на аппарат в год	75 000
6	Автомат для заключения гистологических препаратов	то же	15 000

Окончательная фиксация

При аппаратных методах проводки всегда следует первым шагом устанавливать окончательную фиксацию материала продолжительностью не менее 2–3 часов, независимо от того, насколько полноценно материал зафиксирован до загрузки в аппарат. Этого времени, при адекватных размерах кусочков, как правило, достаточно, чтобы нивелировать незамеченные недостатки предварительной фиксации материала. Но и при этом не следует помещать в одну корзину (реакционную емкость) кассеты со слишком разнородным материалом. Загрязняющие фиксирующую жидкость примеси крови от соскобов эндометрия или жира от жировой клетчатки и атером могут ухудшить качество фиксации других тканевых образцов и, кроме того, будут способствовать увеличению расхода фиксирующей жидкости, которую придется менять перед каждым новым циклом проводки.

³³ В соответствии с частью 1 пункта 28 Правил [1].

³⁴ В соответствии с частью 2 пункта 28 Правил [1].

32. Перед переносом стекол на сушку с них необходимо удалить избыток воды в вертикальном положении путем стекания и промокивания. Если стекло нормально обезжирено и не загрязнено, то избыток флотационной жидкости легко стекает с его поверхности. Если вода не удаляется со стекла перед сушкой, это может привести к деформации срезов, связанной с различной теплоемкостью стекла, воды и парафина.
33. Предпочтительно сушить срезы в решетках для окраски в вертикальном положении (рис. 29) и при комнатной температуре. Это существенно уменьшит оседание на поверхность предметного стекла частичек пыли из окружающего воздуха и исключит термические повреждения срезов.
34. Высушивание срезов на нагревательных плитках может быть причиной появления деформаций, перерастяжений и разрывов срезов, связанных с различной теплоемкостью стекла, воды и парафина, и так называемых тепловых пятен (участков неравномерного окрашивания препарата), связанных с плавлением парафина и пережиганием самого тканевого среза.

Унифицированная процедура микротомии

1. Поместить блоки, приготовленные для микротомии, в холодильник, или в охлаждающий модуль, или на поверхность льда для охлаждения.
2. Закрепить лезвие в держателе ножа микротома и максимально отвести держатель ножа от объектодержателя. Установить требуемый угол наклона ножа и надежно закрепить все регулировочные винты узла держателя ножа.
3. Вставить блок в объектодержатель. Блок должен четко подходить к крепежным элементам объектодержателя специальными выступами. Если на основании блока имеются потеки излишнего парафина,



РИС. 29

Пример правильной организации сушки микропрепаратов после микротомии

- мешающие его правильному расположению в держателе, их следует удалить. Следует также обратить внимание, чтобы поверхность блока не была влажной и не содержала замерзших капель воды.
4. Осторожно подвести блок держателя ножа к тканевому блоку, в непосредственной близости ножа к поверхности реза блока перейти к режиму механической подачи до появления первого среза парафина.
 5. Выполнить подрезку блока в режиме тримминга до получения максимальной площади среза тканевого образца, причем для окончательной полировки поверхности реза толщина последних 2–3 срезов при тримминге не должна превышать 3–5 мкм.
 6. Проверить, очищена ли от остатков срезов с предыдущего блока поверхность флотационной жидкости в водяной бане.
 7. Приготовить и промаркировать необходимое количество предметных стекол, исходя из количества окрасок, назначенных для данного блока.
 8. Приступить к штатной микротомии. При нормальном качестве фиксации, проводки и заливки современные ротационные микротомы позволяют на валовом материале изготавливать парафиновые срезы стандартно толщиной не более 3 мкм.
 9. Изготовить серию из нескольких последовательно получаемых срезов, слегка придерживая ленту за первый срез.
 10. Перенести ленту срезов на поверхность флотационной жидкости в водяную баню для расправления.
 11. Выбрать срезы, пригодные для изготовления микропрепаратов. Никогда не следует выбирать первый и второй срезы: они всегда толще остальных срезов в серии из-за теплового расширения парафина на поверхности блока.
 12. Перенести отобранные срезы на заранее подготовленные и промаркированные предметные стекла, удалить излишки флотационной жидкости со стекол и поместить их в решетку для высушивания.

Окраска

Выбор оборудования для окраски препаратов³⁸

Для автоматической окраски парафиновых срезов используются специальные приборы — автостейнеры. Это современные роботизированные

³⁸ В связи с постоянным обновлением реальные технические параметры современных образцов приборов могут отличаться от приведенных в этом разделе, некоторые модели могут быть сняты с производства.

Заключение микропрепаратов под покровное стекло

Выбор оборудования для заключения препаратов³⁹

Для автоматического заключения окрашенных срезов используются современные роботизированные системы заключения срезов на предметных стеклах. Существует два принципиально различных технических решения приборов этого типа: заключение окрашенного среза под покровное стекло с использованием специализированных гистологических монтирующих сред (традиционное техническое решение) и заключение окрашенного среза под специальную пленку без использования монтирующих сред (совместная разработка Sakura и FujiFilm).

Коверслиперы на основе традиционной технологии заключения среза под покровное стекло на рынке представлены моделями Leica CV5030 (Germany), Microm CTM6 (Germany), Sakura Glas (Japan) и Shandon Consul Automated Coverslipper (United Kindom).

Технология роботизированного заключения микропрепарата под покровное стекло во всех представленных приборах практически идентична, предполагает использование любых специализированных гистологических монтирующих сред и длинных покровных стекол (24 × 50/60 мм, так как при накрывании микропрепарата стекло захватывается двумя присосками и при покрывании подвергается изгибанию).

Принципиальное позитивное отличие Leica CV5030 состоит в технической возможности его конфигурации в единый роботизированный комплекс с автостейнерами Leica ST5010 (с использованием станции переноса Leica TS5015) или Leica ST5020 (с использованием станции переноса Leica TS5025), при этом корзина с окрашенными стеклами автоматически переносится в коверслипер, и после заключения выгружаются уже готовые микропрепараты.

При работе с Microm CTM6, Sakura Glas и Shandon Consul Automated Coverslipper перенос стекол из автостейнера в коверслипер осуществляется вручную.

При планировании приобретения этих приборов необходимо предусмотреть достаточное количество дополнительных контейнеров для выгрузки готовых микропрепаратов и специализированных гистологических монтирующих сред, исходя из показателей производительности отделения.

Кроме того, при планировании текущего материально-технического обеспечения отделения важно иметь в виду, что с этими приборами воз-

³⁹ В связи с постоянным обновлением реальные технические параметры современных образцов приборов могут отличаться от приведенных в этом разделе, некоторые модели могут быть сняты с производства.