

РОССИЙСКОЕ ОБЩЕСТВО ПАТОЛОГОАНАТОМОВ

**СТАНДАРТНЫЕ
ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ ПРОЦЕДУРЫ
ПРИ ПРОВЕДЕНИИ ПАТОЛОГО-
АНАТОМИЧЕСКИХ
ИССЛЕДОВАНИЙ**

Клинические рекомендации

RPS1.1(2016)

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

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, являются гарантом необходимости и достаточности объемов медицинской помощи в условиях финансирования, лимитированного обязательным медицинским страхованием, являются обязательными 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, правил и порядков 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 пр.) 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 документах, 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 патологоанатомической 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 патологоанатомической 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 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.

СОДЕРЖАНИЕ

Основные термины и определения	11
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	15
Маркировочные материалы	15
Учетная медицинская документация	16
Унифицированные требования по оформлению направлений на прижизненные патолого-анатомические исследования биопсийного (операционного) материала	20
Унифицированные требования по организации предварительного (долабораторного) этапа работы с материалом для прижизненного патолого-анатомического исследования	29
Взятие материала	30
Консервация	31
Маркировка	34
Регистрация	36
Хранение	37
Транспортировка	37
Унифицированные требования по технологии приема материала для прижизненного патолого-анатомического исследования в патолого-анатомических бюро (отделениях)	40
Унифицированные требования по технологии регистрации материала для прижизненного патолого-анатомического исследования в патолого-анатомических бюро (отделениях)	44
Формы регистрационных журналов	47
Унифицированная процедура	52
Унифицированные требования по технологии макроскопического изучения и вырезки биопсийного (операционного) материала	53
Общие рекомендации по процедуре макроскопического изучения	53

Общие рекомендации по процедуре вырезки	56
Общие рекомендации по маркировке объектов	60
Общие рекомендации по процедуре фиксации	66
Унифицированные требования по технологии лабораторной обработки биопсийного (операционного) материала	69
Окончательная фиксация	69
Проводка	69
Заливка	77
Микротомия	86
Окраска	98
Заключение микропрепаратов под покровное стекло	103
Унифицированные требования по технологии микроскопического изучения биопсийного (операционного) материала	106
Назначение дополнительных методов окраски и микроскопии	109
Востребование дополнительной клинической информации	110
Унифицированные требования по технологии архивирования первичных материалов прижизненных патолого-анатомических исследований	113
Организация архива первичной медицинской документации	114
Организация архива «сырого» материала	114
Организация архива парафиновых блоков	116
Организация архива микропрепаратов	118
Выдача архивных материалов	120
Посмертные патолого-анатомические исследования	124
Унифицированные требования по оформлению направлений на патолого-анатомические вскрытия	124
Унифицированные требования по подготовке тела умершего при направлении его в патолого-анатомическое отделение	126
Маркировка	126
Хранение	126
Транспортировка	127
Унифицированные требования по технологии приема и регистрации тел умерших в патолого-анатомических бюро (отделениях)	128
Прием	128
Регистрация	129
Формы регистрационных журналов	129

Унифицированные требования по технологии принятия решения об отмене патолого-анатомического вскрытия	134
Унифицированные требования по технологии проведения патолого-анатомического вскрытия и взятия материала для микроскопического изучения	136
Общие рекомендации по процедуре макроскопического изучения	136
Общие рекомендации по процедуре вырезки секционного материала	138
Общие рекомендации по маркировке объектов	141
Общие рекомендации по процедуре фиксации	143
Унифицированные требования по технологии лабораторной обработки секционного материала	143
Унифицированные требования по технологии архивирования первичных материалов патолого-анатомических вскрытий	144
Организация архива первичной медицинской документации	144
Организация архива «сырого» материала	145
Организация архива парафиновых блоков	145
Организация архива микропрепаратов	145
Выдача архивных материалов	146
Контроль качества микропрепаратов	147
Предметный указатель	150
Литература	

ОСНОВНЫЕ ТЕРМИНЫ И ОПРЕДЕЛЕНИЯ

Вырезка – иссечение кусочков тканей (тканевых образцов) и помещение их в фиксирующие растворы¹.

Заливка – технология изготовления парафиновых блоков, состоящая из процедуры монтирования тканевых образцов после проводки в специальных заливочных формах, заливки их парафином и последующим отверждением².

Макроскопическое изучение – внешнее изучение, измерение, взвешивание и описание изменений тканей и органов, представленных в биопсийном (операционном) или секционном материале с составлением текста макроскопического описания³.

Маркировка – процедура нанесения на первичные материалы исследования (направление, посуду с тканевыми образцами, парафиновые блоки, микропрепараты) обозначений или номеров, позволяющих идентифицировать их в общей массе направляемых на исследование или исследуемых материалов⁴.

Микропрепарат – тканевой срез, полученный с помощью технологии микротомии или криомикротомии, смонтированный на предметном стекле и окрашенный какой-либо окраской для дальнейшего микроскопического изучения⁵.

Микроскопия (микроскопическое изучение) – изучение микроскопических изменений тканей и органов, представленных в биопсийном (операционном) или секционном материале с составлением текста микроскопического описания⁶.

¹ Часть 2 пункта 16 Правил проведения патолого-анатомических исследований, утвержденных приказом Минздрава России от 24 марта 2016 г. № 179н (далее – Правила) [1].

² Часть 3 пункта 16 Правил [1].

³ Часть 1 пункта 16 Правил [1].

⁴ Пункт 10 Правил [1].

⁵ Часть 3 пункта 16, пункт 29 Правил [1].

⁶ Часть 4 пункта 16, пункт 18 Правил [1].

Микротомия – технология изготовления парафиновых или замороженных срезов, с последующим монтированием их на предметные стекла и высушиванием для дальнейшего окрашивания².

Объект – тканевой образец, иссеченный фрагмент органа (ткани), нативный, или зафиксированный, или в виде замороженного блока, или залитый в парафиновый блок, предназначенный для микроскопического (или с помощью иных методов) изучения⁷.

Окраска (постановка реакции, определение) – технология окрашивания (контрастирования) тканевых срезов, основанная на различных химических и других реакциях, проводимых непосредственно в тканевом срезе (*in situ*), и имеющая своей целью сделать тканевой срез пригодным для микроскопического изучения (*микроскопия*); включает в себя процедуры депарафинизации, доведения до воды, непосредственно окрашивание (постановка реакции, определение), просветление, обезвоживание, заключение под покрывное стекло и высушивание⁸.

Парафин – специализированный расходуемый материал для гистологии, представляет собой высокоочищенную, гомогенизированную смесь тугоплавких парафинов и пластификаторов, предназначен для гистологической *проводки* и *заливки* тканевых образцов⁹.

Парафиновый блок – фрагмент застывшего парафина, смонтированный на гистологической кассете или на заливочной форме, и содержащий тканевой образец⁹.

Патолого-анатомическое исследование – изучение макро- и микроскопических изменений фрагментов тканей, органов или последов (далее - биопсийный (операционный) материал)) в целях определения диагноза заболевания, мероприятий по лечению пациента или получения данных о причине смерти человека¹⁰.

Прижизненное патолого-анатомическое исследование биопсийного (операционного) материала – патолого-анатомическое исследование биопсийного (операционного) материала в целях определения и диагноза заболевания¹¹.

⁷ Часть 1 пункта 28 Правил [1].

⁸ Часть 3 пункта 16, пункт 27, часть 2 пункта 28 Правил [1].

⁹ Часть 3 пункта 16, пункт 29 Правил [1].

¹⁰ Пункт 2 Правил [1].

¹¹ Пункт 8 Правил [1].

Посмертное патолого-анатомическое исследование (патолого-анатомическое вскрытие) – патолого-анатомическое исследование внутренних органов и тканей умершего человека, новорожденных, мертворожденных и плодов в целях определения причины смерти и диагноза заболевания¹².

Проводка – технология лабораторной обработки тканевых образцов, включающая процессы обезвоживания ткани и пропитывания ее парафином².

¹² Пункт 2 Порядка проведения патолого-анатомических вскрытий, утвержденных приказом Минздрава России от 6 июня 2013 г. № 354н (далее – Порядок) [2].

ПРИЖИЗНЕННЫЕ ПАТОЛОГО-АНАТОМИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

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

Посуда

Для сбора биопсийного и операционного материала используются специализированные пластиковые контейнеры с герметично закрывающейся крышкой.

Запрет использования не специализированной 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 формальдегида 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 предусмотрено

¹³ В соответствии пунктом 10 Правил [1].

дополнительными специальными методами, применяемыми в рамках патолого-анатомического исследования по данному случаю.

Запрещается использовать для консервации биопсийного (операционного) материала иных жидкостей, находящихся в операционных, манипуляционных, смотровых, эндоскопических, гинекологических, хирургических, пункционных отделений (кабинетов) медицинских организаций – таких как спирт этиловый 70%, спирт этиловый 95%, кислота уксусная 3%, перекись водорода 3%, натрий хлорид 0,9% и других.

Маркировочные материалы

Для маркировки контейнеров, мешков или иных емкостей с биопсийным (операционным) материалом следует использовать маркировочные средства, не смываемые водой, спиртами и органическими растворителями.

Для маркировки рекомендуется использование грифельных карандашей средней мягкости (*рис. 2*). Использование специальных маркеров-краски с водо- и термостойкими несмываемыми чернилами на масляной основе ограничено допустимо.

Запрет использования легко смывающихся маркеров

Запрещается использовать для маркировки контейнеров, мешков или иных емкостей с биопсийным (операционным) материалом маркировочные средства, смываемые водой, спиртами и органическими растворителями, в том числе – так называемых перманентных маркеров с водостойкими чернилами на спиртовой основе.

Учетная медицинская документация

Журнал регистрации биопсийного (операционного) материала, направляемого для прижизненного патолого-анатомического исследования

В операционных, манипуляционных, смотровых, эндоскопических, гинекологических, хирургических, пункционных отделений (кабинетов) медицинских организаций рекомендуется вести «Журнал регистрации биопсийного (операционного) материала, направляемого для

прижизненного патолого-анатомического исследования»¹⁴ с указанием следующих сведений:

- 1) регистрационный номер направившей медицинской организации;
- 2) дата направления;
- 3) фамилия и инициалы пациента;
- 4) дата рождения пациента;
- 5) наименование структурного подразделения направившей медицинской организации;
- 6) номер флакона (фрагмента тканей);
- 7) количество тканевых образцов во флаконе (фрагменте тканей).

Все данные, занесенные в «Журнал регистрации биопсийного (операционного) материала, направляемого для прижизненного патолого-анатомического исследования» должны соответствовать аналогичным данным из направления по форме № 014/у «Направления на прижизненное патолого-анатомическое исследование биопсийного (операционного) материала» и маркировке флаконов (фрагментов тканей).

Бланки направлений на прижизненное патолого-анатомическое исследование биопсийного (операционного) материала

Для оформления направления на прижизненное патолого-анатомическое исследование биопсийного (операционного) материала предназначена форма учетной медицинской документации № 014/у «Направления на прижизненное патолого-анатомическое исследование биопсийного (операционного) материала» (далее – Направление)¹⁵.

Бланк направления должен быть распечатан типографским способом на одной стороне листа формата А4.

При наличии в медицинской организации электронного документооборота, допускается использование электронных аналогов формы № 014/у.

¹⁴ Не является утвержденной формой учетной медицинской документации.

¹⁵ Форма № 014/у «Направление на прижизненное патолого-анатомическое исследование биопсийного (операционного) материала» утверждена приложением № 2 к приказу Минздрава России от 24 марта 2016 г. № 179н [1]

Унифицированные требования по оформлению направлений на прижизненные патолого-анатомические исследования биопсийного (операционного) материала

Полный текст порядка заполнения формы № 014/у приведен в издании «Патолого-анатомические исследования. Нормативные документы (2016)» [3]. Здесь будут обсуждаться требования, не формализованные ни в каком другом нормативном документе.

Назначение

Используется при *диагностических (лечебных)* манипуляциях (операциях) в женских консультациях, гинекологических, эндоскопических, хирургических и иных отделениях, кабинетах для направления *тканевого* биологического материала (биопсии эндоскопические, пункционные, аспирационные, эксцизионные и операционный материал) на *диагностическое* гистологическое исследование.

Сведения о направившем учреждении

Штамп направившей медицинской организации ставится в левом верхнем углу направления, отпечаток штампа должен быть четким и разборчивым, чтобы исключить неверное прочтение наименования, адреса и телефонов учреждения; запись кратких наименований лечебно-профилактических учреждений от руки не допускается.

Отделение, направившее биопсийный (операционный) материал (пункт 1) – важно заполнить, писать полностью, без сокращений, четко и разборчиво, чтобы исключить неверное прочтение, при необходимости – печатными знаками, а также проследить за тем, чтобы наименование структурного подразделения, пусть даже в сокращенном виде, было также указано и в маркировке самого материала.

В числе прочих мотивировок этого требования следует иметь в виду, и это особенно важно для крупных многопрофильных медицинских организаций, что в каждом отделении, каждой операционной могут быть заведены отдельные журналы регистрации направляемого биопсийного (операционного) материала, и в таком случае не исключен вариант, когда два разных материала из разных отделений, но имеющие одинаковые номера, могут одновременно оказаться на приеме материала в патолого-анатомическом отделении.

Сведения о пациенте

Фамилия, имя, отчество пациента (пункт 2) – пишется полностью, без сокращений, четко и разборчиво, чтобы исключить неверное прочтение, при необходимости – печатными буквами.

Дата рождения (пункт 4) – пишется арабскими цифрами в следующем формате: число (два знака), месяц (два знака), год (четыре знака). Не допускается указание даты рождения в ином формате, а также указание вместо даты рождения возраста.

Номер и серия полиса ОМС¹⁶ (пункт 5) – писать полностью, без сокращений, четко и разборчиво, чтобы исключить неверное прочтение, при необходимости – печатными знаками. Новая форма полиса ОМС единого общероссийского образца имеет номер, состоящий из 16 знаков в виде арабских цифр.

При необходимости может быть указано наименование страховой медицинской организации (медицинской страховой компании).

Номер СНИЛС¹⁷ (пункт 6) – писать полностью, без сокращений, четко и разборчиво, чтобы исключить неверное прочтение, при необходимости – печатными знаками. Номер СНИЛС состоит из 14 знаков в виде арабских цифр, разделенных на три блока из трех знаков, и один блок из двух знаков.

Если пациент иногородний – к направлению необходимо приложить ксерокопию полиса ОМС, СНИЛС и паспорта¹⁸ – сведения об этих документах, или их копии, могут понадобиться для урегулирования разногласий при расчетах за выполненные работы (услуги) между территориальными фондами ОМС. Для жителей своего региона ксерокопия полиса ОМС желательна, но не обязательна.

¹⁶ Здесь и далее – обязательное медицинское страхование.

¹⁷ Здесь и далее – страховой номер индивидуального лицевого счета из страхового свидетельства обязательного пенсионного страхования (ССОПС, выдается с 2003 года согласно Постановлению Правления Пенсионного Фонда РФ от 31 июля 2006 г. № 192п) или из страхового свидетельства государственного пенсионного страхования (ССГПС, выдавалось в 1996-2002 гг.).

¹⁸ На основании положений статьи 94 «Сведения о лицах, которым оказываются медицинские услуги» Федерального закона от 21 ноября 2011 г. № 323-ФЗ «Об основах охраны здоровья граждан в Российской Федерации» (далее – Федеральный закон от 21 ноября 2011 г. № 323-ФЗ) [4].

Место регистрации (пункт 7) – указывается адрес, по которому зарегистрирован полис ОМС, пишется полностью, без сокращений, четко и разборчиво, чтобы исключить неверное прочтение, при необходимости – печатными буквами. Также указывается телефон пациента.

Сведения о клиническом диагнозе и задаче исследования

В пункте 9 «Диагноз основного заболевания (состояния)» указывается заболевание (состояние) по поводу которого произведено взятие биопсийного (операционного) материала, а в пункте 10 «Код по МКБ-10» – код этого заболевания (состояния) по МКБ-10¹⁹.

Диагноз следует формулировать кратко и четко, используя официальную формулировку из МКБ-10. Формулировки типа «*патология эндометрия*» недопустимы.

Код диагноза по МКБ-10 (пункт 10) должен соответствовать его текстовой формулировке из пункта 9 и характеру направленного на исследование материала. Указывается минимум четырехзначный код (исключения составляют только те рубрики, для которых четвертый знак не предусмотрен).

Так, в направлении на исследование гастробиоптатов по поводу хронического гастрита не может стоять код диагноза из IX класса МКБ-10 «Болезни органов кровообращения». И даже если пациент наблюдается и лечится с основным заболеванием I25 Хроническая ишемическая болезнь сердца, то все консультации и исследования по поводу имеющегося у него хронического гастрита (консультация гастроэнтеролога, эндоскопическое исследование, патолого-анатомическое исследование гастробиоптатов) должны оформляться с кодом K29.7. Это важно, так как сличение данных о пациенте по данным различных лечебно-профилактических учреждений осуществляется фондами ОМС именно по коду диагноза. И если исследование биопсийного материала подается с кодом K29.7, то у данного пациента в реестрах фондов ОМС должно проходить эндоскопическое исследование и консультация гастроэнтеролога (терапевта) с тем же кодом диагноза, в противном случае биопсийное исследование может быть квалифицировано как не обоснованное.

¹⁹ Международная классификация болезней и причин, связанных со здоровьем, 10 пересмотр.

Предпочтительно выбирать коды МКБ-10, подчеркивающие необходимость дополнительных диагностических уточнений, что само по себе является вполне достаточным основанием для направления материала на уточняющее патолого-анатомическое исследование.

Для кодирования новообразований предпочтительно использовать коды рубрик D37-D48 (Новообразования неопределенного или неизвестного характера), так как клинически любые образования являются неопределенными – именно для уточнения гистологической формы и степени зрелости опухоли материал направляется на патолого-анатомическое исследование.

Примеры рекомендуемых для направлений на патолого-анатомическое исследование кодов МКБ-10 при подозрении на новообразование:

- D37.0 Губы, полости рта и глотки, включая кожу*
- D37.1 Желудка*
- D37.4 Ободочной кишки*
- D37.5 Прямой кишки включая ректосигмоидный отдел*
- D37.7 Пищевода, кишечника БДУ, анального канала, ануса БДУ*
- D38.1 Трахеи, бронхов, легкого*
- D38.5 Других органов дыхания, включая придаточные пазухи и полость носа*
- D39.0 Матки*
- D39.1 Яичника*
- D39.7 Других женских половых органов, включая кожу половых органов*
- D40.0 Предстательной железы*
- D40.7 Других мужских половых органов включая кожу половых органов*
- D41.4 Мочевого пузыря*
- D47.9 Лимфоидной ткани*
- D48.1 Соединительной и других мягких тканей*
- D48.2 Периферических нервов*
- D48.5 Кожы, включая кожу молочной железы и ануса*
- D48.6 Молочной железы, включая соединительную ткань молочной железы*

Примеры рекомендуемых для направлений на патолого-анатомическое исследование кодов МКБ-10 при болезнях органов пищеварения (эндоскопические биопсии):

- K20 Эзофагит*
- K22.1 Язва и эрозия пищевода неуточненная*
- K25.9 Язва и эрозия желудка неуточненная*
- K26.9 Язва и эрозия двенадцатиперстной кишки неуточненная*
- K28.9 Язва и эрозия гастроюнальная, в том числе - анастомоза*
- K29.7 Гастрит неуточненный*

- K29.9 Гастродуоденит неуточненный*
- K51.9 Язвенный колит неуточненный*
- K52.9 Неинфекционный гастроэнтерит и колит неуточненный*
- K60.2 Трещина заднего прохода неуточненная*
- K62.6 Язва заднего прохода и прямой кишки*

Примеры рекомендуемых для направлений на патолого-анатомическое исследование кодов МКБ-10 при болезнях мочеполовой системы (эндоскопические биопсии, соскобы):

- N70.9 Сальпингит и оофорит неуточненные*
- N71.9 Воспалительная болезнь тела матки неуточненная*
- N72 Воспалительная болезнь шейки матки неуточненная*
- N75.9 Болезнь бартолиниевой железы неуточненная*
- N80.9 Эндометриоз неуточненный*
- N82.9 Свищ женских половых органов неуточненный*
- N83.9 Невоспалительная болезнь яичника и маточной трубы неуточненная*
- N84.9 Полип женских половых органов неуточненный*
- N85.0 Железистая гиперплазия эндометрия*
- N85.9 Невоспалительная болезнь тела матки неуточненная*
- N86 Эрозия и эктропион шейки матки*
- N87.9 Дисплазия шейки матки неуточненная*
- N88.9 Невоспалительная болезнь шейки матки неуточненная*
- N89.9 Невоспалительная болезнь влагалища неуточненная*
- N89.9 Невоспалительная болезнь вульвы неуточненная*
- N93.9 Аномальное маточное и влагалищное кровотечение*
- N95.9 Менопаузальные и перименопаузальные нарушения неуточненные*

Примеры рекомендуемых для направлений на патолого-анатомическое исследование кодов МКБ-10 при состояниях, связанных с беременностью и родами:

- O02.9 Аномальный продукт зачатия неуточненный*
- O04.8 Медицинский аборт с другими и неуточненными осложнениями*
- O04.9 Медицинский аборт без осложнений*
- O41.9 Нарушение амниотической жидкости и плодных оболочек неуточненное*
- O43.9 Плацентарное нарушение неуточненное*
- O90.9 Осложнение послеродового периода неуточненное*

Пункт 11 «Задача прижизненного патолого-анатомического исследования биопсийного (операционного) материала» заполняется факультативно, предназначен для формулировки особых задач для данного исследования, отличных от стандарта. Несодержательные записи вроде «определить характер патологического процесса» или «диагностика» не допустимы.

Необходимо ставить перед врачом-патологоанатомом конкретную клиническую задачу.

Дополнительные клинические сведения

В пункте 12 «Дополнительные клинические сведения» следует указать ключевые симптомы, оперативное или гормональное или лучевое лечение (наименование препаратов, дозы, даты начала и окончания лечения) и другие важные сведения, прямо или косвенно могущие иметь отношение к настоящему заболеванию – в том числе данные инструментальных и лабораторных исследований. Во многих случаях полнота дополнительной клинической информации является залогом правильности интерпретации наблюдаемой в биоптатах морфологической картины.

Например, для биопсий гинекологического профиля (биопсии шейки матки, соскобы цервикального канала и полости матки) обязательным является указание точных сроков последнего маточного цикла на момент взятия биопсии, описание особенностей и характера кровянистых выделений из половых путей, прочих нарушений маточного цикла, фактов гормонального лечения и гормональной контрацепции, длительности применения внутриматочных контрацептивов и др.

Не следует умалчивать информацию о предшествовавших оперативных вмешательствах, независимо от их давности, особенно по поводу опухолевой патологии, даже если на первый взгляд это не связано с настоящими образованиями – это часто помогает в диагностике рецидивов и отсроченных отдаленных метастазов.

В пункте 13 «Результаты предыдущих прижизненных патолого-анатомических исследований» следует указывать все известные предшествовавшие прижизненные патолого-анатомические исследования, позволяющие уточнить характер и динамику патологического процесса, оценить эффективность лечения и прогноз развития заболевания.

При наличии сведений о предшествовавших биопсиях следует указать – в каком учреждении они выполнялись, дату, регистрационный номер и краткое изложение результата исследования. В идеале указанные здесь первичные материалы предыдущих биопсий (блоки, стекла, копия заключения) следует запросить из соответствующего лечебно-профилактического учреждения для пересмотра совместно с материалами настоящей биопсии – это будет способствовать существенному улучшению качества ответа.

В пункте 14 «Проведенное предоперационное лечение» следует вносить данные о предшествовавшем химио- или лучевом лечении с указанием сроков и доз, что может иметь значение для морфологической оценки степени терапевтического (лучевого) патоморфоза опухолей.

Сведения о направляемом материале

В пункте 15 «Способ получения биопсийного (операционного) материала» путем подчеркивания указывается способ взятия материала. Иногда способ получения биопсийного (операционного) материала определяет особенности выявляемых в нем морфологических изменений и интерпретации полученных результатов – потому следует точно указать каким методом выполнялся забор материала.

В пункте 16 «Дата и время забора материала» указываются фактические дата и время взятия материала.

В пункте 17 «Материал помещен в 10%-ный раствор формалина» проставляется отметка «да» или «нет», что фиксирует ответственность лечащего врача или медицинского работника, осуществлявшего взятие биопсийного (операционного) материала, в отношении соблюдения нормативно определенных требований к адекватной консервации биопсийного (операционного) материала²⁰.

В пункте 18 «Маркировка биопсийного (операционного) материала» дается расшифровка маркировки биопсийного материала – номер флакона, локализация, характер патологического процесса и количество тканевых фрагментов, помещенных во флакон.

Понятие «флакон» условно, и подразумевает любой отдельно маркированный фрагмент (фрагменты) биопсийного (операционного) материала, и доставляемые в патолого-анатомическое бюро (отделение) под одной маркировкой.

Номера флаконов (графа 1 пункта 18) присваиваются произвольно от 1 и далее для каждого случая (пациента, направления), причем материал из разных анатомических локализаций, даже в пределах одного органа или одной анатомической области, необходимо помещать в разные флаконы и маркировать отдельно.

²⁰ В соответствии с пунктом 10 Правил [1].

Локализация патологического процесса (графа 2 пункта 18) указывается с использованием официальных анатомических наименований тканей, органов, или их отделов. Так, правильно писать «антральный отдел желудка» но не «выходной отдел желудка»; при локализации папилломы «на коже в области угла лопатки слева» не следует писать «папиллома спины» и так далее.

Характер патологического процесса (графа 3 пункта 18) – как можно более подробное описание status localis, чтобы по этому описанию возможно было с максимальной точностью представить процесс. Во-первых, следует определиться с типовой макроскопической формой патологического процесса, которую наичаще можно определить как эрозию, язву, полип, пятно, узел или внешне неизмененную ткань. Во-вторых, необходимо дать качественную характеристику биопсируемого образования – размеры, форма, характер границы, консистенция, цвет кожи над образованием и др. В-третьих, очень важно описать характер изменений тканей, непосредственно прилежащих к образованию – отек, инфильтрация, покраснение, перифокальное воспаление и др.

Количество объектов (графа 4 пункта 18) – указывается фактическое количество тканевых фрагментов (кусочков ткани), помещенных во флакон с фиксирующей жидкостью. В случае если количество взятых биоптатов меньше, чем предусмотрено действующими стандартами или клиническими рекомендациями – следует указать причину взятия меньшего объема материала, например – из-за кровотечения, неадекватной подготовки к исследованию и другие.

Дополнительные материалы

К направлению по форме № 014/у должна быть²¹ приложена выписка из медицинской документации пациента, содержащей результаты проведенных лабораторных, инструментальных и иных видов исследований, описания медицинских вмешательств (манипуляций, операций), диагноза заболевания (состояния) с указанием кода заболевания (состояния) в соответствии с МКБ-10.

Сведения о враче, выполняющем забор материала

В пункте 19 указываются фамилия, имя и отчество лечащего врача или медицинского работника, осуществлявшего взятие биопсийного

²¹ В соответствии с пунктом 11 Правил [1].

(операционного) материала, и номер его телефона – эти сведения следует указывать на случай, если возникнет необходимость получения разъяснений по отдельным вопросам обследования и лечения пациента²².

Дата направления

Фактическая дата заполнения направления пишется арабскими цифрами.

Заключительные положения

При наличии в медицинской организации электронного документооборота, допускается использование электронных аналогов формы № 014/у.

Независимо от наличия в медицинской организации электронного документооборота, оригинал направления всегда следует прилагать к биопсийному (операционному) материалу, направляемому в патолого-анатомическое отделение²³, так как направление подлежит сохранению в архиве патолого-анатомического отделения²⁴.

Унифицированные требования по организации предварительного (долабораторного) этапа работы с материалом для прижизненных патолого-анатомических исследований

Гистологическому исследованию подлежат любые ткани, получаемые при диагностических или лечебных манипуляциях (операциях):

- эндоскопические биопсии
- пункционные толстоигольные биопсии
- аспирационные биопсии
- трепанобиопсии
- инцизионные биопсии
- операционные биопсии
- операционный материал
- соскобы
- самопроизвольно отделившиеся фрагменты тканей
- ткани, полученные при родах и абортах

²² В соответствии с пунктом 14 Правил [1].

²³ В соответствии с пунктом 11 Правил [1].

²⁴ В соответствии с пунктом 29 Правил [1].

Отказ от направления на патолого-анатомическое исследование, намеренное или случайное уничтожение материала не допускается.

На гистологическое исследование должен быть направлен весь объем полученного материала.

Взятие материала

При взятии материала следует принимать все возможные меры по минимизации механических (сжатие, сдавливание, порывы, порезы и др.), термических (тепловых и холодových), химических (воздействие любых посторонних веществ) и других повреждений.

Ткань необходимо извлекать осторожно без раздавливания или разрыва образца. Это требование необходимо соблюдать и при хирургической операции и во время гистологической вырезки. При любых манипуляциях с образцом кусочек рекомендуется придерживать пинцетом только за самый край и только в одном и том же месте, иссечение и рассечение следует производить исключительно острыми лезвиями.

При несоблюдении этих требований возможны тяжелые механические повреждения ткани, нередко исключающие возможность качественного морфологического анализа.

Запрет механического повреждения,
дополнительного рассечения, деления и направления
в разные патолого-анатомические отделения

Не допускается:

- 1) механическое, термическое, химическое повреждение материала;
- 2) дополнительное рассечение материала в отсутствие врача-патологоанатома;
- 3) деление материала и направление в разные патолого-анатомические отделения;
- 4) деление материала и направление в патолого-анатомическое отделение с разными направлениями.

Консервация

Биопсийные (операционные) материалы, предназначенные для проведения прижизненных патолого-анатомических исследований, подлежат консервации в 10%-ном растворе нейтрального формалина и маркировке²⁵.

Подготовка контейнеров (расфасовка фиксирующей жидкости и наклеивание этикеток) должна выполняться централизованно в патолого-анатомических бюро (отделениях). По взаимному согласованию с патолого-анатомическим бюро (отделением) согласно прикреплению возможно приобретение медицинскими организациями готовых к употреблению гистологических контейнеров с этикеткой и фиксирующей жидкостью.

Заготовленные для взятия биопсийного материала флаконы (контейнеры) должны быть заранее снабжены унифицированной этикеткой для записи.

Этикетка как минимум должна содержать:

1. Наименование фиксирующей жидкости.
2. Поле для записи.
3. Наименование производителя, каталожный номер, срок годности.

Фиксация биопсийного (операционного) материала осуществляется погружным способом. Тканевой материал должен быть помещен во флакон с фиксирующей жидкостью немедленно по иссечении.

При выборе объема контейнеров и фиксирующей жидкости следует руководствоваться общим правилом, согласно которому объем фиксирующей жидкости должен превышать объем погруженной в нее ткани в 20 раз.

Уменьшение объема фиксирующей жидкости по отношению к объему помещенных в нее тканевых фрагментов не допустимо, 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. таблицу);

²⁵ В соответствии с пунктом 10 Правил [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 в патолого-анатомическом отделении.

Маркировка материала обязательно должна содержать следующие сведения:

- 1) краткое наименование медицинской организации.
- 2) регистрационный номер направившей медицинской организации (из журнала регистрации биопсийного (операционного) материала, направляемого для прижизненного патолого-анатомического исследования);
- 3) фамилия и инициалы пациента;
- 4) номер флакона;
- 5) количество тканевых фрагментов во флаконе.

Полное совпадение этих параметров в маркировке флаконов материала от разных пациентов при приеме материала в патолого-анатомическом отделении маловероятны, что является дополнительной гарантией от путаницы материала.

Если выполняется биопсия из нескольких участков (анатомических отделов) органа, или из нескольких патологических образований, расположенных на отдалении более 1 см друг от друга, то материал из этих образований следует помещать в разные флаконы с соответствующей маркировкой.

Запрет оставления материала без маркировки

Оставление материала без маркировки может привести к утрате информации и неполной маркировке флакона (ов).

Регистрация

О журнале регистрации биопсийного (операционного) материала, направляемого для прижизненного патолого-анатомического исследования – см. стр. 16-17.

Важно проверить, чтобы присвоенный материалу регистрационный номер был уникальным, не повторялся с номерами, даваемыми в других кабинетах (операционных) данной медицинской организации.

Унифицированный порядок присвоения регистрационных номеров направившей медицинской организации биопсийному (операционному) материалу в операционных (кабинетах), где производится забор материала:

1. Не следует в каждом кабинете иметь свою отдельную нумерацию – при этом в одном транспортировочном контейнере могут одновременно оказаться одинаково пронумерованные материалы, что затруднит их идентификацию.
2. При наличии нескольких операционных (кабинетов), в которых выполняются биопсии, следует принять меры для обеспечения уникальности нумерации материала – можно, например, использовать единый для всех кабинетов регистрационный журнал, или ввести идентификатор (буквенный или цифровой), проставляемый вначале регистрационного номера.
3. Не следует каждый новый рабочий день (каждую смену) начинать нумерацию материалов с единицы – при этом в одном транспортировочном контейнере могут одновременно оказаться одинаково пронумерованные материалы, что затруднит их идентификацию.

4. Следует организовать сквозную нумерацию материала, действующую, например, в течение календарного года.
5. Кроме регистрационного номера маркировка материала обязательно должна содержать фамилию и инициалы пациента и краткое наименование медицинской организации – полное совпадение этих трех параметров маловероятны, что является дополнительной гарантией от путаницы материала.

Хранение

1. Хранение материала, помещенного в фиксирующую жидкость, осуществляется исключительно при комнатной температуре.
2. Срок хранения материала в чистом фиксирующем растворе до доставки в патолого-анатомическое отделение не должен превышать двух суток.
3. При отсутствии возможности доставить материал в патолого-анатомическое отделение в течение рабочего дня, на следующий день фиксирующую смесь из контейнеров с материалом следует аккуратно слить (при этом не потерять кусочки) и залить свежим фиксирующим раствором.
4. Если размеры кусочков (фрагментов органов, тканей) превышают 10 мм в наибольшем диаметре – такой материал должен быть доставлен в патолого-анатомическое отделение в течение одних суток.
5. Если размеры операционного материала не позволяют погрузить его в имеющиеся контейнеры с фиксирующей жидкостью – такой материал следует доставить в патолого-анатомическое отделение немедленно после иссечения.

Запрет замораживания/оттаивания

Охлаждение, тем более замораживание, как нефиксированного, так и фиксированного материала не допускается категорически.

Транспортировка

Транспортировка биологического материала в патолого-анатомические отделения осуществляется одним из следующих способов:

- специализированная курьерская служба;
- собственный санитарный транспорт медицинской организации;
- нарочный медицинской организации;
- пневматическая почта.

Перевозка биологического материала осуществляется в специальных транспортировочных контейнерах.

Доставка образцов крови и материала для гистологических и цитологических исследований в одном контейнере не допускается. Для гистологического и цитологического материала следует организовать отдельный контейнер.

При помещении образцов в транспортировочный контейнер необходимо:

1. Проверить герметичность контейнеров для гистологических образцов во избежание проливания фиксирующей жидкости.
2. Направления следует поместить в отдельный плотно закрывающийся пластиковый пакет, и только в этом пакете их можно класть в контейнер с материалом.
3. Проверить, чтобы в одном транспортировочном контейнере не оказалось материала, маркированного одинаковыми номерами.
4. Проверить, чтобы в транспортировочный контейнер были вложены направления ко всем материалам, и чтобы к каждому материалу имелось направление.

Запрет тряской езды

Во избежание повреждений и фрагментации биопсийного (операционного) материала, его транспортировку следует осуществлять бережно, исключая тряскую езду, удары, падения и повреждения упаковки, а также воздействий экстремальных температур при перевозке.

Унифицированные требования по технологии приема материала для прижизненного патолого-анатомического исследования в патолого-анатомических бюро (отделениях)

Прием

Прием материала и контроль его маркировки осуществляется в целях проверки полноты и качества оформления направлений, соответствия данных направлений и маркировки материала.

Независимо от наличия в медицинской организации электронного документооборота, оригинал направления (с оригинальным штампом медицинской организации, оригинальной подписью и оригинальной печатью врача) всегда должен быть приложен к биопсийному (операционному) материалу, поступившему в патолого-анатомическое отделение²⁶, так как направление подлежит сохранению в архиве патолого-анатомического отделения²⁷.

Если доставка материала осуществляется не курьером, а медицинским работником направившей медицинской организации (отделения, кабинета) – прием материала осуществляется в его присутствии.

Унифицированная процедура

1. Извлечь из транспортировочного контейнера все флаконы с биоматериалом и расставить их на специальном столе в порядке возрастания регистрационного номера, присвоенного в направившей медицинской организации.
2. Извлечь из транспортировочного контейнера направления и разложить их в порядке возрастания регистрационного номера, присвоенного в направившей медицинской организации.
3. Проверить – ко всем ли присланным направлениям имеются флаконы с биоматериалом, и ко всем ли присланным флаконам с биоматериалом имеются направления.
4. Последовательно сверить соответствие записей в направлениях с маркировкой флаконов.
5. В случаях выявления дефектов маркировки материала, сотрудник патолого-анатомического отделения, осуществляющий прием материала, имеет право:
 - 1) отправить материал на переоформление в направившую медицинскую организацию (отделение, кабинет);

²⁶ В соответствии с пунктом 11 Правил [1].

²⁷ В соответствии с пунктом 29 Правил [1].

- 2) принять уточнения по оформлению направления и маркировке биоматериала по телефону.
6. Поступивший в патолого-анатомическое отделение биоматериал регистрируется в журнале по форме № 014-2/у «Журнал регистрации поступления биопсийного (операционного) материала и выдачи результатов прижизненных патолого-анатомических исследований».

Контроль полноты и качества оформления направления

Направление на прижизненное патолого-анатомическое исследование биопсийного (операционного) материала должно быть оформлено по унифицированной форме № 014/у.

Все предусмотренные бланком направления графы должны быть заполнены в соответствии с порядком заполнения формы № 014/у [3] и унифицированными требованиями, изложенными в настоящем руководстве.

Контроль качества фиксации материала

В процедуру проверки качества фиксации входит выяснение качества фиксирующей жидкости, и оценка соблюдения общих правил фиксации по следующим критериям:

- 1) качество фиксирующей жидкости;
- 2) размер образцов;
- 3) соответствие объема контейнера объему помещенных в него образцов;
- 4) соответствие объема фиксирующей жидкости объему помещенных в нее образцов.

Оценка качества фиксирующей жидкости включает в себя два критерия – определение характера жидкости, залитой в контейнер, и степени ее загрязненности. Не редки случаи, когда вместо формалина в биопсийный контейнер заливаются другие жидкости, не пригодные для целей фиксации тканей. Кроме того, при фиксации образцов, содержащих большое количество жидкой крови или жировой ткани, формалин быстро загрязняется посторонними примесями. В таких случаях формалин следует сменить в течение нескольких часов после начала фиксации. Если доставка биопсийного материала в патолого-анатомическое отделение

откладывается на более длительный срок – эту процедуру следует осуществить на месте взятия материала.

Оценка размера образцов имеет целью выявление образцов размером более 10 мм в наибольшем измерении. Недостаточное внимание должной фиксации заведомо проблемных (крупных) образцов часто приводит к дефектам гистологической обработки тканей. Недостаточно фиксированные образцы не следует запускать в дальнейшую проводку. Дефекты фиксации образцов обнаруживаются при вырезке, как правило, в глубине больших кусочков, и отличаются от поверхностных слоев ткани красноватым оттенком окраски. Плохо, если такие участки захватывают область интереса – именно в них могут проявиться дефекты дальнейшей гистологической обработки, а при микроскопическом исследовании нередко обнаруживаются аутолитические изменения тканей.

Соответствие объема контейнера объему помещенных в него образцов имеет целью выявление деформаций и механических повреждений образцов, связанных с неадекватно малыми размерами контейнера, в который они помещены.

Соответствие объема фиксирующей жидкости объему помещенных в нее образцов имеют целью выявление дефектов фиксации, связанных с использованием формалина объемом меньше чем 1:20 по отношению к объему фиксируемых тканевых образцов.

Все отмеченные дефекты фиксации следует подробно зафиксировать с тем, чтобы в последующем эти данные можно было бы внести в форму № 14-1/у «Протокол прижизненного патолого-анатомического исследования биопсийного (операционного) материала» в части описания макроскопического изучения и вырезки материала (пункт 22 Протокола).

Контроль соответствия маркировки

1. Фамилия и инициалы пациента, указанные на этикетке флакона, должны соответствовать записи в пункте 2 направления.
2. Краткое наименование направившей медицинской организации, указанное на этикетке флакона, должно соответствовать оттиску штампа медицинской организации в левом верхнем углу направления. Краткое наименование структурного подразделения направившей медицинской

организации, указанное на этикетке флакона, должно соответствовать записи в пункте 1 направления.

3. В случаях, когда в составе материала имеется несколько флаконов, они должны иметь, кроме регистрационного номера, еще и порядковую нумерацию флаконов (*фл. № 1, фл. № 2* и так далее). Количество кусочков, указанное на этикетке флакона, должно совпадать с соответствующей записью в графе 4 пункта 18 направления.
4. Регистрационный номер биоматериала, присвоенный в направившей медицинской организации, на направлении и на этикетке флаконов должен совпадать.

Унифицированные требования по технологии регистрации материала для прижизненного патолого-анатомического исследования в патолого-анатомических бюро (отделениях)

Для регистрации биопсийного (операционного) материала в патолого-анатомическом отделении предназначена форма учетной медицинской документации № 014-2/у «Журнал регистрации поступления биопсийного (операционного) материала и выдачи результатов прижизненных патолого-анатомических исследований» (далее – Журнал)²⁸.

Журнал (*рис. 14-15*) является основным регистрационным документом для биопсийного (операционного) материала в патолого-анатомическом отделении. В результате процедуры регистрации каждому случаю присваивается *уникальный регистрационный номер, являющийся основным идентификатором случая* в патолого-анатомическом отделении.

В целях облегчения поиска архивных материалов в патолого-анатомических отделениях с ручной технологией регистрации и архивирования первичных материалов исследований, рекомендуется вести «Алфавитный журнал биопсийного (операционного) материала»²⁹.

²⁸ Форма № 014-2/у «Журнал регистрации поступления биопсийного (операционного) материала и выдачи результатов прижизненных патолого-анатомических исследований» утверждена приложением № 3 к приказу Минздрава России от 24 марта 2016 г. № 179н [1].

²⁹ Не является утвержденной формой учетной медицинской документации.

Формы регистрационных журналов

Форма № 014-2/у «Журнал регистрации поступления биопсийного (операционного) материала и выдачи результатов прижизненных патолого-анатомических исследований»

Полный текст порядка заполнения формы № 014-2/у приведен в издании «Патолого-анатомические исследования. Нормативные документы (2016)» [3]. Здесь будут обсуждаться требования, не формализованные ни в каком другом нормативном документе.

Регистрационная запись заносится в Журнал непосредственно после завершения процедуры приема материала. Материал, возвращенный на переоформление в направившую медицинскую организацию, в Журнал не вносится.

На момент приема материала заполняются графы 1-7 Журнала для каждого случая.

В графу 1 «Регистрационный номер» вносятся *уникальные регистрационные номера случаев*³⁰ в порядке сквозной нумерации. Рекомендуются вести сквозную нумерацию случаев в течение всего срока существования патолого-анатомического отделения.

Не рекомендуется начинать новую нумерацию случаев с единицы с первого января нового календарного года. Если все же новая нумерация случаев начинается с единицы с первого января нового календарного года, обязательным требованием является введение в формат регистрационного номера дополнительного *уникального* (цифрового или буквенного) идентификатора, указывающего на данный календарный год.

При наличии в медицинской организации электронного документооборота, допускается использование электронных аналогов формы № 014-2/у, с возможностью распечатки при необходимости.

В графу 2 «Наименование направившей медицинской организации (структурного подразделения)» вносится краткое наименование направившей медицинской организации (из штампа медицинской организации в верхнем левом углу направления) и/или структурного

³⁰ Понятие «случай» определяется в соответствии с пунктом 26 Правил [1].

подразделения направившей медицинской организации (из пункта 1 направления).

В графу 3 «Дата и время поступления материала» вносятся фактическая дата и время фактического поступления материала в патолого-анатомическое отделение.

Время указывается в 24-часовом формате.

В графу 4 «ФИО пациента(ки)» вносятся фамилия, имя и отчество пациента(ки) – пишется полностью, без сокращений, четко и разборчиво, чтобы исключить неверное прочтение, при необходимости – печатными буквами.

В графу 5 «Дата рождения» вносится дата рождения пациента(ки) – пишется арабскими цифрами в следующем формате: число (два знака), месяц (два знака), год (четыре знака). Не допускается указание даты рождения в ином формате, а также указание вместо даты рождения возраста.

В графу 6 «Порядковый номер флакона» вносятся номера флаконов в соответствии с их маркировкой и соответствующими записями в графе 1 пункта 18 направления.

Если материал по данному случаю содержит один флакон, в первой строке соответствующей регистрационной записи в журнале по графе 6 проставляется цифра «1». Если материал по данному случаю содержит более одного флакона, для соответствующих записей используются нижеследующие строки – во второй строке соответствующей регистрационной записи в журнале по графе 6 проставляется цифра «2», в третьей – «3», и так далее.

В графу 7 «Количество объектов» вносятся данные о количестве объектов по строкам соответствующим номерам флаконов (из графы 6), в соответствии с их маркировкой и соответствующими записями в графе 4 пункта 18 направления.

Графа 8 «Ф.И.О. врача-патологоанатома» заполняется из пункта 27 завершенного протокола прижизненного патолого-анатомического исследования биопсийного (операционного) материала.

В графе 9 «Дата выдачи» проставляется фактическая дата выдачи оригинала протокола прижизненного патолого-анатомического

исследования биопсийного (операционного) материала по данному случаю (рис. 17) представителю направившей медицинской организации под роспись (графа 10 журнала).

Форма «Алфавитный журнал биопсийного (операционного) материала»

В целях облегчения поиска архивных материалов в патолого-анатомических отделениях с ручной технологией регистрации и архивирования первичных материалов исследований, рекомендуется вести «Алфавитный журнал биопсийного (операционного) материала» с указанием следующих сведений:

- 1) фамилия и инициалы пациента (сортировка по алфавиту);
- 2) дата рождения пациента;
- 3) уникальный регистрационный номер случая (из графы 1 журнала).

«Алфавитный журнал биопсийного (операционного) материала» является внутренним технологическим документом патолого-анатомического отделения, и не является утвержденной формой учетной медицинской документации.

При наличии в патолого-анатомическом отделении лабораторной информационной системы, позволяющей осуществлять в электронной базе данных поиск по фамилии пациента(ки), алфавитный журнал не требуется.

Унифицированная процедура

1. Процедура регистрации материала производится по завершении процедуры приема материала, включающей контроль полноты и качества оформления направления, контроль качества фиксации и контроль соответствия маркировки.
2. Процедура регистрации материала заключается во внесении регистрационной записи в журнал по форме № 014-2/у «Журнал регистрации поступления биопсийного (операционного) материала и выдачи результатов прижизненных патолого-анатомических исследований».

3. Процедура регистрации начинается с присвоения случаю уникального регистрационного номера. В качестве регистрационного номера выбирается номер, следующий по порядку за последней предшествующей регистрационной записью.

4. Выбранный регистрационный номер последовательно вносится:
 - в свободную строку журнала, следующую за последней предшествующей регистрационной записью;
 - в правый нижний угол направления;
 - на флакон(ы) с материалом.
5. Вносятся необходимые записи в графы 2-7 журнала, при этом данные, заносимые в журнал, *повторно сверяются* с соответствующими записями в направлении и маркировкой флаконов.
6. Материал с нанесенными в соответствии с пунктом 4 данного раздела регистрационными номерами на направление и флаконы, передается на следующий этап «Макроскопическое изучение и вырезка».

**Унифицированные требования по технологии
макроскопического изучения и вырезки биопсийного
(операционного) материала**

Общие рекомендации по процедуре макроскопического изучения

1. Характер, объем и степень необходимой детализации макроскопического описания определяется клиническими рекомендациями, а в неопределенных случаях – соображениями диагностической целесообразности, определяемыми врачом-патологоанатомом.
2. В любом макроскопическом описании должен содержаться минимально необходимый набор морфологических феноменов, наличие которых в описании, по своей совокупности, формально позволяет обосновать сформулированный далее диагноз (заключение).
5. Кроме предусмотренных стандартами описаний метрических и качественных характеристик патологического процесса, не следует пренебрегать детальным описанием зрительно доступных термических повреждений хирургического края удаленных фрагментов тканей, наличия шовного материала, участков механического (размозжение, дополнительные разрезы, проколы) и химического повреждения тканей, а также участков экзогенных пигментаций, попавших в макропрепарат.

6. Термические повреждения материала, часто обнаруживаемые в биопсиях, проявляются в виде коагуляционного некроза тканей. Термическое повреждение образца может быть следствием термического воздействия на любом этапе обработки, но наиболее часто – при термических воздействиях на нативную (нефиксированную) ткань, то есть при взятии материала вследствие ожога лазером, электрокоагулятором или при использовании других горячих инструментов. Частой причиной сгорания (обожжения) тканевого образца бывает использование завышенных более необходимого мощностей электрохирургических инструментов, применяемое при иссечении тканей в целях снижения кровоточивости в краях хирургической раны. Ширину зоны термического повреждения хирургического края образца должно отмечать в протоколе макро- и микроскопического описания.
7. Шовный материал может быть представлен в препарате как отдельными фрагментами, так и цельными волокнами, срезанными поперечно, продольно или косо. Шелковые хирургические нити дают выраженное двойное лучепреломление в поляризованном свете, что можно использовать как идентификационный признак данного вида материала. Шовный материал в кусочке может повредить нож микротома, что приведет к образованию полос на срезе при микротомии, потому видимые инородные структуры необходимо удалять из кусочка по возможности во время вырезки и соответствующим образом отражать в протоколе макроскопического описания.
8. Мягкие ткани могут быть легко повреждены при манипуляциях с использованием катетеров, как на нативном (нефиксированном) материале, так и на фиксированных тканевых образцах. Рекомендуется использовать все имеющиеся профессиональные и административные возможности противодействия любым манипуляциям с макропрепаратами операционного материала (дополнительные разрезы, проколы и прочие механические воздействия) в отсутствие врача-патологоанатома. Любые подобные действия, чем бы они ни были мотивированы, могут в значительной степени повредить материал, нарушить анатомические взаимоотношения тканей, вызвать раздавливание (размозжение) тканей, что, в свою очередь может осложнить дальнейшее микроскопическое изучение и интерпретацию полученных результатов исследования.

9. Нефиксированные ткани (особенно лимфатические узлы и селезенка) очень подвержены раздавливанию зажимами, пинцетами, другими инструментами или руками медицинского персонала. Следует помнить о необходимости минимизации любых механических воздействий на ткани как *in vivo*, так и на извлеченные тканевые образцы.
10. Следует строго следить за тем, чтобы макропрепараты операционного материала не подвергались воздействию никаких жидкостей, химических и физических агентов, кроме унифицированных растворов формалина³¹, в который макропрепарат следует помещать тотчас после иссечения.
11. Дегенеративные изменения в тканях начинают развиваться сразу после прерывания кровотока. Аутолиз обусловлен воздействием гидролитических ферментов лизосом при нарушении внутренних мембран клеток. Признаки аутолиза могут быть в различной степени представлены в различных тканях, обычно бывают более выражены в эпителиальных тканях, чем в мезенхимных, что связано с большей устойчивостью последних к гипоксическим повреждениям (ранний признак аутолитических изменений тканей при отложенной фиксации – слущивание цилиндрических эпителиев выводных протоков желез, бронхов). В некоторых органах, таких как поджелудочная железа, процессы посмертного аутолиза более выражены из-за обилия протеолитических ферментов. В биопсийном материале, который обычно фиксируется немедленно, признаки аутолиза бывают менее выражены, чем в операционном или аутопсийном. Избежать аутолиза, позволяет быстрая фиксация материала.
12. В макропрепаратах кожи могут быть обнаружены нерастворимые экзогенные пигменты, используемые для нанесения татуировок. Эти депозиты обычно инертны по отношению к гистохимическим тестам и не дают анизотропии в поляризованном свете. Однако же весьма желательно описывать наличие татуировок в протоколе операции и при макроскопическом исследовании нефиксированного операционного материала – это поможет избежать немалых затрат времени и ресурсов на выяснение природы пигментации в случаях когда это имеет решающее диагностическое значение.
13. В ряде случаев используют цветное маркирование хирургического края удаленного образца для его правильной ориентации в макропрепарате

³¹ В соответствии с пунктом 10 Правил [1].

или для заливки в блоке. Для маркировки обычно используются india ink, silver nitrat, alcian blue, alcian green и многие патентованные составы различных цветов, которые окрашивают поверхность образца и могут проникать в ткань на различную глубину.

14. Кроме диагностически значимой нагрузки, процедура макроскопического описания несет в себе и важные технологические элементы, призванные обеспечить доказательность диагностического заключения – это методически правильная вырезка и маркировка материала.

Общие рекомендации по процедуре вырезки

1. Проверка качества предварительной фиксации всегда рекомендуется производить перед началом работы с материалом. При этом следует выяснить качество фиксирующей жидкости и оценить соблюдение общих правил фиксации в части размера образцов, размеров контейнера и количества фиксирующей жидкости. В первую очередь, следует определить – какая жидкость залита в контейнер. Не редки случаи, когда вместо формалина в биопсийный контейнер заливаются другие жидкости, не пригодные для целей фиксации тканей. Во-вторых, следует помнить, что при фиксации образцов, содержащих большое количество жидкой крови или жировой ткани, фиксирующая жидкость быстро загрязняется посторонними примесями. В таких случаях фиксирующую жидкость следует сменить в течение нескольких часов после начала фиксации. Если доставка биопсийного материала в патолого-анатомическое отделение откладывается на более длительный срок – эту процедуру следует осуществить на месте взятия материала. Недостаточное внимание должной фиксации заведомо проблемных (крупных) образцов часто приводит к дефектам гистологической обработки тканей.
2. Недостаточно фиксированные образцы не следует запускать в дальнейшую проводку. Дефекты фиксации образцов обнаруживаются при вырезке, как правило, в глубине больших кусочков, и отличаются от поверхностных слоев ткани красноватым оттенком окраски. Плохо, если такие участки захватывают область интереса – именно в них могут проявиться дефекты дальнейшей гистологической обработки, а при микроскопическом исследовании нередко обнаруживаются аутолитические изменения тканей. Все отмеченные дефекты фиксации следует подробно описать в протоколе вырезки материала.

3. Из крупного образца вырезаются более мелкие кусочки, толщиной не более 3-4 мм. Это особенно важно для плотных тканей. Приготовление образцов толщиной более 6 мм может быть причиной некачественной проводки ткани. При вырезке следует помнить и то, что площадь кусочка в последующем может оказать влияние на толщину парафиновых срезов – зависимость здесь обратно пропорциональная. Идеальны для микротомии кусочки с площадкой среза, сторона которой не превышает 5-8 мм. Для парафиновой заливки с использованием стандартных заливочных форм следует вырезать кусочки трех типоразмеров сообразно размерам заливочных форм – до 5x5 мм, 10x10 мм, до 20x20 мм и до 20x30 мм. При значительных размерах зоны интереса следует помнить, что предельный размер кусочков при заливке в стандартные заливочные формы не может превышать 20 мм. В таких случаях можно для заливки вырезать несколько последовательно ориентированных кусочков, что позволит в дальнейшем реконструировать микроскопическую картину.
4. Форма вырезаемых образцов. Вырезку следует производить так, чтобы в итоге поверхность образца в области интереса, предназначенная для среза, была плоской и на ней должны быть представлены все слои ткани. Неровные образцы требуют значительной обрезки при микротомии, что может привести к потере части ткани образца и повышенному износу микротомных лезвий.
5. Количество вырезаемых образцов определяется клиническими рекомендациями, а в неопределенных случаях – соображениями диагностической целесообразности, определяемыми врачом-патологоанатомом.
6. При вырезке рекомендуется придерживаться правила: в одну кассету для проводки следует помещать только один тканевой образец, на одну кассету следует наносить только один уникальный регистрационный номер, соответствующий номеру тканевого образца.
7. Следует избегать повреждений тканей, в особенности не полностью профилированных – не давить, использовать только острые лезвия, разрезы производить плавными движениями в один рез. Грубое обращение с образцами, использование тупых лезвий или ножниц приводят к деформациям и повреждениям ткани.

8. Каждый образец следует класть на чистую поверхность, чтобы исключить попадание мелких фрагментов тканей от другого образца. Поверхность, на которой производится вырезка, перед вырезкой каждого нового образца должна быть тщательно очищена влажной салфеткой. При вырезке на неочищенной поверхности возможен перенос частичек предыдущего образца на последующий образец. Особенно это важно в тех случаях, когда один за другим обрабатываются образцы одного типа. То же касается и инструментов, используемых при вырезке – всякий раз при переходе к вырезке нового образца инструменты следует тщательно очистить от остатков ткани предыдущего образца.
9. Свежие или не полностью зафиксированные ткани, а также толстоигольные биоптаты не следует зажимать между губчатыми гистологическими прокладками. Маленькие, свежие или не полностью зафиксированные образцы, помещенные на губчатые гистологические прокладки, могут быть повреждены в результате сдавливания.
10. Для проводки ткани следует выбирать соответствующий тип кассет, чтобы избежать дополнительной деформации, сдавливания или утраты образцов. Во время проводки фрагменты ткани сжимаются и могут продавливаться через слишком большие отверстия кассеты в растворы для проводки или в другую кассету. Не следует исходить из принципа «один размер кассет подходит для любых образцов».
11. Образцы в кассетах всегда следует размещать плоской поверхностью, предназначенной для среза, вниз. В последующем и при заливке образцы переносятся из кассет в заливочные формы этой же поверхностью вниз. Таким образом, поверхность, выбранная для среза врачом во время вырезки, всегда попадет на вершину парафинового блока.
12. Кассеты не следует переполнять образцами – таким образом, обеспечивается наилучший доступ реагентов и предотвращается искажение формы образца. Если образец слишком велик – необходимо использовать вторую кассету. Если в кассеты кладется слишком большое количество образцов – это затрудняет доступ реагентов и приводит к деформации кусочков.
13. Необходима четкая и разборчивая маркировка кассет, что важно для правильной идентификации образцов. Трудночитаемые номера недопустимы во избежание неоднозначного толкования маркировки. Если в лаборатории нет специального гистологического принтера для

кассет, то для ручной маркировки следует использовать простой грифельный карандаш средней твердости, обеспечивающий легкое нанесение маркировки. Если при маркировке кассеты допущена ошибка – не следует стирать надпись ластиками, лучше всего ошибочную надпись соскоблить лезвием скальпеля. Маркировка кассеты должна быть максимально лаконична. Лучше всего ограничиться нанесением на кассету только индивидуального уникального номера тканевого образца (объекта). Любая избыточная маркировки затрудняет идентификацию надписи на последующих этапах гистологической обработки материала.

14. Часто при размещении мелких образцов в кассетах для проводки используются гистологические прокладки. Если образец недостаточно фиксирован и при закрывании кассеты плотно зажимается биопсийными прокладками, он деформируется с образованием треугольных и ромбовидных дефектов, повторяющих губчатую структуру материала прокладок. Для того чтобы избежать этого артефакта, следует запускать в проводку только полностью зафиксированные образцы такой толщины, чтобы при закрывании кассеты кусочек не сдавливался (не более 3-4 мм).
15. Достаточно распространена ситуация, когда образцы тканей для срочного исследования после приготовления замороженных срезов оттаивают в фиксаторе для последующей заливки в парафин. В таких случаях в образцах тканей могут обнаруживаться повреждения кристаллами льда или изменения, характерные для оттаивания. Например, в образце ткани, залитом в парафин после замораживания/оттаивания ядра часто бывают окружены светлой каймой цитоплазмы, хроматин менее конденсирован и интенсивно окрашен. Ядерные и цитоплазматические структуры хуже идентифицируются. Эти изменения необязательны, но вполне характерны. Особенно выражены низкотемпературные повреждения тканей при медленном замораживании – при этом тканевая жидкость кристаллизуется, а вокруг кристаллов льда формируются микроскопические трещины и разрывы. Для минимизации этих артефактов рекомендуется быстрое замораживание тканевых образцов при температуре не выше -20°C , что позволяет тканевой жидкости застывать в аморфном состоянии, и использование специальных смесей для криомикротомов, способствующих равномерному охлаждению/замораживанию и медленному размораживанию кусочков в формалине. Но и при этом допускается только однократное замораживание/оттаивание образца, в противном случае качество

гистологических препаратов будет прогрессивно снижаться прямо пропорционально числу циклов замораживания/оттаивания.

16. Попадание инородной ткани в исследуемый образец в большинстве случаев происходит при вырезке, например, когда нож или поверхность рабочего стола недостаточно очищаются после обработки предыдущего материала. Обработка скальпеля и рабочей поверхности водой или спиртовыми салфетками позволит избежать этого артефакта. Важно помнить, что расходные материалы (например, биопсийные кассеты, гистологические прокладки, растворы для проводки), при их многократном использовании тоже могут служить источником загрязнения препарата. При проводке материала, частички ткани могут задерживаться на кассетах или в многократно применяемых растворах. Для снижения риска загрязнения материала необходимо следить, чтобы биопсийные кассеты и полиуретановые прокладки использовались однократно. Следует также стремиться всегда использовать свежеприготовленные растворы. Загрязнение образца инородной тканью может произойти и на других стадиях обработки материала, например: при расправлении срезов в водяной бане после микротомии (флотация), если с поверхности воды не были удалены фрагменты срезов с предыдущего блока или если на поверхности воды одновременно расправляются срезы с нескольких блоков; в результате применения грязных пинцетов, заливочных форм, парафина; при окраске материала, если фрагменты срезов слетевших со стекла, попадают в красящий раствор, а потом оседают на другом препарате. В тех случаях, если возникают сомнения по поводу истинности наблюдаемых в образце изменений, необходимо провести повторное исследование, чтобы исключить возможность контаминации. Пренебрежение этим в ряде случаев, может стать причиной диагностических ошибок.

Общие рекомендации по маркировке объектов

Регистрационный номер является системообразующим параметром технологического процесса в любом патолого-анатомическом отделении, он должен быть уникальным и формироваться исходя из четкого алгоритма, ясного для всех работников патолого-анатомического отделения.

Следует использовать *сквозную нумерацию случаев* с добавлением количества объектов после косой черты:

0254783/1-9

Первая часть регистрационного номера (слева перед косой чертой) является основным идентификатором случая, вторая (после косой черты) отражает количество объектов в пределах данного случая.

При этом уникальные регистрационные номера отдельных объектов исследования на блоках и стеклах отображаются в следующем формате:

0254783-1

0254783-2

.....

При данном формате регистрационного номера основной идентификатор всегда соответствует конкретной цифре, является неделимым, уникальным для данного случая и легко учитываемым. Такой формат регистрационного номера удобен при любых формах унифицированной ручной и, тем более, машинной обработке направлений (направление = номер). Основной идентификатор не зависит от количества вырезанных объектов. Особенно удобен в крупных патолого-анатомических отделениях, практикующих отдельную технологическую обработку различных типов биопсийного и операционного материала.

При данном формате регистрационного номера основной идентификатор всегда соответствует количеству обследованных пациентов, что при работе в системе ОМС соответствует записям в реестрах услуг. Перспективна при полном переходе здравоохранения на финансирование и взаиморасчеты по законченному случаю.

Сквозная нумерация в пределах определенного периода (год)

При данной системе регистрации для обеспечения уникальности регистрационного номера к основному идентификатору требуется добавление префикса (буква, цифра), указывающего на выбранный период. Ясно, что такой основной идентификатор никогда не является конкретной цифрой, а представляет собой некий набор букв и/или цифр, разделенных определенными знаками – такими как точка, черта-разделитель, тире и другими.

При любой выбранной стратегии следует стремиться к наиболее простому формату написания регистрационного номера без утраты его уникальности. Особенно это касается патолого-анатомических отделений, в которых используется ручное нанесение маркировки на блоки и микропрепараты – чем формат регистрационного номера проще, тем проще его наносить, и меньше вероятность возникновения ошибок при маркировке.

Поле для записи гистологической кассеты (*рис. 18*) имеет размер 25x5 мм. Современные гистологические принтеры для кассет позволяют разместить в этом поле до двух строк технологических записей до 11 знаков или полноценный штрих- или QR-код. При ручной маркировке возможно сделать запись в одну строку, содержащую не более 8-9 знаков.

Поле для записи предметного стекла (*рис. 19*) имеет размер 24x20 мм. Современные гистологические принтеры для кассет позволяют разместить в этом поле до четырех строк технологических записей до 11 знаков или полноценный штрих- или QR-код. При ручной маркировке возможно сделать запись в две строки, не более 6 знаков в каждой. Потому вопрос максимального упрощения формата регистрационного номера является важнейшей технологической задачей в патолого-анатомическом отделении.

Дополнительные идентификаторы

Дополнительные идентификаторы можно использовать для маркировки различных второстепенных признаков – таких как тип биологического материала, направившее учреждение, метод окраски и прочие параметры, удобные и принятые при организации технологического процесса в данном патолого-анатомическом отделении.

В качестве дополнительных идентификаторов можно использовать цветные заливочные кассеты (*рис. 18*), предметные стекла с цветным полем для записи (*рис. 20*), штрих-кодирование (*рис. 21, 22*) и прочие метки.

Основные требования

1. Регистрация биологического материала, поступившего в патолого-анатомическое отделение, производится в специальном регистрационном журнале по форме № 014-2/у.

2. Уникальный регистрационный номер проставляется на направлении одновременно с записью в регистрационном журнале.
3. Уникальный регистрационный номер проставляется на всех первичных материалах исследования – парафиновых блоках (заливочных кассетах при заливке) и микропрепаратах (предметных стеклах при микротомии).
4. Для нанесения регистрационного номера на заливочных кассетах и предметных стеклах используются простые графитовые карандаши или специальные гистологические принтеры с несмываемой краской.
5. Регистрационный номер на заливочных кассетах и предметных стеклах должен наноситься четко и ясно, без исправлений и помарок.
6. Регистрационный номер на предметном стекле должен четко соответствовать регистрационному номеру блока, с которого изготовлен данный микропрепарат.

Общие рекомендации по процедуре фиксации

1. Образец необходимо помещать в фиксирующий раствор немедленно после взятия. Важно, чтобы кусочки оставались незафиксированным максимально короткое время. Флаконы с материалом следует содержать при температуре не менее 4°C. При отложенной фиксации дегенерация компонентов ткани начинается сразу после того, как ткань лишается кровоснабжения.
2. Соотношение объема фиксирующего агента и тканевого образца должно быть не менее, чем 20:1. Для этого необходимо правильно подбирать размер контейнера. При использовании контейнеров неадекватно малого размера возможно механическое повреждение, деформация и недостаточная фиксация образца (снижение объема фиксирующей жидкости меньше, чем 20:1).
3. Оптимальным для фиксации в текущей гистологической практике для решения большинства диагностических задач является раствор формалина, забуференный при pH 6,8-7,4³². Не рекомендуется использовать фиксирующие растворы с неустановленным pH. Кислый

³² В соответствии пунктом 10 Правил [1].

формалин приводит к образованию в ткани так называемого «формалинового пигмента» бурого цвета, вследствие взаимодействия с гемоглобином. При решении некоторых диагностических задач требуется приложение дополнительных усилий для идентификации химической природы этого пигмента, что может привести к существенному удорожанию исследования. В качественных гистологических препаратах формалинового пигмента быть не должно.

4. Для лабораторного приготовления забуференного формалина рекомендуется использовать пропись R. D. Lillie [5]. Но наиболее предпочтительно использование стандартизованных готовых растворов формалина для гистологии, выпускаемых многими производителями (Merck, Sigma, Panreac, BioOptica и другие), в том числе и российскими (Синтакон, БиоВитрум, Блик и другие). Использование стандартизованных фиксирующих смесей позволяет стандартизовать процедуру и варьировать лишь время экспозиции в зависимости от особенностей исследуемых образцов. Кроме того, использование стандартизованных фиксирующих смесей позволяет избежать многих артефактов фиксации.
5. В ряде случаев для выполнения специальных диагностических или исследовательских задач требуется использование иных фиксирующих агентов, которых известно множество. При этом следует строго соблюдать протокол, предусмотренный оригинальной методикой, и помнить о том, что использование любых методов ускоренной фиксации, или методов фиксации, позволяющих исключить из дальнейшей гистологической обработки этапы щадящей дегидратации (безводные фиксаторы), чреваты появлением грубых тканевых артефактов. К специальным методам фиксации не следует прибегать без особой нужды, когда эта необходимость диктуется особыми диагностическими или исследовательскими задачами. Во всех случаях традиционной гистологии, паноптической гистохимии и иммуногистохимии рекомендуется использование стандартной фиксации материала 10% забуференным формалином.
6. Большие образцы тканей следует как можно быстрее доставлять в лабораторию для вырезки более мелких кусочков и обеспечения правильной фиксации. В крупных образцах, оставленных в фиксирующем растворе на длительное время до вырезки центральная часть остается незафиксированной и может подвергаться значительным разрушениям. Ускорить фиксацию крупных образцов тканей можно дополнительными разрезами толщиной не более 10 мм. Это

обусловлено тем, что средняя скорость проникновения формалина в ткани равна 1 мм в час, и она замедляется по мере удаления от поверхности образца. Считается, что без ущерба для качества фиксации можно вырезать кусочки толщиной не более 5 мм.

7. При фиксации ткань уплотняется и деформируется. Особенно важно избегать деформации нежных столбиков ткани, полученных при пункционных биопсиях, а также любых малых и тонких объектов. Для предотвращения фиксационной деформации столбики ткани рекомендуется до погружения в фиксирующую жидкость разместить на полоске плотной тонкой бумаги, плохо впитывающей жидкость, такой как, например, калька. Излишки кальки можно обрезать на расстоянии 1.0-1.5 мм от края кусочка ткани, и в таком виде образец вместе с калькой погружается в фиксирующую жидкость. Подложка из кальки не позволяет кусочку деформироваться в процессе фиксации. Нефиксированный кусочек хорошо прилипает к бумажной подложке. Кусочек, даже на короткое время помещенный в фиксирующую жидкость, к бумажной подложке не прилипнет. Потому процедуру эту следует выполнять непосредственно после получения образца ткани, и очень быстро, чтобы кусочки оставались незафиксированным максимально короткое время.
8. Особенно важно не допускать механических повреждений пункционного образца при манипуляциях с ним – столбик ткани рекомендуется придерживать пинцетом только за самый край и только в одном и том же месте. Определенную трудность может представлять извлечение столбика ткани из канала пункционной иглы. Для наиболее бережного извлечения столбика ткани пункционную иглу следует полностью раскрыть, поместить мандрен с желобом, в котором находится образец, в каплю теплого физиологического раствора, расположенную на горизонтальной чистой поверхности, и осторожными движениями с помощью тонких препаровальных инструментов снять образец с иглы в каплю физиологического раствора. После этого столбик ткани легко может быть перемещен на бумажную подложку. Этот прием удобно также использовать и при необходимости точной пространственной ориентировки кусочка при некоторых специальных видах исследования.
9. Окончательная фиксация тканевых образцов должна быть полной и адекватной. Забуференный формалин является вполне оптимальной фиксирующей жидкостью, и превышение экспозиции в качественном и незагрязненном растворе на часы или даже сутки не оказывает

негативного влияния на ткани. Излишнее стремление минимизировать время фиксации в формалине может привести к недостаточной фиксации тканевых образцов, вызвать появление дефектов при дальнейшей обработке материала.

10. В порядке оптимизации лабораторных работ можно рекомендовать уже на этапе вырезки разделять потоки разнородных материалов. При этом материал эндоскопических и пункционных биопсий, соскобов эндометрия, биопсий кожи и шейки матки, операционного материала и проч. запускается в обработку отдельными сериями. Для каждой из этих серий материала желательно подобрать оптимальные условия фиксации. Это не сложно, ибо при использовании стандартизованных растворов фиксатора приходится варьировать лишь размерами вырезаемых объектов и экспозицией, величина которой зависит от размеров кусочков и некоторых особенностей тканей (избыток жидкой крови, жира и проч.), но должна быть не меньше 24 часов и не больше 48 часов.

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.

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.

Проводка

Традиционно для комплекса первичной лабораторной обработки тканей для морфологических исследований, включая фиксацию, промывку, обезвоживание и пропитку материала, используются аппараты для проводки тканей карусельного или процессорного типа (тканевые процессоры).

Выбор оборудования для проводки³³

Традиционно в морфологических лабораториях широко используются тканевые процессоры карусельного типа. Наиболее распространены аппараты АТ-4М (Россия), Leica TP1020 (Germany), Microm STP120/122 (Germany), Sakura Rotary (Japan) и Shandon Citadel 2000 (Unated Kindom).

³³ 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.

Это приборы относительно небольшой производительности и минимально защищенные от испарений.

В приборах Leica TP1020, Microm STP120/122 и Shandon Citadel 2000 имеется техническая возможность двойной загрузки, что обеспечивает увеличение их производительности соответственно до 220, 360 и 110 кассет за один цикл. Таким образом, наименьшей производительностью из сравниваемых приборов обладает Shandon Citadel 2000, наибольшей – Microm STP120/122. В качестве дополнительной опции для улучшения качества проводки материала в Leica TP1020 предлагается вакуумная пропитка. Следует также обратить внимание на удобство очистки приборов – у Leica TP1020, Microm STP120/122 и Sakura Rotary контейнеры съемные, тогда как в Shandon Citadel 2000 доступ к ним ограничен. Существенным отличием Leica TP1020 является возможность отсроченного старта до 9 дней.

Среди высокотехнологичных тканевых процессоров, представленных на рынке, отметим Leica ASP300 (Germany), Microm STP420 (Germany), Sakura VIP5 (Japan) и Shandon Hypercenter XP (United Kingdom).

Общими признаками этой группы приборов являются высокая производительность (300 и более кассет за один цикл, исключение составляет лишь Shandon Hypercenter XP, производительность которого в два раза ниже) и схожие технологические решения – такие как закрытый контур, полная защита от испарений, автоматизация основных технологических операций, возможность внешнего контроля технологического процесса. При этом Leica ASP300 оснащен одной ретортой на 300 кассет, Microm STP420 двумя с такой же суммарной вместимостью, Sakura VIP5 оснащен одной ретортой вместимостью 360 кассет. Функция контроля уровня реагентов предусмотрена во всех образцах кроме Microm STP420.

В технологии Leica ASP300 и Microm STP420 предусмотрено использование вакуума, причем в Microm STP420 имеется два фиксированных режима – 26КПа и 74КПа, а в Leica ASP300 уровень отрицательного давления регулируется автоматически.

Все приборы оснащены программами очистки – в Leica ASP300 имеется четыре стандартных программы различной продолжительности, в Sakura VIP5 – две стандартные программы, в Microm STP420 программа очистки устанавливается произвольно.

Объем емкостей для реагентов имеет значение для оценки их расхода – но минимальные по объему емкости предлагаются в Sakura VIP5 (возможны

комплектации с емкостями объемом либо 2,7 л, либо – 3,7 л), самыми большими емкостями (объемом 5 л) комплектуется Microm STP420.

Наиболее удобное в работе сенсорное управление использовано в Leica ASP300 и Microm STP420, напротив – Sakura VIP5 оснащается обычным жидкокристаллическим дисплеем и управляется с помощью клавиатуры.

В приборах Leica ASP300 и Microm STP420 возможно использование любых реагентов, что обеспечивает определенную гибкость, возможность выбора, реализацию отдельных профессиональных предпочтений специалистов с учетом конкретных экономических условий деятельности лаборатории. Напротив – Sakura предлагает для своего прибора полную линейку стандартных готовых к употреблению реагентов, в том числе – неформалиновый фиксирующий агент и бесксилольную технологию пропитки.

Особое место в ряду тканевых процессоров занимает гистоконвейер Sakura Tissue-Tek Xpress (Japan). Прибор представляет собой новое в технологии тканевого процессинга техническое решение, основанное на поточном принципе с использованием мягкого микроволнового облучения. Sakura предлагает для своего прибора полную линейку стандартных готовых к употреблению реагентов, в том числе – неформалиновый фиксирующий агент и бесксилольную технологию пропитки.

Технология проводки

1. Программу проводки необходимо выбирать в зависимости от типа ткани и размеров образцов. Слишком длинная программа для маленьких (например, эндоскопических) биопсий или слишком короткая для крупных образцов, особенно содержащих жировую ткань (молочная железа и др.), может привести к дефектам проводки материала. Вариантов программ проводки может быть множество, и по большому счету не важно – какому из этих вариантов отдается предпочтение, важно конечное качество гистологических препаратов и какой ценой это достигается. Всегда наиболее предпочтительно использовать надежную, апробированную программу проводки, в случае если она дает хороший и стабильно воспроизводимый результат. Модернизация программ может потребоваться, например, при решении задач увеличения производительности патолого-анатомического отделения. При этом изменения в привычную программу проводки рекомендуется вводить пошагово, четко документируя все

нововведения, сколь незначительными они бы ни казались, с оценкой получаемых результатов путем пробных проводок малых партий материала.

2. При переходе от ручных методов проводки к аппаратным начинать следует с программ, рекомендуемых фирмой-производителем, с последующей их коррекцией исходя из особенностей конкретного материала. При этом изменения в стандартную программу проводки рекомендуется вводить пошагово, четко документируя все нововведения, сколь незначительными они бы ни казались, с оценкой получаемых результатов путем пробных проводок малых партий материала.
3. Программы проводки следует подбирать исходя из конкретных технологических условий лаборатории, видов и объемов исследуемого материала. Не редко в патолого-анатомическом отделении одновременно используется несколько программ проводки – например, для малых биопсий, для операционного материала, для аутопсийного материала. Кроме стандартной плановой программы проводки, в некоторых отделениях требуется выполнять ускоренную проводку материала – в таких случаях полезны дополнительные технические возможности современных гистологических процессоров – такие как вакуум, повышенное давление, микроволновое облучение и др.
4. Укорочение стандартной процедуры проводки возможно только с применением дополнительных методов физического воздействия на образцы, ускоряющих пропитывание ткани – таких как вакуум, повышенное давление, микроволновое облучение и др.
5. Остатки формалина при недостаточном его отмывании способствуют задержке в тканях капель воды, не удаляемых при процедуре дегидратации – в этих участках не будет полноценного пропитывания парафином. Потому не следует произвольно укорачивать время отмывки после формалина, причем чем кусочки большего размера – тем время отмывания должно быть больше.
6. Произвольное укорочение времени дегидратации и пропитывания при обычных внешних условиях проводки (температура, давление и проч.) могут привести к резкому ухудшению качества пропитывания ткани. Недостаточная дегидратация ткани возможна при произвольном укорочении процедуры или при использовании загрязненных

спиртовых растворов. Оставшиеся в тканях капли воды препятствуют полноценному пропитыванию образца парафином.

7. Высушивание образцов возможно при использовании в процедуре проводки хлороформа вместо ксилола. Хлороформ очень летуч и потому быстро испаряется с поверхности кусочков, вызывая их высушивание и растрескивание. При использовании хлороформа в процедуре проводки следует насколько возможно сократить время пребывания кусочков на открытом воздухе при переносе между емкостями (при ручной проводке или при использовании процессоров карусельного типа). Высушивание образцов возможно и при резком увеличении времени пребывания кусочков на открытом воздухе из последней спиртовой емкости в ксилол или между ксилольными емкостями.
8. Перегрев образцов возможен при инкубации образцов в первой парафиновой емкости сильно загрязненной ксилолом при 56°C. Дело в том, что температура плавления ксилол-парафиновой смеси приближается к 37°C, а при 56°C смесь близка к кипению – в результате кусочки практически «свариваются» или «пережигаются». Единственный способ избежать этого артефакта – своевременно менять первый парафин. Примеси ксилола во второй и третьей парафиновых емкостях вообще недопустимы.
9. Для оптимальной проводки и получения качественных микропрепаратов ткань должна быть хорошо зафиксирована. Если после неполной фиксации образцы ткани при проводке попадают в спирт, то возникает феномен зональной фиксации (формалиновая фиксация по периферии образца, спиртовая фиксация в центре). 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.

10. Для получения наилучших результатов при проводке материала необходимо использовать реагенты высокого качества. Реагенты для проводки необходимо заменять в четком соответствии с протоколом. Предпочтительно использование системы контроля за реагентами, применяемой в современных гистологических процессорах. Использование загрязненных или разбавленных реагентов приводит к плохому качеству проводки материала.
11. Традиционно для дегидратации используется этиловый спирт (этанол). Спирты, используемые для проводки должны сохранять характерный запах, быть прозрачными. Всегда следует заменить спирты перед проводкой новой партии образцов, если они имеют мутный вид. Наиболее быстро загрязняется первая емкость с 70% спиртом, при больших объемах материала его приходится менять практически перед проводкой каждой новой партии образцов. Очень важно для адекватной дегидратации материала в последней спиртовой емкости всегда иметь чистый неразбавленный спирт – потому ее тоже надо заменять довольно часто (при использовании процессоров карусельного типа спиртовые емкости просто сдвигают на одну позицию назад).

К сожалению, возможности использования в здравоохранении спирта этилового 96-98% в настоящее время отсутствуют, и лучшее что мы можем получить для лаборатории – это «спирт медицинский 95%». Широко использовавшиеся ранее методические приемы кустарного обезвоживания спирта в лабораторных условиях с помощью сульфата меди (медный купорос) – малопроизводительны и теперь уже мало где применяются. Выходов из этой ситуации три.

Первый – четко контролировать каждую поступающую партию спирта медицинского с помощью спиртометра и корректировать методику разведения спиртов в зависимости от концентрации исходного раствора. Из опыта можем отметить, что поступающий в медицинские организации фармакопейный «спирт медицинский 95%» в реальности может иметь концентрацию основного вещества от 93,7% до 95,7%.

Второй – использовать для проводки только высококачественный ксилол квалификации не ниже «хч». Это тоже может оказаться проблемой, но вполне решаемой.

Третий – использовать для проводки высокоочищенный изопропиловый спирт (изопропанол) с концентрацией основного

вещества не менее 99,5%, в котором осуществляются все этапы дегидратации и пропитки до парафина – таким образом, из использования исключаются не только этанол, но и ксилол.

12. Формалин, используемый для проводки, должен сохранять характерный резкий запах, быть прозрачным, допускается слегка желтоватый оттенок цвета. Всегда следует заменить формалин перед проводкой новой партии образцов, если он загрязнен примесью крови (красно-бурый цвет), жира (опалесцирует или имеет хорошо различимые жировые капли), мелкими фрагментами тканевых образцов из предыдущей партии проводки, или если он имеет мутный вид и осадок.
13. Промывочную воду необходимо заменять на свежую перед проводкой каждой новой партии материала независимо от того, насколько чистой она кажется глазу.
14. Ксилол, используемый для проводки должен сохранять характерный запах, быть прозрачным. Всегда следует заменить ксилол перед проводкой новой партии образцов, если он имеет мутный вид. Наиболее быстро загрязняется первая емкость ксилола, следующая за спиртом, при больших объемах материала его приходится менять практически перед проводкой каждой новой партии образцов. Очень важно для адекватной пропитки материала в последней ксилольной емкости всегда иметь чистый ксилол – потому ее тоже надо заменять довольно часто (при использовании процессоров карусельного типа и небольших партиях материала в проводке ксилольные емкости можно просто сдвигать на одну позицию назад).
15. Для получения наилучших результатов при проводке и заливке материала необходимо использовать парафин высокого качества. В настоящее время предлагается множество марок специализированного гранулированного парафина для гистологии. Основные качественные характеристики – температура плавления 56°C (отсутствие легко- и тугоплавких фракций), гомогенность (поверхность разлома застывшего парафинового блока должна иметь равномерный мелкозернистый вид), пластичность (не растрескивается при замораживании до –20°C). Парафин, используемый для проводки, должен быть полностью расплавленным при температуре, заданной протоколом, с легким, почти неуловимым запахом воска. Недопустимы примеси ксилола во второй и третьей парафиновых емкостях – парафин, загрязненный ксилолом, имеет резкий нехарактерный запах, более жидкую

консистенцию при 56°C, так как температура его плавления много ниже (приближается к 37°C). Очень важно для адекватной пропитки материала в последней парафиновой емкости всегда иметь чистый парафин – потому ее тоже надо заменять довольно часто (при использовании процессоров карусельного типа парафиновые емкости просто сдвигают на одну позицию назад).

16. По возможности рекомендуется применять методы проводки без использования ксилола (реализовано в некоторых современных гистологических процессорах – отказ от использования токсичных реагентов без потери качества проводки материала). Существенный недостаток – значительно большая стоимость этих технологий. Из наиболее доступных заменителей ксилола для гистологической проводки можно рекомендовать высокоочищенный изопропиловый спирт (изопропанол) с концентрацией основного вещества не менее 99,5%, в котором осуществляются все этапы дегидратации и пропитки до парафина – таким образом, из использования исключаются те только ксилол, но и этанол.
17. Не рекомендуется запускать в одной серии проводки разнородный тканевой материал. Предпочтительно мелкие биопсии (гастробиопсии, пункционные биопсии) запускать в проводку отдельно, например, от операционного материала, или от тканей, содержащих много жидкой крови (соскобы эндометрия) или жира (кожа, липомы). В учреждениях с большими объемами разнородного материала всегда следует разделять потоки разнородного материала, основываясь на особенностях, могущих оказать влияние на качество проводки тканей. Понятно, что программы проводки также следует адаптировать отдельно для каждого вида тканей – только тогда можно рассчитывать на стабильно хорошее качество препаратов.

Унифицированная процедура проводки

1. Унификация процедуры проводки определяется выбранной программой проводки. Подбор адекватной программы для каждого типа материала, с учетом пробных проводок, может занять достаточно продолжительное время, но потраченные усилия обеспечат стабильность работы лаборатории на длительную перспективу.

2. Реагенты для проводки необходимо заменять в четком соответствии с протоколом. Предпочтительно использование системы контроля за реагентами, применяемой в современных гистологических процессорах.

Заливка

Выбор оборудования для заливки³⁴

Заливочные станции предназначены для заливки материала в парафин и изготовления парафиновых блоков. Это оборудование существенно облегчает технологию заливки, исключает использование спиртовок, существенно сокращает затраты рабочего времени. Все имеющиеся на рынке приборы характеризуются принципиально похожим техническим решением – оснащены емкостями для парафина, функцией автоматической подачи парафина, горячими камерами для содержания заливочных форм и кассет с материалом, горячими и охлаждаемыми рабочими поверхностями.

Основные представленные на рынке приборы – это Leica EG1160 (Germany), Microm EC350 (Germany), Sakura TEC5 (Japan) и Shandon Histo-centre 3 (United Kindom). При сравнении основных технологических параметров приборов существенных, с точки зрения пользователя, различий не обнаруживается.

Различия объемов отсеков для парафина от 3 л до 5 л, даже при больших заливках, не имеет особого значения, ибо чаще всего для одного сеанса работы хватает уже и 3 л.

В приборе Leica EG1160 для подачи парафина используется электромеханическая помпа, тогда как в сравниваемых образцах Microm EC350, Sakura TEC5 и Shandon Histo-centre 3 подача парафина обеспечивается созданием избыточного давления в камере.

Различия вместимости охлаждающей панели также представляются нам не существенными. Единственное, пожалуй, принципиальное отличие технических решений Microm EC350, Sakura TEC5 и Shandon Histo-centre 3 от Leica EG1160 состоит в применении двухмодульной конструкции, позволяющей модифицировать рабочее место по желанию пользователя.

Однако, справедливости ради, следует отметить, что в приборной линейке Leica имеются и модульные решения заливочных станций – такие как EG1150 – они, разумеется, имеют более простую конструкцию и характеризуются существенно меньшей стоимостью.

³⁴ 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.

Общие рекомендации по процедуре заливки

1. Во избежание путаницы следует всегда производить одновременную заливку в блок только одного образца из одной кассеты. Не следует одновременно вскрывать несколько кассет при процедуре заливки.
2. Не следует в один блок заливать кусочки из нескольких кассет. Не следует в один блок заливать несколько кусочков, даже если они проводились в одной кассете. Всегда рекомендуется следовать правилу – в один блок следует заливать только один кусочек, на один блок следует наносить только один уникальный регистрационный номер, соответствующий номеру кусочка.
3. Всегда перед заливкой следует проверить четкость маркировки блока (основание кассеты или заливочное кольцо) и ее соответствие маркировки кассеты.
4. Заливочные формочки следует подбирать сообразно размерам тканевых образцов. Не следует использовать для всех образцов одинаковые заливочные формочки. При использовании крупных формочек для мелких образцов на поверхности блока, предназначенной для реза, остается широкая полоса пустого парафина, не содержащего ткани, что значительно увеличивает площадь среза. Чем больше площадь среза, тем сложнее получить равномерно тонкий качественный срез. В таких ситуациях площадь поверхности среза обычно уменьшают путем ручной обрезки излишков парафина вокруг кусочка, что является непроизводительными тратами времени.
5. Все манипуляции с образцами выполняются аккуратно. При заливке образцы не следует с силой придавливать ко дну заливочной формочки – некоторые образцы, деформировавшиеся на предыдущих этапах обработки, при этом могут быть сломаны.
6. Образцы следует переносить из кассет в заливочные формы параллельно – то есть той же поверхностью вниз, как они лежат и в кассетах. Таким образом, поверхность, выбранная для среза врачом во время вырезки, всегда попадет на вершину парафинового блока. Неплотное прилегание кусочка к поверхности реза в блоке увеличивает количество «пустого» парафина, который при микротомии приходится срезать – это увеличивает время процедуры микротомии, вызывает

дополнительный износ микротомных лезвий и увеличивает площадь среза.

7. Если образец имеет вытянутую форму – его следует ориентировать по длинной оси заливочной формы, чтобы при микротомии рез приходился по малой стороне кусочка.
8. Температуру горячей части заливочного комплекса и резервуара с парафином рекомендуется проверять регулярно. Если температура горячей части заливочного комплекса и резервуара с парафином превышает температуру плавления парафина, то и на этой стадии обработки образец может быть поврежден воздействием высокой температуры. Локальные термические повреждения кусочков возможны при их контакте с раскаленными браншами щипцов с помощью которых производится заливка материала. Перегрев инструментов выше температуры плавления парафина при заливке возможен при использовании спиртовки, как это обычно бывает в процедуре ручной заливки. Щипцы, с помощью которых производится перенос материала из кассет и ориентация образцов в заливочной форме следует нагревать не более чем до температуры плавления парафина. Современные заливочные станции оснащены специальными гнездами для нагрева браншей пинцетов, причем температура нагрева в них соответствует температуре парафинового танка. Термические повреждения образцов возможны и за счет перегрева горячей части заливочного комплекса и резервуара с парафином выше температуры плавления парафина. Перегрев инструментов при заливке возможен при использовании спиртовки, как это обычно бывает в процедуре ручной заливки. Если щипцы, с помощью которых производится заливка материала, нагреваются до температуры большей, чем температура плавления парафина – это может приводить к локальным термическим повреждениям ткани в области контакта с раскаленными щипцами.
9. Избыточное количество парафина вызывает его затекание между кассетой и формой. Потечи парафина вокруг блока требуют обрезания его по краям, кассеты не плотно фиксируются в микротоме, что приводит к нестабильности блока и возможности повреждения образца при микротомии. Иногда при обрезании избытков парафина могут быть утрачены некоторые элементы маркировки блока. Кроме того, обрезание излишков парафина вокруг блоков являются непроизводительными тратами времени. В заливочную формочку

следует наливать ровно столько парафина, чтобы заполнить ее до краев.

10. Парафин следует наливать в хорошо прогретую заливочную форму, иначе он преждевременно застынет, что влечет за собой неравномерное застывание парафина в блоке, появление трещин в толще блока и в окружности кусочка. При появлении таких дефектов блок надо перезалить. Если этот дефект обнаруживается во время микротомии следует заливочную форму с кусочком на некоторое время оставить на горячей плате заливочного комплекса до полного расплавления парафинового ореола, и только после этого продолжить монтаж основания блока. Если кусочек при переносе из кассеты в заливочную форму долго находится на воздухе, парафин на его поверхности застывает, и при перемещении в парафин не успевает полностью расплавиться. В результате, вокруг кусочка формируется зона неравномерного застывания парафина в виде мутного ореола с трещинами. Во время микротомии нередко кусочки из таких блоков выкрашиваются и выпадают при ударе о нож. При появлении таких дефектов блок надо перезалить. Если этот дефект обнаруживается во время микротомии следует заливочную форму с кусочком на некоторое время оставить на горячей плате заливочного комплекса до полного расплавления парафинового ореола, и только после этого продолжить монтаж основания блока.

Унифицированная процедура заливки

1. Выбрать заливочную форму, соответствующую по размеру кусочку (рис. 23). Для заливки следует использовать чистые, насухо протертые заливочные формы, не содержащие остатков парафина от предыдущих заливок.
2. Поместить заливочную форму на горячей поверхности заливочного комплекса и прогреть ее до температуры плавления парафина.
3. Налить парафин в заливочную форму так, чтобы заполнить только углубление для кусочка. При этом парафин должен оставаться расплавленным, Если по краям или днищу формы появляются белесоватые фокусы застывания парафина – значит форма недостаточно прогрета, и ее следует оставить на горячей поверхности до тех пор, пока весь налитый в нее парафин не расплавится полностью.

4. Извлечь одну кассету с материалом из горячей емкости для кассет и разместить ее основанием вниз на горячей поверхности.
5. Открыть кассету, и крышку выбросить в рядом стоящий лоток.
6. Аккуратно приподнять верхнюю прокладку и перевернуть ее, проверить – не прилипли ли к прокладке мелкие кусочки материала. При этом следует проверить соответствие фактического числа кусочков, находящихся в кассете, маркировке. Если к внутренней стороне прокладке прилипли мелкие кусочки материала из кассеты, ее следует перевернуть кусочками вверх и разместить на горячей поверхности рядом с открытой кассетой. Если на верхней прокладке кусочков не обнаруживается – тогда ее можно выбросить в рядом стоящий лоток, но обязательно внутренней поверхностью вверх. Лоток для отработанных прокладок должен быть отдельным, отработанные прокладки следует складывать по порядку, чтобы всегда можно было бы восстановить какая прокладка относится к какой кассете на случай, если потеряется один из кусочков.
7. Осторожно, горячим пинцетом, извлечь из кассеты кусочки вместе с нижней прокладкой, и разместить её на горячей поверхности рядом с открытой кассетой.
8. Подготовить основание для блока и проверить его маркировку. В один блок следует заливать только один кусочек (*рис. 24*). Заливка нескольких тканевых образцов в один парафиновый блок (*рис. 25*) не допускается, за исключением случаев соскобов, эндоскопических резекций и работ по технологии *microarrays*. Потому, если в кассете осуществлялась проводка нескольких кусочков – следует приготовить основания для блоков по количеству кусочков, находящихся в кассете. В качестве основания блока можно использовать как основания кассет, так и заливочные кольца (*рис. 26*). Перед монтажом блока основание также следует держать нижней поверхностью на горячей поверхности прибора.
9. Проверить маркировку приготовленных оснований блоков – каждый блок должен быть маркирован уникальным номером, соответствующим номеру залитого в него образца.

10. Осторожно, горячим пинцетом, взять кусочек и аккуратно перенести его в заливочную форму с расплавленным парафином (см. пункт 3), стараясь как можно меньшее время держать его на открытом воздухе.
11. Кусочек следует переносить параллельно, максимально сохраняя его расположение в кассете, обращая особое внимание на то, что поверхность кусочка, располагавшаяся на дне кассеты, должна оказаться и на дне заливочной формы.
12. Предпочтительно ориентировать кусочек по центру углубления и по длине заливочной формы.
13. Все манипуляции с кусочком в заливочной форме следует производить горячим пинцетом, не допуская даже частичного застывания парафина. Если кусочек имеет малые размеры и может быть сдвинут струей парафина при заполнении блока – его можно зафиксировать к днищу заливочной формы легким подмораживанием, для чего форму на одну (не более) секунду можно переместить на холодную поверхность заливочного комплекса.
14. Установить основание блока сверху заливочной формы так, чтобы верхняя кромка залитого в него парафина покрывала пластиковую решетку основания.
15. Зафиксировать основание блока в заливочной форме можно переместив форму на одну (не более) секунду на холодную поверхность заливочного комплекса. Это также позволит подморозить края прилегания основания к металлической заливочной форме и предотвратить вытекание парафина из блока до его застывания.
16. Заполнить расплавленным парафином основание блока до $\frac{3}{4}$ объема внутренней полости и переместить блок на холодную поверхность прибора.
17. Дождаться полного застывания парафина. Заливочные формы должны отделяться от застывшего блока легко, без усилий.

Критерии качества парафинового блока

1. Парафиновый блок должен иметь гладкую поверхность без выщербин и прочих дефектов.

2. Кусочек в блоке должен быть расположен максимально близко к поверхности реза, и возможно более точно к середине площадки. При продолговатой форме кусочка, он должен быть ориентирован по длиннику блока.
3. Застывший парафин в блоке должен иметь однородный вид, без трещин, пузырей, зон уплотнений и разрежений. Особо следует обращать внимание на отсутствие трещин или белесоватых ореолов вокруг кусочка в блоке.
4. Блок должен иметь достаточно много парафина в основании, чтобы не отломиться под ударом ножа при микротомии.
5. На блоке не должно быть посторонних потеков парафина за пределами основания или заданной формы. При наличии таких потеков их следует аккуратно срезать.
6. Маркировка блока должна быть четкой и хорошо различимой, не смазанной и не залитой парафином.

Микротомия

Выбор оборудования для микротомии³⁵

Для изготовления парафиновых срезов используются специальные приборы – микротомы. Существует два принципиально отличных технических решения в конструкции этих приборов: так называемый «санный» микротом – ручное горизонтальное перемещение ножа, механическая винтовая подача образца, использование многоцветных микротомных ножей; «ротационный» микротом – ротационная ручная или механизированная подача образца на жестко закрепленный нож, возможность использования одноразовых лезвий, ретракция, различные варианты автоматизации. Ротационные механизмы используются и в конструкции современных криомикротомов.

Механические ротационные микротомы на рынке представлены моделями Leica RM2125 (Germany), Leica RM2235 (Germany), Microm HM325

³⁵ 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.

(Germany), Sakura SRM200 (Japan) и Shandon FINESSE 325 (United Kindom). Промежуточное положение занимают не полностью моторизованные ротационные микротомы типа Leica RM2245 (Germany). Полностью автоматизированные роторные микротомы на рынке представлены моделями Leica RM2255 (Germany), Leica RM2265 (Germany), Microm HM350 (Germany), Microm HM355 (Germany) и Shandon FINESSE ME+ (United Kindom).

Саннные микротомы являются самыми простыми приборами, с весьма ограниченными техническими и функциональными возможностями.

В группе механических ротационных микротомов на рынке представлены следующие модели: Leica RM2125 (Germany), Microm HM325 (Germany), Sakura SRM200 (Japan) и Shandon FINESSE 325 (United Kindom).

Приборы Leica RM2125 и Sakura SRM200 имеют диапазон устанавливаемой пользователем толщины срезов от 0,5 мкм до 60 мкм, и тримминг от 10 мкм до 50 мкм. Microm HM325 характеризуется более широким диапазоном регулировки толщины срезов (0,5-100 мкм), но более узким диапазоном тримминга (10-30 мкм) и Shandon FINESSE 325 характеризуется минимальным диапазоном регулировки толщины срезов (1-30 мкм).

Величина ретракции образца в приборах Leica RM2125 и Sakura SRM200 имеет сравнимую величину (соответственно 200 мкм и 220 мкм), что в 4000 раз превышает наиболее часто используемую толщину срезов (0,5 мкм), и более чем в 3 раза превышает максимально возможную толщину среза. Величина ретракции в Microm HM325 составляет 60 мкм, что лишь в 120 раз превышает наиболее часто используемую толщину срезов ($120 \times 0,5 \text{ мкм} = 60 \text{ мкм}$), и даже меньше максимально возможной толщины среза.

Величина горизонтального смещения образца в моделях Leica RM2125, Microm HM325, Sakura SRM200 имеет сравнимую величину, хотя увеличение этого параметра на 2 мм в Leica RM2125 создает условия для лучшей функциональности этой модели при работе с малыми образцами, поперечный размер которых меньше 2 мм. Следует, однако, заметить, что меньший диапазон поперечного смещения образца в Sakura SRM200 полностью компенсируется возможностью поперечного смещения ножа. Отсутствие же функции поперечного смещения ножа в Microm HM325 в сочетании с меньшей величиной горизонтального смещения образца существенно снижает функциональность прибора, особенно при работе с малыми образцами. Shandon FINESSE 325 характеризуется минимальной в

сравниваемом ряду приборов величиной возможного горизонтального смещения образца при отсутствии функции поперечного смещения ножа. Величина вертикального смещения образца во всех описываемых моделях имеет сравнимую величину, а имеющиеся отличия не оказывают влияния на функциональность приборов.

Наличие в Microm HM325 счетчика срезов создает дополнительное удобство при работе и позволяет объективно оценить нагрузку на прибор.

Следует отметить, что в линейке механических ротационных микротомов, выпускаемых Leica (Germany), имеется более продвинутая модель Leica RM2235, существенно отличающаяся от описанных выше моделей, и потому из этого сравнительного ряда исключенная.

В группе автоматизированных ротационных микротомов на рынке представлены следующие модели: Leica RM2255 (Germany), Microm HM350 (Germany), Microm HM355 (Germany) и Shandon FINESSE ME+ (United Kindom).

Все представленные приборы характеризуются высокой производительностью за счет широкого спектра моторизованных функций и отличным качеством приготовления срезов. Основными техническими особенностями, выгодно отличающими модель Leica RM2255 от аналогов являются наличие функции ретракции без полного оборота ротора, более широкий диапазон тримминга, более удобная конфигурация информационных дисплеев и органов управления.

Следует отметить, что в линейке автоматизированных ротационных микротомов, выпускаемых Leica (Germany), имеется более продвинутая модель Leica RM2265, существенно отличающаяся от описанных выше моделей, и потому из этого сравнительного ряда исключенная.

Общие рекомендации по процедуре микротомии

1. Для микротомии всегда следует использовать острые лезвия высокого качества. Не следует использовать лезвия до появления полос на срезе. Борозды на препарате чаще всего являются результатом повреждения материала ножом при микротомии. Следы от ножа могут просматриваться по всей поверхности среза, но чаще выявляются в виде единичных борозд, идущих по направлению хода ножа. Грубые борозды хорошо видны макроскопически. Поверхность ножа может

иметь зазубрены, быть недостаточно заточенной или поврежденной в процессе работы (после контакта с металлическими инструментами или при резке плотной ткани, содержащей участки кальцификации).

2. При использовании тупых ножей, грубой микротомии с применением слишком мягких заливочных сред может произойти смещение костных балок, коллагеновых, эластических и ретикулярных волокон, что обусловлено изменением их направления и механической ориентацией по ходу ножа.
3. Угол наклона ножа настраивается отдельно для каждого микротомы, вида ножа и плотности блока. Если угол наклона ножа не изменяется в зависимости от изменения условий – другой микротом, другой тип ножа, другой парафин – это приводит к снижению качества срезов.
4. Появление тонких параллельных разрывов препарата обычно объясняется нестабильным положением ножа при микротомии плотных образцов тканей. В большинстве случаев это связано с недостаточной фиксацией лезвия в микротоме.
5. Кроме того, чрезмерная ломкость материала может быть обусловлена высушиванием образца при проводке или чрезмерным охлаждением кусочка при приготовлении замороженных срезов.
6. Грубые вибрационные повреждения материала возникают в первую очередь при обработке больших кусков плотных тканей (чаще всего, препараты шейки и тела матки), при плохом закреплении ножа микротомы или образца в держателе. В ряде случаев причиной вибрационных повреждений могут быть технические характеристики микротомы.
7. В качестве подготовки к микротомии с поверхности реза блока необходимо удалить лишний парафин, выровнять ее таким образом, чтобы в срез попадала максимальная площадь кусочка, а также отполировать. Подрезку (тримминг) блоков следует производить бережно, чтобы не утратить важные фрагменты ткани. Для полировки поверхности блока толщину последних нескольких срезов тримминга всегда следует делать равной конечной толщине среза. Если для ускорения процесса блоки подрезаются не аккуратно (высокая скорость, очень большая величина подачи), поверхность не полируется перед изготовлением финальных срезов – это приводит к формированию большого количества рваных дефектов ткани, в срезе похожих на дырки "проеденные молью".

8. Если кусочек залит в блок таким образом, что прилежит к плоскости реза не ровной (изогнутой, деформированной) поверхностью, при попытке добиться максимальной площади ткани в срезе можно при тримминге срезать критически большой объем кусочка, или вовсе утратить объект. В таких случаях блок лучше перезалить, и при перезаливке постараться, насколько это возможно, более плотно прижать кусочек к дну заливочной формы.
9. Перед микротомией блоки следует охлаждать так как они всегда должны быть холодными во время резки. Чем холоднее блок, тем плотнее парафин, и тем проще будет получить тонкие срезы. Если для микротомии используются неохлажденные блоки – это приводит к сильной деформации кусочка при резке. Считается, что идеальна для охлаждения блоков температура «талого льда». Традиционно лаборанты используют для охлаждения блоков перед микротомией пластиковые емкости со льдом. Это не очень технологично, так как на поверхности льда помещается не много блоков, он быстро подтаивает, и емкости приходится часто менять, для чего необходимо отрываться от рабочего места, чтобы подойти к холодильнику.
10. Рядом фирм, специализирующихся на выпуске медицинского лабораторного оборудования, производятся настольные морозильные камеры малых размеров с горизонтально расположенной морозильной камерой, вместимостью до 200 блоков. Этот прибор удобно размещается на рабочем месте (рис. 27) рядом с микротомом, и избавляет лаборанта от непроизводительных потерь времени.
11. Надо помнить, что блоки перед микротомией не следует сильно замораживать – это может привести к появлению трещин в парафине, особенно по краю залитого кусочка, в виде белесоватого ореола. Качественный парафиновый блок не должен растрескиваться при охлаждении до -20°C . При появлении трещин в блоках при температурах в указанном пределе следует обратить внимание на качество используемого парафина.
12. При микротомии следует устанавливать малую скорость реза. При высокой скорости реза в момент удара ножа о край блока, из него выколачиваются мелкие зерна парафина, из-за чего в срезе появляются рваные дефекты в виде выщербин или полос. В таких случаях поверхность реза следует заново отполировать ножом, чтобы в дальнейшем получить нормальные срезы.

13. Если в лаборатории традиционно используются адгезивные средства, добавляемую во флотационную жидкость, то существует опасность отложений избытков адгезива на срезах. Адгезивы могут откладываться на срезах в виде аморфных слабо базофильных гомогенных масс в результате вымывания или испарения флотационной жидкости. Отложению адгезивов на срезах могут способствовать неоднородная структура тканей (легкое), низкое качество срезов и использование адгезивов, которые плохо стекают с предметного стекла. Не следует помещать на плитку для высушивания стекла, содержащие избыток раствора адгезива.
14. Использование тонких (3-5 мкм) срезов и высококачественных предметных стекол с идеально ровной гладкой поверхностью обеспечивает надежное прилипание тонких срезов к стеклу за счет сил поверхностного натяжения и, таким образом, исключает необходимость применения адгезивных средств при большинстве гистологических окрасок, не предполагающих термической обработки срезов.
15. Пузырьки воздуха могут образоваться под срезом при его помещении во флотационную ёмкость. Если пузырьки сохраняются под срезом при переносе его на предметное стекло, они препятствуют плотной его адгезии, и в этих участках при высушивании образуются округлой или овальной формы мелкие дефекты в виде трещин и разрывов, выявляемые при микроскопии. Чаще всего это связано с нарушениями техники монтирования среза на предметное стекло. Самой частой ошибкой является захват и подведение пузырьков воздуха под срез предметным стеклом. Правильной тактикой является натягивание среза на стекло, расположенное под углом к поверхности воды. Для уменьшения количества пузырьков воздуха во флотационную ёмкость рекомендуется заливать свежекипячёную воду с минимальным содержанием растворенных газов.
16. Загрязнения микропрепаратов фрагментами плоского эпителия встречается не редко и связаны с попаданием на срез чешуек кожи пальцев, перхоти или эпителия слизистых оболочек носоглотки и ротовой полости при чихании и кашле. Лаборантов следует предупредить о соблюдении элементарных гигиенических мер, направленных на исключение такого рода контаминаций, и строго за это спрашивать. За кожей рук необходимо ухаживать с использованием питательных и увлажняющих кремов и смазок, волосы необходимо

полностью убирать под медицинские шапочки, для исключения распыления слюны следует использовать медицинские маски. Никогда не следует прикасаться руками ни к срезам, ни к поверхности предметных стекол – все манипуляции со срезами необходимо производить лишь с использованием кисточек и специальных инструментов, а предметные стекла можно брать рукой только за ребра по краям матовой полосы для записи.

17. Хрящевая ткань одна из наиболее сложных для обработки, так как препараты плохо расправляются. Избежать складок в материале помогает применение специальных техник обработки: пропитывание в целлоидин-парафиновых смесях (double-embedding) или заливка в смолы. Образование складок связано в первую очередь с тем, что хрящевая ткань в процессе проводки сильно ссыхается и лишь частично расправляется при флотации.
18. Смонтированные срезы, оставленные неокрашенными на длительный срок на открытом воздухе, могут быть загрязнены различными агентами, например: микроорганизмами, особенно аэробными грибами, взвешенными в воздухе частицами, волосками от кисточки, при переносе среза с лезвия в ванночку, частицами целлюлозы с салфеток, используемых для очистки ванночки или покровных стекол, пылью. Желательно свежеприготовленные срезы перед окраской высушивать в закрытых контейнерах. Срезы, которые предполагается хранить некоторое время неокрашенными рекомендуется содержать в закрытых контейнерах. Кроме того, стекла необходимо тщательно промывать перед процедурой окрашивания.
19. Воду в емкости для флотации (водяная баня) следует заменять так часто как это возможно. Если вода в емкости заменяется редко, а только добавляется, то на срез могут попасть различные загрязняющие агенты, такие как споры грибов или фрагменты срезов с других блоков. Если поверхность воды во флотационной емкости не очищается после каждого блока – это может привести к попаданию частичек одного препарата на другой и быть причиной диагностических ошибок. Перед микротомией каждого нового блока следует тщательно очищать поверхность воды от мелких остатков срезов с предыдущего блока. Микротомию разнородного материала следует производить на разных микротоммах, или полностью менять воду в водяной бане перед началом работы. Часто на поверхности воды остаются мелкие фрагменты срезов от abortного материала (мелкие ворсины) – потому этот материал

следует направлять на микротомию либо на отдельное рабочее место, либо последним в течение рабочего дня.

20. Для расправления срезов в водяной бане рекомендуется всегда использовать свежеприготовленную дистиллированную воду – это гарантирует избавления от избытков солей и механических примесей.
21. Перед использованием всегда следует проверять чистоту предметных стекол. Предметные стекла следует готовить для размещения на них срезов непосредственно перед микротомией и в количестве, необходимом для изготовления требуемого числа препаратов. Нельзя раскладывать стекла заранее и оставлять их лежать на воздухе длительное время. Прикосновение к стеклам руками необходимо исключить, или свести к минимуму, чтобы предотвратить загрязнение их чешуйками плоского эпителия кожи рук. Никогда не следует прикасаться руками к поверхности предметных стекол, предметные стекла можно брать рукой только за ребра по краям матовой полосы для записи. Если чистота предметных стекол не контролируется, на них попадают частички грязи и микроорганизмы, которые портят даже хороший микропрепарат.
22. Для гистологических микропрепаратов предпочтительно выбирать предметные стекла, изготовленные из нейтрального стекла, толщиной не более 1,0 мм, бесцветные, с идеально ровной и гладкой поверхностью и матовой полосой для записи. Наличие шлифованного края существенно увеличивает стоимость стекла. Вместе с тем, стекла с нешлифованным краем, особенно при неосторожном обращении, дают много мелких осколков на предметном столе микроскопа, фронтальной линзе конденсора и приводе препаратоводителя. Очень важно проследить точность линейных размеров предметного стекла. В некоторых случаях, особенно это характерно для менее качественных и недорогих стекол, ширина стекол варьирует даже в пределах одной партии более чем на 1,0 мм. Это может оказаться критичным в случае если в лаборатории используются автоматы для заключения срезов под покровное стекло – эти приборы очень чувствительны к изменению ширины предметных стекол. Как правило, высококачественные предметные стекла для гистологии (Menzel, TermoShandon и другие) поступают к конечному потребителю готовыми к употреблению, и не требуют дополнительной чистки и обезжиривания.
23. Срезы более чем с одного блока не должны находиться вместе во флотационной емкости. Не следует оставлять во флотационной емкости

срезы с двух или нескольких блоков – это может привести к неверной идентификации образцов. Особенно высок такой риск, когда одновременно обрабатываются ткани одного типа.

24. Температуру воды во флотационной емкости следует тщательно контролировать. Оптимальна температура – на 4-5°C ниже температуры плавления парафина – то есть 51-52°C. При такой температуре срезы быстро расправляются, но парафин не плавится. Парафин срезов никогда не должен плавиться на поверхности водяной бани. Если срезы оставляются на водяной бане более 15 минут или если парафин срезов плавится, происходит перерастяжение среза, за счет чего формируются повреждения и разрушения ткани среза в виде разрывов.
25. Качественные срезы при помещении во флотационную емкость должны быстро расправляться без образования складок. Если срезы полностью не расправляются, причиной этому может служить слишком холодная вода во флотационной емкости или слишком большая толщина срезов.
26. Расправление складок на срезах с помощью щеточки или щипцов следует выполнять лишь в исключительных случаях и чрезвычайно аккуратно, чтобы не повредить срез. Если расправление складок на срезах с помощью щеточки или щипцов выполняется энергичными движениями, возникают макро- и микроскопические повреждения срезов.
27. Никогда не следует переносить на стекло первый и второй срезы из серии. Первый и второй срезы выглядят лучше, поскольку они всегда толще из-за теплового расширения холодного блока при первом прохождении ножа.
28. Любые видимые пузырьки воздуха плавающие на поверхности флотационной жидкости следует удалять до того, как срезы помещаются в воду. Пузырьки воздуха могут образоваться под срезом и при его помещении во флотационную ёмкость. Если пузырьки сохраняются под срезом при переносе его на предметное стекло, они препятствуют плотной его адгезии, и в этих участках при высушивании образуются округлой или овальной формы мелкие дефекты в виде трещин и разрывов, выявляемые при микроскопии. Чаще всего это связано с нарушениями техники монтирования среза на предметное стекло. Самой частой ошибкой является захват и подведение пузырьков воздуха под срез предметным стеклом. Правильной тактикой является

натягивание среза на стекло, расположенное под углом к поверхности воды. Пузырьки, попадающие под срез исчезают при его высыхании, но несмотря на это, область среза над пузырьком часто разрушается и может быть утрачена. Для уменьшения количества пузырьков воздуха во флотационную ёмкость рекомендуется заливать свежekiпячённую воду с минимальным содержанием растворенных газов.

29. Отклеивание срезов от предметного стекла может происходить при подготовке к окраске и во время процедуры окрашивания. Это может быть связано с недостаточным прилипанием срезов к предметному стеклу. Наиболее частыми причинами являются недостаточное высушивание срезов после микротомии, или толстые срезы или использование некачественных предметных стекол с неровной поверхностью.
30. Отклеивание срезов от предметного стекла может происходить и при процедуре термической обработки срезов, требуемых для некоторых вариантов окрасок (демаскировки антигена перед иммуногистохимическим окрашиванием). В таких случаях следует использовать коммерческие предметные стекла со специальным адгезивным покрытием. Использование технологий ручного покрытия предметных стекол специальными адгезивами (AAS) не желательно, так как может повлечь за собой появление специфических артефактов.
31. Использование тонких (3-5 мкм) срезов и высококачественных предметных стекол с идеально ровной гладкой поверхностью обеспечивает надежное прилипание тонких срезов к стеклу за счет сил поверхностного натяжения и, таким образом, исключает необходимость применения адгезивных средств при большинстве гистологических окрасок, не предполагающих термической обработки срезов.
32. Перед переносом стекол на сушку с них необходимо удалить избыток воды в вертикальном положении путем стекания и промакивания. 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, 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 крепежные 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, мешающие его правильному расположению в держателе – их следует удалить. Следует также обратить внимание, чтоб поверхность блока была не влажной и не содержала замерзших капель воды.
4. Осторожно подвести блок держателя ножа к 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 приготовленные и промаркированные предметные стекла, удалить излишки флотационной жидкости со стекол и поместить их на нагревательную плиту для высушивания.

Окраска

Выбор оборудования для окраски препаратов³⁶

Для автоматической окраски парафиновых срезов используются специальные приборы – автостейнеры. Это современные роботизированные системы окрашивания срезов на предметных стеклах для выполнения всех рутинных методов окрашивания. Принципиально важный результат внедрения технологий автоматизирования окрашивания микропрепаратов состоит в унификации условий окрашивания, что важно для получения сравнимых результатов, исключения лабораторных ошибок при резком увеличении производительности лаборатории.

Автостейнеры на рынке представлены моделями Leica ST5010 (Germany), Leica ST5020 (Germany), Microm HMS740 (Germany), Microm HMS760X (Germany), Sakura Prisma (Japan) и Shandon Varistain 24-4K (United Kindom). С целью соблюдения корректности из сравнительной характеристики

³⁶ 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.

исключены более продвинутые модели Leica ST5020 (Germany) и Microm HMS760X (Germany).

При сравнении, в первую очередь, обращает внимание различие грузоподъемности механической лапы – у Sakura Prisma и Shandon Varistain 24-4K этот параметр в 2 раза превышает соответствующие характеристики Leica ST5010 и Microm HMS740, что соответственно отражается на общей производительности приборов.

При этом, однако, объем реагентных емкостей Sakura Prisma и Shandon Varistain 24-4K более чем на $\frac{1}{3}$ больше, что влечет за собой больший расход реагентов, и экономически оправдано только при очень больших объемах окраски микропрепаратов. При одинаковой величине загрузки (30 стекол) объем реагентных емкостей Microm HMS740 на 7% больше, чем у Leica ST5010, что отражает большую экономичность последнего.

Sakura Prisma и Shandon Varistain 24-4K имеют наибольшее количество станций для реагентов и станций загрузки. Явным преимуществом Leica ST5010 и Shandon Varistain 24-4K является большее число промывочных станций.

Leica ST5010 дает возможность одновременного выполнения до 15 программ окраски до 40 шагов каждая, в то время как Microm HMS740, Sakura Prisma при меньшем количестве программ (9 и 11 соответственно) дают возможность использовать до 50 шагов на каждую программу. Shandon Varistain 24-4K характеризуется наименьшим количеством протоколов окраски (3), в каждом из которых предусмотрено всего до 24 шагов, что более чем в два раза ухудшает функциональность прибора в сравнении с аналогами.

Временная шкала (предельное программируемое время на каждый шаг программы) у Leica ST5010 составляет 22 ч 59 мин 59 сек, что в 15 раз превышает соответствующие параметры Microm HMS740 и Sakura Prisma. Это может иметь большое технологическое значение при длительных (более 1,5 ч на один шаг) процедурах обработки микропрепаратов – при использовании Microm HMS740 и Sakura Prisma в таких случаях потребуется установка более чем одной станции с одноименным реагентом, что влечет за собой существенное увеличение их расхода.

Важная техническая особенность Leica ST5010, Sakura Prisma и Shandon Varistain 24-4K – возможность объединения, посредством станции переноса, с коверслипером в единый роботизированный комплекс, что

обеспечивает большую функциональность и существенно расширяет технологические возможности приборов.

Общие рекомендации по процедуре окраски

1. Следует тщательно отслеживать продолжительность каждого этапа окраски. Если технологическая процедура окраски нарушается или пропускаются некоторые этапы, это приводит к получению несопоставимых препаратов. Оптимальным для обеспечения стандартизированной процедуры окрашивания является внедрение автоматов для окраски микропрепаратов (stainer).
2. Для контроля качества окраски рекомендуется постоянно изготавливать контрольные препараты. При отсутствии контроля окраски Н&Е становится невозможным определить причину плохого качества препаратов (например – некачественные реагенты, ошибки протокола, недостаточная фиксация и другие).
3. Условия окраски (такие как время окрашивания, перемешивания, промывки, сушки и другие) должны быть оптимизированы для каждого этапа. При неоптимизированной промывке и сушке реагенты в последующих емкостях быстро загрязняются, а нестандартизованная процедура перемешивания может повлиять на качество окраски ткани – качество окраски становится несопоставимым. Оптимальным для обеспечения стандартизированной процедуры окрашивания является внедрение автоматов для окраски микропрепаратов (stainer).
4. При подготовке срезов к окраске необходимо всегда добиваться полной депарафинизации препаратов. При неполной депарафинизации препаратов на стеклах остаются участки парафина, обуславливающие их гидрофобность по отношению к водным растворам красителей. В результате в препаратах появляются неокрашенные или неравномерно окрашенные участки срезов. Для исправления дефекта можно попробовать отмыть краску, заново довести препарат до этапа депарафинизации, а затем повторить процедуру окрашивания.
5. Реагенты следует регулярно менять в зависимости от числа окрашенных в них препаратов. Не следует дожидаться снижения качества окраски как повода для замены реагентов. Особенно тщательно надо следить за вспомогательными жидкостями – промывочными растворами, спиртовыми растворами, депарафинирующими реагентами.

6. Промывочную воду необходимо заменять на свежую перед окраской каждой новой партии препаратов независимо от того, насколько чистой она кажется глазу.
7. Спирты, используемые в процедуре окраски препаратов (гидратация перед окрашиванием и дегидратация перед заключением препаратов), должны сохранять характерный запах, быть прозрачными. Всегда следует заменить спирты перед окраской новой партии препаратов, если они имеют мутный вид. Наиболее быстро загрязняется емкость с 70% спиртом (последняя при гидратации и первая при дегидратации), при больших объемах материала его приходится менять чаще. Довольно быстро загрязняется и первая после ксилола спиртовая емкость (неразбавленный спирт) при процедуре гидратации. Очень важно для адекватной дегидратации срезов в последней перед заключением спиртовой емкости всегда иметь чистый неразбавленный спирт – потому ее тоже надо заменять довольно часто (обычно спиртовые емкости просто сдвигают на одну позицию назад). Не рекомендуется использовать для дегидратации перед заключением препаратов ту же батарею спиртовых емкостей, что использовалась для гидратации после депарафинирования.
8. Перед окрашиванием препараты следует тщательно отмыть от остатков ксилола и спиртов и довести до воды (гидратация). Не полностью отмытые от ксилола и спиртов препараты загрязняют раствор гематоксилина, что приводит к снижению качества окраски. Кроме того, не отмытые капли ксилола, несмешиваемого с водой, препятствуют контакту красителей со срезом, в результате чего на срезе могут остаться плохо прокрашенные участки, соответствующие по размерам этим каплям.
9. Характеристики раствора гематоксилина следует тщательно контролировать, так как в процессе работы гематоксин значительно разбавляется водой со стекол и штативов и окисляется. Влиять на окисление гематоксилина могут площадь поверхности емкости, в которой он хранится, продолжительность доступа кислорода во время окрашивания и температура окружающей среды. Наиболее надежным признаком ухудшения качества гематоксилина является худшее прокрашивание ядер, снижение дифференцировки тонких ядерных структур – при появлении этих признаков раствор гематоксилина следует заменить на свежий.

10. После окраски гематоксилином для полного созревания следует использовать раствор Scott (щелочной заменитель водопроводной воды) или аммониевую воду (дистиллированная вода с несколькими каплями аммиака). Использование водопроводной воды, как это указано в классических руководствах, не рекомендуется, так как в наших конкретных условиях водопроводная вода далеко не всегда, как того требует протокол окраски, имеет слабощелочную реакцию, характеризуется разными показателями жесткости, часто содержит большое количество растворимых и нерастворимых примесей, влияние которых на качество окраски ни предсказать, ни нормировать не представляется возможным. Объем подщелачивания дистиллированной воды раствором аммиака зависит от свойств местной воды. Иногда ядра клеток выглядят розовыми из-за неполного созревания. Также розовыми будут ядра в препаратах недостаточно окрашенных гематоксилином или перекрашенных эозином.
11. После окраски гематоксилином и дифференцировки в щелочной воде следует тщательно отмыть щелочные агенты из препарата, ибо окраска эозином происходит в кислой среде и остатки щелочи могут ее ослабить. Неполное отмывание щелочных реагентов может привести к слабому или неравномерному окрашиванию препарата эозином, появлению на срезе потеков красителя.
12. Для оптимального окрашивания рН раствора эозина стабилизируют на значении около 5,0. Для подкисления раствора красителя используется уксусная кислота. Повышение рН раствора эозина вызывается загрязнением щелочной водой, используемой для созревания гематоксилиновой окраски ядер. Для уменьшения нейтрализующего влияния аммиачной воды можно добавить одну дополнительную промывочную емкость с чистой дистиллированной водой или 70% этанолом перед помещением препаратов в раствор эозина. Не следует дожидаться снижения качества окраски как повода для замены эозина.
13. Неравномерное окрашивание среза одним из красителей при сложных окрасках с использованием автостейнеров может быть обусловлено недостаточным наполнением реакгентных ёмкостей.
14. Депозиты могут быть обусловлены нерастворенными частицами красителя или его преципитацией во время окраски. Преципитация возможна при испарении растворов красителей, например, при использовании методов, предусматривающих нагревание или длительное время окрашивания. Проблема усугубляется при окраске

препаратов на открытых поверхностях. Использование стандартизованных ёмкостей для окрашивания, поддерживающих стекла в вертикальном положении, позволяет свести подобные артефакты к минимуму.

15. Микроорганизмы, загрязняющие растворы красителей, нередко осаждаются на препаратах. Во избежание этого артефакта рекомендуется своевременно менять красящие растворы или добавлять в них антибактериальные препараты, такие как тимол или метиолат. Если краситель поменять невозможно, фильтрация раствора позволит избавиться от этих загрязнений.

Заключение микропрепаратов под покровное стекло

Выбор оборудования для заключения препаратов³⁷

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 Fuji-Film).

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 (24x50/60 мм – так как при накрывании микропрепарата стекло захватывается двумя присосками и при покрывании подвергается изгибанию).

Принципиальным позитивным отличием Leica CV5030 является наличие технической возможности конфигурации его 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.

³⁷ 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.

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

Кроме того, при планировании текущего материально-технического обеспечения лаборатории важно иметь в виду, что с этими приборами возможно использование только покровных стекол размером 0,17x24x50 мм и предметных стекол размером 1,0x76x26 мм.

Важным преимуществом Leica CV5030 является возможность использования большинства представленных на рынке корзин для стекол, тогда как приборы Microm CTM6, Sakura Glas и Shandon Consul Automated Coverslipper используют только собственные корзины оригинальной конструкции.

Технология роботизированного заключения микропрепарата под специальную полимерную пленку FujiFilm реализована только в приборах Sakura Film (Japan) и Sakura SCA (Japan).

Эти приборы отличаются высокой производительностью, экономичностью (не требуют использования покровного стекла и специализированных гистологических монтирующих сред) и технологичностью (требуют меньше технологического ухода так как исключено использование монтирующих сред и их растворителей, исключены засоры трубок и игл, исключена операция прокачки монтирующей среды при каждом запуске прибора).

Однако, при этом затратная часть работ существенно не отличается. Принципиальным позитивным отличием Sakura Film является наличие технической возможности конфигурации его в единый роботизированный комплекс с автостейнером Sakura Prisma – при этом корзина с окрашенными стеклами автоматически переносится в коверслипер и после заключения выгружаются уже готовые микропрепараты.

При всех положительных свойствах описываемых приборов все же имеется один существенный недостаток. Поверхность микропрепарата, покрытого полимерной пленкой, в отличие от покровного стекла, никогда не бывает идеально ровной, и потому никогда не обеспечивается точное соблюдение важного для качественной микроскопии расстояния от поверхности предметного стекла до поверхности пленки (0,17-0,20 мм). Это может

оказаться критичным при микроскопии высокого разрешения или при микрофотографировании, особенно с использованием современных высокочувствительных микроскопических цифровых камер.

Общие рекомендации по процедуре заключения срезов

1. Препараты следует полностью дегидратировать перед тем, как поместить в ксилол для просветления. Если препараты быстро проводятся через спирты, осветление в ксилоле, загрязненном водой, приводит к появлению микроскопических капель воды на поверхности препарата.
2. Ксилол для просветления должен быть всегда свежий, должен сохранять характерный запах, быть прозрачным. Примесь спирта и воды вызывает его помутнение. Всегда следует заменить ксилол перед окраской новой партии препаратов, если он имеет мутный вид. Наиболее быстро загрязняется первая емкость ксилола, следующая за спиртом, при больших объемах материала его приходится менять практически перед окраской каждой новой партии препаратов.
3. Покрывание препаратов покровными стеклами всегда следует осуществлять до того, как препарат успевает высохнуть. Если препараты частично высыхают перед накрытием покровными стеклами, некоторые ядра клеток становятся черными, или как бы обведенными темным контуром.
4. Желательно использовать гистологическую среду высокого качества. Следует иметь в виду, что среды низкого качества при длительном хранении могут кристаллизоваться. Кристаллизованная гистологическая среда при длительном хранении может образовывать кристаллы и "поднимать" покровные стекла.
5. Разведение монтирующей среды ксилолом, как правило, не дает требуемого результата – через некоторое время среда под покровным стеклом все равно кристаллизуется, мутнеет.
6. Предпочтительно использовать высококачественную монтирующую среду, готовую к употреблению, и не требующую дополнительного разведения.

Унифицированные требования по технологии микроскопического изучения биопсийного (операционного) материала

Общие рекомендации по процедуре микроскопического описания

1. Характер, объем и степень необходимой детализации микроскопического описания определяется клиническими рекомендациями, а в неопределенных случаях – соображениями диагностической целесообразности, определяемыми врачом-патологоанатомом.
2. В любом протоколе должно содержаться описание минимально необходимого набора морфологических феноменов, наличие которых в описании, по своей совокупности, формально позволяет обосновать сформулированный далее диагноз (заключение).
3. Кроме предусмотренных клиническими рекомендациями описаний качественных характеристик патологического процесса, не следует пренебрегать детальным описанием имеющихся в препарате термических повреждений хирургического края кусочка, наличия шовного материала, участков механического (размозжение, дополнительные разрезы, проколы) и химического повреждения тканей, а также участков экзогенных пигментаций, попавших в макропрепарат.
4. Термические повреждения материала, часто обнаруживаемые в биопсиях, проявляются в виде коагуляционного некроза тканей. Термическое повреждение образца может быть следствием термического воздействия на любом этапе обработки, но наиболее часто – при термических воздействиях на нативную нефиксированную ткань, то есть при взятии материала вследствие ожога лазером, электрокоагулятором или при использовании других горячих инструментов. Частой причиной сгорания тканевого образца бывает использование завышенных более необходимого мощностей электрохирургических инструментов, применяемое при иссечении тканей в целях снижения кровоточивости в краях хирургической раны. Ширину зоны термического повреждения хирургического края образца должно отмечать в протоколе патолого-анатомического исследования.
5. Шовный материал может быть представлен в препарате как отдельными фрагментами, так и цельными волокнами, срезанными

поперечно, продольно или косо. Шелковые хирургические нити дают выраженное двойное лучепреломление в поляризованном свете, что можно использовать как идентификационный признак данного вида материала. Шовный материал в кусочке может повредить нож микротома, что приведет к образованию полос на срезе при микротомии, и должно быть соответствующим образом описано в пункте 23 «Микроскопическое описание» Протокола.

6. Мягкие ткани могут быть легко повреждены при манипуляциях с использованием катетеров, как *in vivo*, так и на фиксированных тканевых образцах. Рекомендуется использовать все имеющиеся профессиональные и административные возможности противодействия любым манипуляциям с макропрепаратами операционного материала (дополнительные разрезы, проколы и прочие механические воздействия) в отсутствие врача-патологоанатома. Любые подобные действия, чем бы они ни были мотивированы, могут в значительной степени повредить материал, нарушить анатомические взаимоотношения тканей, вызвать раздавливание (размозжение) тканей, что, в свою очередь может осложнить дальнейшее микроскопическое изучение и интерпретацию полученных результатов.
7. Дегенеративные изменения в тканях начинают развиваться сразу после прерывания кровотока. Аутолиз обусловлен воздействием гидролитических ферментов лизосом при нарушении внутренних мембран клеток. Признаки аутолиза могут быть в различной степени представлены в различных тканях, обычно бывают более выражены в эпителиальных тканях, чем в мезенхимных, что связано с большей устойчивостью последних к гипоксическим повреждениям. В некоторых органах, таких как поджелудочная железа, процессы посмертного аутолиза более выражены из-за обилия протеолитических ферментов. В биопсийном материале, который обычно фиксируется немедленно, признаки аутолиза бывают менее выражены, чем в аутопсийном. Избежать аутолиза, позволяет быстрая фиксация материала. Затормозить процессы саморазрушения тканей трупа до вскрытия позволит охлаждение тела до 4°C. При любых обстоятельствах явления аутолиза трупного материала будут тем менее выражены, чем скорее будет произведено вскрытие, изъятие и фиксация тканевых образцов. Раннее вскрытие позволяет идентифицировать прижизненные повреждения органов и тканей. При поздних вскрытиях отличить прижизненные повреждения и посмертный аутолиз органов и тканей весьма затруднительно.

8. В микропрепаратах кожи могут быть обнаружены нерастворимые экзогенные пигменты, используемые для нанесения татуировок. Эти депозиты обычно инертны по отношению к гистохимическим тестам и не дают анизотропии в поляризованном свете. Однако же весьма желательно описывать наличие татуировок в протоколе операции и при макроскопическом исследовании нефиксированного операционного материала – это поможет избежать немалых затрат времени и ресурсов на выяснение природы пигментации в случаях когда это имеет решающее диагностическое значение.
9. В ряде случаев используют цветное маркирование хирургического края удаленного образца для его правильной ориентации в макропрепарате или для заливки в блоке. Для маркировки обычно используются India ink, Silver nitrat, Alcian blue, Alcian green и многие патентованные составы различных цветов, которые окрашивают, главным образом, поверхность образца, и в микропрепаратах обнаруживаются по краю срезов.
10. Микроскопическое описание является обязательной частью протокола патолого-анатомического исследования биопсийного и операционного материала.
11. Микроскопическое описание практически является обоснованием заключения (диагноза), потому оно должно быть объективным, основанным на конкретных морфологических феноменах, имеющих место в данном материале.
12. В тексте микроскопического описания должна содержаться возможно более полная качественная характеристика наблюдаемого патологического процесса, в сумме дающая основание для формулировки конкретного заключения (диагноза).
13. При формулировке заключения рекомендуется, когда это возможно, стремиться использовать четкие формулировки нозологического характера в соответствии с общепринятыми международными классификациями и протоколами.
14. При отсутствии возможности использовать формулировки нозологического характера допускается так называемый «описательный ответ».

15. В ряде случаев формализованные классификационные формулировки не вполне отражают индивидуальные особенности данного патологического процесса, и требуют различных уточнений и рекомендаций, которые следует вносить в пункт 26 Протокола.

Назначение дополнительных методов
окраски и микроскопии

Общие положения

1. В ряде случаев для полноценного патолого-анатомического исследования требуется применение дополнительных специальных методов окраски и/или микроскопии.
2. Использование дополнительных специальных методов окраски и/или микроскопии при патолого-анатомическом исследовании биопсийного и операционного материала для некоторых нозологических форм предусмотрено существующими клиническими рекомендациями и протоколами. Так, привлечение иммуноморфологических методов часто необходимо для гистогенетической верификации опухолей, или для оценки чувствительности опухолей к некоторым видам таргетной терапии. В этих случаях применение дополнительных специальных методов окраски обязательны для обоснования диагноза, а отказ от их выполнения должен расцениваться как неполное патолого-анатомическое исследование.
3. Использование дополнительных специальных методов окраски и/или микроскопии при патолого-анатомическом исследовании биопсийного и операционного материала для некоторых нозологических форм не предусмотрено клиническими рекомендациями и протоколами. Однако, привлечение дополнительных методов часто необходимо для уточнения некоторых морфологических феноменов – например, для верификации пигментов, депозитов или цитоплазматических включений, для выяснения характера клеточного синтеза, решения иных диагностических задач. В этих случаях применение дополнительных методов исследований не обязательно, но весьма желательно для обоснования морфологического диагноза, а принятие решения о привлечении дополнительных методов находится в исключительной компетенции врача-патологоанатома.
4. При назначении дополнительных специальных методов окраски и/или микроскопии врач-патологоанатом должен руководствоваться

клиническими рекомендациями и протоколами, а в неопределенных случаях – соображениями диагностической целесообразности, в целях наиболее полной верификации диагноза, и в интересах пациента.

Порядок назначения дополнительных методов исследования

1. Дополнительные специальные методы окраски и/или микроскопии могут быть назначены только врачом-патологоанатомом.
2. Необходимость назначения дополнительных специальных методов окраски и/или микроскопии всегда должна быть обоснована, и закреплена в протоколе патолого-анатомического исследования соответствующей записью.
3. Назначаемые дополнительные специальные методы должны быть зафиксированы в технологической части протокола патолого-анатомического исследования.
4. Результаты изучения материала с помощью дополнительных специальных методов окраски/микроскопии должны быть зафиксированы в описательной части протокола (пункт 23 Протокола).

Востребование дополнительной клинической информации

Общие положения

1. Каждое патолого-анатомическое заключение по биопсийному и операционному материалу должно быть увязано с основными клиническими проявлениями заболевания, данными инструментальных и лабораторных исследований.
2. Ответственность за полноту представления диагностически значимой дополнительной клинической информации в направлении на прижизненное патолого-анатомическое исследование лежит на лечащем враче или враче, выполняющим медицинскую манипуляцию.
3. Отсутствие в направлении диагностически значимой дополнительной клинической информации не допустимо.
4. Рекомендуется использовать все имеющиеся профессиональные и административные возможности для обеспечения наиболее полного отражения диагностически значимой дополнительной клинической информации в направлении на прижизненное патолого-анатомическое исследование биопсийного (операционного) материала.

5. К разряду диагностически значимой дополнительной клинической информации относятся следующие сведения:
- описание основных этапов протокола операции – доступ, характер используемого инструментария (электрокоагуляция и проч., если это может повлиять на качество материала), вид биопсии (эндоскопическая щипцовая, инцизионная, соскоб и проч.), использование кровоостанавливающих средств и шовного материала (особенно, если они попадают в препарат);
 - описание status lokalis – максимально подробное макроскопическое описание области интереса in vivo (вид, цвет, форма, размеры, характер контуров, отношения с окружающими тканями и проч.);
 - объем взятия и маркировка материала – точное анатомическое описание иссекаемой ткани (топография, размеры, маркировка краев), количество взятых кусочков, маркировка флаконов;
 - основные клинические проявления заболевания – давность заболевания, важнейшие симптомы, основные результаты инструментальных и лабораторных исследований;
 - сведения о предыдущих биопсиях и операциях, результаты предыдущих морфологических исследований биопсийного и операционного материала, результаты консультаций и пересмотров.
6. К направлению на прижизненное патолого-анатомическое исследование биопсийного (операционного) материала должна быть приложена выписка из медицинской документации пациента³⁸, содержащей результаты проведенных лабораторных, инструментальных и иных видов исследований, описания медицинских вмешательств (манипуляций, операций), копии протоколов медицинских вмешательств.
7. При отсутствии в направлении необходимого объема дополнительной клинической информации врач-патологоанатом должен востребовать ее от клиницистов.

³⁸ В соответствии с пунктом 10 Правил [1].

8. Задержка ответа по биопсийному или операционному материалу сверх установленных сроков³⁹, если она связана с задержкой предоставления дополнительной клинической информации по вине оперирующего или лечащего врача, должна считаться обоснованной и допустимой.
9. Всякая дополнительная клиническая информация от оперирующего или лечащего врача, если она получена устно, должна быть немедленно занесена в бланк направления с соответствующей пометкой, например:

«получено по телефону от врача И.И.Иванова 11.02.2011 г.»

Дополнительная клиническая информация, предоставленная в виде отдельных выписок, должна быть присовокуплена к направлению с обязательным указанием даты фактического предоставления, и считаться неотъемлемой его частью. Не рекомендуется оставлять какую-либо диагностически значимую дополнительную клиническую информацию не занесенной в направление или протокол патолого-анатомического исследования.

10. Диагностическая ошибка, связанная с непредоставлением значимой дополнительной клинической информации, должна расцениваться исходя из совокупной ответственности лечащего врача (за не предоставление информации) и врача-патологоанатома (за не востребование информации, если такая необходимость была очевидной).

Порядок востребования дополнительной клинической информации

1. Если отсутствие необходимой дополнительной клинической информации выявляется в момент доставки материала в лабораторию, допускается в приеме материала отказать. При этом рекомендуется немедленно связаться с оперирующим или лечащим врачом, и поставить его в известность о дефектах заполнения направления. В таких случаях допускается материал не регистрировать до поступления в лабораторию полной дополнительной клинической информации, о чем следует поставить в известность руководителя лаборатории и сделать соответствующую запись на направлении.
2. Если отсутствие необходимой дополнительной клинической информации выявляется при вырезке уже зарегистрированного

³⁹ В соответствии с пунктом 24 Правил [1].

материала, рекомендуется, если это возможно, пригласить на вырезку оперирующего или лечащего врача для выяснения всех не ясных вопросов. При этом всякая дополнительная клиническая информация от оперирующего или лечащего врача, полученная устно, должна быть немедленно занесена в бланк направления с соответствующей пометкой. Если нет возможности пригласить на вырезку оперирующего или лечащего врача (при исследовании материала из других медицинских организаций) – макроскопическое описание и вырезку материала рекомендуется выполнять в присутствии заведующего патолого-анатомическим отделением или старшего ординатора. В таких случаях в протоколе макроскопического описания материала должны быть отражены все неопределенности, связанные с отсутствием необходимой дополнительной клинической информации.

3. Если отсутствие необходимой дополнительной клинической информации выявляется при микроскопическом изучении материала, рекомендуется немедленно затребовать от лечащего врача необходимую информацию, о чем следует поставить в известность заведующего патолого-анатомическим отделением и сделать соответствующую запись в протоколе исследования. Решение о задержке оформления протокола рекомендуется принимать совместно с заведующим патолого-анатомическим отделением.
4. Если отсутствие необходимой дополнительной клинической информации выявляется по уже законченному случаю – тогда следует поднять все первичные материалы, относящиеся к этому исследованию для внутреннего комиссионного пересмотра. В случае если полученная *post factum* дополнительная клиническая информация требует изменения формулировки предыдущего заключения по этому материалу – рекомендуется оформить протокол пересмотра с присвоением новых регистрационных номеров и обязательной ссылкой на реквизиты (регистрационный номер и дата) пересматриваемого материала.

Унифицированные требования по технологии архивирования первичных материалов прижизненных патолого-анатомических исследований

Первичная медицинская документация, микропрепараты и парафиновые блоки биопсийного и операционного материала являются первичными материалами патолого-анатомических исследований, относятся к служебным материалам медицинской организации, и хранятся в архиве

патолого-анатомического бюро (отделения)⁴⁰. Заведующий патолого-анатомическим отделением несет персональную ответственность за организацию архива и сохранность первичных материалов исследований.

⁴⁰ В соответствии с пунктом 29 Правил [1].

Организация архива первичной медицинской документации

1. Хранению в архиве патолого-анатомического отделения подлежат следующие виды первичной медицинской документации:
 - оригиналы направлений на прижизненное патолого-анатомическое исследование по форме № 014/у;
 - копии протоколов прижизненных патолого-анатомических исследований по форме № 014/у;
2. Первичная медицинская документация прижизненных патолого-анатомических исследований должна сохраняться в архиве патолого-анатомического отделения в течение срока хранения медицинской документации пациента⁴¹ (медицинская карта стационарного больного (медицинская карта родов, медицинская карта новорожденного, история развития ребенка, медицинская карта амбулаторного больного).

Организация архива «сырого» материала

(тканевых образцов в 10% растворе нейтрального формалина)

1. Хранение тканевых образцов в 10% растворе нейтрального формалина рекомендуется осуществлять в едином архиве, организованном по принципу сквозной нумерации – только такой принцип позволяет содержать архив в безупречном порядке и вести полноценный учет и контроль за движением архивных материалов.
2. Хранение тканевых образцов в 10% растворе нейтрального формалина рекомендуется осуществлять в специально оборудованном сухом и прохладном помещении, оборудованном вытяжной вентиляцией с механическим побуждением.
3. В качестве архивных модулей для хранения тканевых образцов в 10% растворе нейтрального формалина могут быть использованы как специализированные гистологические контейнеры, так и специализированные вакуумные системы. Возможно использование приспособленных емкостей, при условии, если они герметично закрываются.

⁴¹ В соответствии с пунктом 30 Правил [1].

4. Архивные модули рекомендуется маркировать по номерам помещенных в них тканевых образцов в 10% растворе нейтрального формалина.
5. Изъятие тканевых образцов в 10% растворе нейтрального формалина из архива патолого-анатомического отделения не допускается. Отсутствие блоков в архиве должно расцениваться как чрезвычайное происшествие.
6. Установленные сроки хранения тканевых образцов в 10% растворе нейтрального формалина в архиве патолого-анатомического отделения⁴²:
 - при наличии опухолевого или опухолеподобного процесса, или подозрении на них – в не менее одного года с даты оформления протокола;
 - при отсутствии опухолевого или опухолеподобного процесса, или подозрения на них – не менее чем до окончания оформления протокола.

Организация архива парафиновых блоков

1. Хранение тканевых образцов в парафиновых блоках рекомендуется осуществлять в едином архиве, организованном по принципу сквозной нумерации – только такой принцип позволяет содержать архив в безупречном порядке и вести полноценный учет и контроль за движением архивных материалов.
2. Хранение тканевых образцов в парафиновых блоках рекомендуется осуществлять в специально оборудованном сухом и прохладном помещении.
3. В качестве архивных модулей для хранения блоков могут быть использованы как специализированные архивные системы (*рис. 31*), так и приспособленные контейнеры.
4. Архивные модули рекомендуется маркировать по номерам помещенных в них блоков.

⁴² В соответствии с пунктом 30 Правил [1].

5. Изъятие блоков из архива патолого-анатомического отделения⁴³ должно строго учитываться и соответствующим образом регистрироваться. Отсутствие блоков в архиве, не подкрепленное соответствующей документацией, должно расцениваться как чрезвычайное происшествие.
6. При повышенной температуре в помещении, где хранится архив блоков, парафин может подвергнуться размягчению, а блоки – деформации и слипанию.
7. В помещении для хранения архива парафиновых блоков следует на регулярной основе проводить мероприятия по дератизации и дезинсекции. При наличии в помещении, где хранится архив блоков, крыс, мышей и тараканов, нередки случаи частичной или полной утраты блоков из-за погрызов.
8. Тканевые образцы в парафиновых блоках должны сохраняться в архиве патолого-анатомического отделения в течение срока хранения медицинской документации пациента⁴⁴ (медицинская карта стационарного больного (медицинская карта родов, медицинская карта новорожденного, история развития ребенка, медицинская карта амбулаторного больного).

Организация архива микропрепаратов

1. Хранение микропрепаратов рекомендуется осуществлять в едином архиве, организованном по принципу сквозной нумерации – только такой принцип позволяет содержать архив в безупречном порядке и вести полноценный учет и контроль за движением архивных материалов.
2. Хранение микропрепаратов рекомендуется осуществлять в специализированных архивных системах.
3. Перед помещением в архивный шкаф микропрепараты следует тщательно высушить, чтобы предотвратить слипание стекол в ящиках в ходе хранения.

⁴³ В соответствии с пунктом 31 Правил [1].

⁴⁴ В соответствии с пунктом 30 Правил [1].

4. Появление пузырей в монтирующей среде при длительном хранении микропрепаратов хорошо знакомо большинству специалистов. Это происходит, если препарат, извлеченный из ксилола, успевает высохнуть перед заключением его под покровное стекло. Под покровным стеклом появляются мелкие пузырьки вокруг тканевых структур. Высыхание среза может проявляться и изменениями прозрачности ядер клеток, которые при микроскопии выглядят более темными и теряют свои детали. Решить проблему можно, перенакрыв срез.
5. При недостаточной дегидратации препарата, остаточная вода выявляется в виде непросветленных участков. В некоторых случаях при микроскопии вода в препаратах выявляется в виде капель. Это снижает качество препаратов и со временем приводит к выцветанию окраски. При обнаружении воды в препарате необходимо снять покровное стекло, повторить дегидратацию спиртовыми растворами восходящих концентраций и заново заключить срез под покровное стекло.
6. Некачественно приготовленная полистерол-содержащая монтирующая среда может растрескиваться или кристаллизоваться с течением времени. При этом необходимо удалить покровное стекло и дефектную монтирующую среду и перемонтировать препарат. Для заключения срезов полистиролом лучше вообще не пользоваться – при этом никогда не получают качественные препараты.
7. При длительном хранении под прямыми солнечными лучами препараты могут выцветать. Для обеспечения наилучшей сохранности препараты стоит перекрасить и хранить в темноте. Выцветание препарата также может быть вызвано воздействием интенсивного пучка света при микроскопии.
8. Архивные модули рекомендуется маркировать по номерам помещенных в них микропрепаратов. Для облегчения работы с архивом внутри каждого ящика можно использовать дополнительные разделители, отграничивающие, например, каждую сотню номеров.
9. Рекомендуется размещать микропрепараты в ящики таким образом, чтобы стекла, относящиеся к одному случаю, располагались в одном ящике неделимым блоком.

10. Изъятие микропрепаратов из архива патолого-анатомического отделения⁴⁵ должно строго учитываться и соответствующим образом регистрироваться. Отсутствие препаратов в архиве, не подкрепленное соответствующей документацией, должно расцениваться как чрезвычайное происшествие.
11. Рекомендуется использовать дополнительные разделители и для маркировки номеров стекол, временно изъятых из архива. Для таких разделителей удобно ввести различную цветовую индикацию, например красным цветом помечать номера, выданные для пересмотра в другие медицинские организации, зеленым – номера, изъятые для выполнения различных работ внутри патолого-анатомического отделения (внутренние ретроспективные пересмотры, фотографирование, выполнение научных работ и другие).
12. Микропрепараты должны сохраняться в архиве патолого-анатомического отделения в течение срока хранения медицинской документации пациента⁴⁶ (медицинская карта стационарного больного (медицинская карта родов, медицинская карта новорожденного, история развития ребенка, медицинская карта амбулаторного больного).

Выдача архивных материалов

1. Изъятие микропрепаратов и блоков из архива может производиться только с ведома заведующего патолого-анатомическим отделением, должно строго учитываться и соответствующим образом регистрироваться.
2. Отсутствие препаратов или блоков в архиве, не подкрепленное санкцией заведующего патолого-анатомическим отделением, должно расцениваться как чрезвычайное происшествие.
3. Выдача микропрепаратов и блоков из архива патолого-анатомического отделения для пересмотра в другие медицинские организации производится на основании официального запроса. Рекомендуется требовать от врачей сторонних медицинских организаций указывать в

⁴⁵ В соответствии с пунктом 31 Правил [1].

⁴⁶ В соответствии с пунктом 30 Правил [1].

запросе фамилию, имя и отчество пациента и цель запроса (например – консультация в таком-то учреждении).

4. Микропрепараты из архива для пересмотра в другие медицинские организации могут быть выданы только самому пациенту или его законному представителю⁴⁷.
5. Рекомендуется требовать от лица, осуществляющего получение микропрепаратов и/или парафиновых блоков, заполнение расписки о получении соответствующих архивных материалов.
6. В целях обеспечения сохранности архива первичных материалов исследований, в бланк расписки о получении архивных материалов рекомендуется включить обязательство возврата стекол и блоков в архив.
7. Выдача микропрепаратов, тканевых образцов в парафиновых блоках и копий направлений и протоколов фиксируется в журнале регистрации выдачи архивных материалов. Специальная учетная форма медицинской документации при этом не предлагается, однако устанавливаются обязательные графы⁴⁸. Потому журнал может быть оформлен в свободной форме с условием, если оно содержит установленные порядком обязательные графы.
8. Документы об изъятии первичных материалов исследований из архива лаборатории (запросы сторонних учреждений и расписки получателей) являются, как и сам архив микропрепаратов и блоков, служебными материалами медицинской организации.
9. Выдача микропрепаратов и парафиновых блоков из архива по запросам суда и следственных органов может быть осуществлена при условии соблюдения установленных действующим Законодательством процессуальных норм, и только с ведома руководителя учреждения, в состав которого входит соответствующее патолого-анатомическое отделение.

⁴⁷ В соответствии с пунктом 31 Правил [1].

⁴⁸ В соответствии с пунктом 31 Правил [1].

ПОСМЕРТНЫЕ ПАТОЛОГО-АНАТОМИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Унифицированные требования по оформлению направлений на патолого-анатомические вскрытия

В целях устранения возможности нахождения в патолого-анатомических отделениях формально неидентифицируемых тел умерших, установлено обязательность оформления направления на патолого-анатомическое вскрытие⁴⁹.

Специальная учетная форма медицинской документации при этом не предлагается, однако устанавливаются обязательные графы. Потому направление на патолого-анатомическое вскрытие может быть оформлено в свободной форме с условием, если оно содержит установленные порядком [2] обязательные графы.

В медицинской организации может быть установлена стандартная форма направления на патолого-анатомическое вскрытие, если она содержит определенные настоящим Порядком обязательные графы.

Тело умершего должно быть снабжено специальным идентификатором, позволяющим идентифицировать его с данными направления на патолого-анатомическое вскрытие.

Направление на патолого-анатомическое вскрытие является источником данных для заполнения «Журнала регистрации поступления и выдачи тел умерших» (форма 015/у) по графам 1-4.

⁴⁹ В соответствии с пунктом 8 Порядка [2].

Унифицированные требования по подготовке тела умершего при направлении его в патолого-анатомическое бюро (отделение)

Маркировка

Тело умершего может быть принято в патолого-анатомическое бюро (отделение) только при наличии направления⁵⁰.

Тело умершего должно быть снабжено специальным идентификатором, позволяющим идентифицировать его с данными направления в патолого-анатомическое бюро (отделение). Рекомендуется на идентификаторе (бирка) указывать следующие данные:

- 1) фамилия, инициалы пациента;
- 2) наименование (краткое) направившей медицинской организации;
- 3) наименование (краткое) структурного подразделения направившей медицинской организации.

Запрет оставления тела умершего без маркировки

В целях устранения возможности нахождения в патолого-анатомических отделениях формально неидентифицируемых тел умерших, запрещается принимать тела умерших без соответствующего направления.

Хранение

При содержании тел умерших в патолого-анатомических бюро (отделениях) надлежит обеспечить условия, обеспечивающие сохранность тела для проведения патолого-анатомического вскрытия и последующего погребения.

Запрет замораживания/оттаивания

В целях обеспечения сохранности тела для проведения патолого-анатомического вскрытия и предотвращения возникновения артефактов, связанных с замораживанием/оттаиванием, запрещается содержать тела при температуре ниже +4°C.

⁵⁰ В соответствии с пунктом 8 Порядка [2].

Транспортировка

Порядок транспортировки тел умерших определяется органами исполнительной власти субъектов Российской Федерации в сфере здравоохранения на основании полномочий, определенных федеральным законодательством⁵¹.

Унифицированные требования по технологии приема и регистрации тел умерших в патолого-анатомических бюро (отделениях)

Прием

Прием тела умершего и контроль его маркировки осуществляется в целях проверки полноты и качества оформления направлений, соответствия данных направлений и маркировки тела умершего.

Оригинал направления (с оригинальным штампом медицинской организации, оригинальной подписью медицинского работника) всегда должен быть приложен к телу умершего, поступившему в патолого-анатомическое отделение⁵², так как направление подлежит сохранению в архиве патолого-анатомического отделения⁵³.

Контроль полноты и качества оформления направления

Форма направления тела умершего в патолого-анатомическое бюро (отделение) должна быть формализована (*рис. 35*) для данной медицинской организации или территории.

Все предусмотренные бланком направления графы должны быть заполнены.

⁵¹ В соответствии с частями 2 и 3 статьи 25 федерального закона от 12 января 1996 г. № 8-ФЗ «О погребении и похоронном деле» [6].

⁵² В соответствии с пунктом 8 Порядка [2].

⁵³ В соответствии с пунктом 29 Правил [1].

Контроль соответствия маркировки

1. Фамилия и инициалы пациента, указанные на идентификаторе тела (бирка), должны соответствовать записи в пункте «Фамилия, имя, отчество умершего» направления (*рис. 35*).
2. Краткое наименование направившей медицинской организации, указанное на идентификаторе тела (бирка), должно соответствовать оттиску штампа медицинской организации в левом верхнем углу направления и записи в пункте «Наименование медицинской организации» (*рис. 35*).
3. Краткое наименование структурного подразделения направившей медицинской организации, указанное на идентификаторе тела (бирка), должно соответствовать записи в пункте «Наименование подразделения медицинской организации» направления (*рис. 35*).

Регистрация

Для регистрации тел умерших в патолого-анатомическом отделении предназначена форма учетной медицинской документации № 015/у «Журнал регистрации поступления и выдачи тел умерших» (далее – Журнал)⁵⁴.

Журнал (*рис. 37-38*) является основным регистрационным документом для биопсийного (операционного) материала в патолого-анатомическом отделении. В результате процедуры регистрации каждому случаю присваивается *уникальный регистрационный номер*, являющийся *основным идентификатором случая* в патолого-анатомическом отделении.

В целях облегчения поиска архивных материалов в патолого-анатомических отделениях с ручной технологией регистрации и архивирования первичных материалов исследований, рекомендуется вести «Алфавитный журнал секционного материала»⁵⁵.

⁵⁴ Форма № 015/у «Журнал регистрации поступления и выдачи тел умерших» утверждена приложением № 4 к приказу Минздрава России от 6 июня 2013 г. № 354н [2].

⁵⁵ Не является утвержденной формой учетной медицинской документации.

Формы регистрационных журналов

Форма № 015/у «Журнал регистрации поступления и выдачи тел умерших»

Полный текст порядка заполнения формы № 015/у приведен в издании «Патолого-анатомические исследования. Нормативные документы (2016)» [3]. Здесь будут обсуждаться требования, не формализованные ни в каком другом нормативном документе.

Регистрационная запись заносится в Журнал непосредственно после завершения процедуры приема тела умершего. Любое поступившее в патолого-анатомическое отделение тело умершего должно быть зарегистрировано в Журнале.

На момент приема тела умершего заполняются графы 1-5 Журнала для каждого случая (*рис. 38*).

В графу 1 «Номер по порядку» вносятся *уникальные регистрационные номера* случаев⁵⁶ в порядке сквозной нумерации. Рекомендуется вести сквозную нумерацию случаев в течение всего срока существования патолого-анатомического отделения.

Не рекомендуется начинать новую нумерацию случаев с единицы с первого января нового календарного года. Если все же новая нумерация случаев начинается с единицы с первого января нового календарного года, обязательным требованием является введение в формат регистрационного номера дополнительного *уникального* (цифрового или буквенного) идентификатора, указывающего на данный календарный год.

При наличии в медицинской организации электронного документооборота, допускается использование электронных аналогов формы № 015/у, с возможностью распечатки при необходимости.

В графу 2 «Дата поступления тела умершего» вносятся фактическая дата поступления тела умершего в патолого-анатомическое отделение.

В графу 3 «ФИО умершего» вносятся фамилия, имя и отчество умершего, а в случае доставки плода или мертворожденного – фамилия, имя и отчество

⁵⁶ Применительно к секционному разделу работы понятие «случай» идентично понятию «патолого-анатомическое вскрытие».

матери – пишется полностью, без сокращений, четко и разборчиво, чтобы исключить неверное прочтение, при необходимости – печатными буквами.

В графу 4 «Наименование направившей медицинской организации (отделения медицинской организации), из которого доставлено тело умершего» вносится краткое наименование направившей медицинской организации (из штампа медицинской организации в верхнем левом углу направления) и/или структурного подразделения направившей медицинской организации (из пункта «Наименование подразделения медицинской организации» направления).

В графу 5 «Номер медицинской карты» вносится номер медицинской карты стационарного пациента, медицинской карты амбулаторного пациента, медицинской карты родов, медицинской карты новорожденного – пишется арабскими цифрами.

В графу 6 «Дата проведения патолого-анатомического вскрытия или отметка об отказе от его проведения» вносятся либо фактическая дата проведения патолого-анатомического вскрытия, либо, в случае отказа от его проведения, вносится отметка «без вскрытия».

В графу 7 «Дата выдачи тела умершего» вносятся фактическая дата выдачи тела умершего⁵⁷.

В графу 8 «ФИО лица, которому выдано тело умершего и данные документа, удостоверяющего его личность» вносятся фамилия, имя и отчество лица, которому выдано тело умершего и данные документа, удостоверяющего его личность – пишется полностью, без сокращений, четко и разборчиво, чтобы исключить неверное прочтение, при необходимости – печатными буквами.

В графе 9 «Подпись лица, которому выдано тело умершего» проставляется собственноручная подпись лица, которому выдано тело умершего.

⁵⁷ В соответствии с пунктом 33 Порядка [2].

Форма «Алфавитный журнал секционного материала»

В целях облегчения поиска архивных материалов в патолого-анатомических отделениях с ручной технологией регистрации и архивирования первичных материалов исследований, рекомендуется вести «Алфавитный журнал секционного материала» с указанием следующих сведений:

- 1) фамилия и инициалы умершего (сортировка по алфавиту);
- 2) дата рождения умершего;
- 3) уникальный регистрационный номер случая (из графы 1 Журнал регистрации поступления и выдачи тел умерших).

«Алфавитный журнал секционного материала» является внутренним технологическим документом патолого-анатомического отделения, и не является утвержденной формой учетной медицинской документации.

При наличии в патолого-анатомическом отделении лабораторной информационной системы, позволяющей осуществлять в электронной базе данных поиск по фамилии умершего, алфавитный журнал не требуется.

Унифицированные требования по технологии принятия решения об отмене патолого-анатомического вскрытия

Пунктом 3 Порядка⁵⁸ устанавливается право супруга или близкого родственника умершего или при волеизъявлении самого умершего, сделанным им при жизни, на отказ от проведения патолого-анатомического вскрытия.

Вместе с тем, федеральным законом устанавливаются случаи, при которых отмена патолого-анатомического вскрытия не допускается:

- 1) подозрение на насильственную смерть;
- 2) невозможность установления заключительного клинического диагноза заболевания, приведшего к смерти, и (или) непосредственной причины смерти;
- 3) оказание умершему пациенту медицинской организацией медицинской помощи в стационарных условиях менее одних суток;

⁵⁸ В соответствии с частью 3 статьи 67 Федерального закона Российской Федерации от 21 ноября 2011 г. № 323-ФЗ «Об основах охраны здоровья граждан в Российской Федерации» [4].

- 4) подозрение на передозировку или непереносимость лекарственных препаратов или диагностических препаратов;
- 5) смерть:
 - а) связанная с проведением профилактических, диагностических, инструментальных, анестезиологических, реанимационных, лечебных мероприятий, во время или после операции переливания крови и (или) ее компонентов;
 - б) от инфекционного заболевания или при подозрении на него;
 - в) от онкологического заболевания при отсутствии гистологической верификации опухоли;
 - г) от заболевания, связанного с последствиями экологической катастрофы;
 - д) беременных, рожениц, родильниц (включая последний день послеродового периода) и детей в возрасте до двадцати восьми дней жизни включительно;
 - е) при рождении мертвого ребенка;
 - ж) при необходимости судебно-медицинского исследования.

Этот перечень четко определен законом, расширительному толкованию не подлежит, и при возникновении указанных условий делает невозможным реализации права супруга или близкого родственника умершего или при волеизъявлении самого умершего, сделанным им при жизни, на отказ от проведения патолого-анатомического вскрытия.

Процедура отмены проведения патолого-анатомического вскрытия законом не определена, и также не является предметом регулирования Порядка. В связи с этим, рекомендуется предусмотреть регламентацию процедуры отмены проведения патолого-анатомического вскрытия внутренними положениями или регламентами медицинской организации. Руководитель медицинской организации (главный врач) вправе определить ответственных лиц, установить порядок принятия решения, правила оформления соответствующих записей в первичной медицинской документации и другое. При этом важно принять необходимые меры для обеспечения соблюдения положений части 3 статьи 67 Федерального закона от 21 декабря 2011 г. № 323-ФЗ [4] о недопустимости отмены патолого-анатомических вскрытий в определенных законом случаях.

Принятие решения об отмене патолого-анатомического вскрытия относится к компетенции руководителя медицинской организации (главного врача), в которой наступила смерть пациента. Порядками ведения учетных форм медицинской документации (медицинская карта стационарного больного, медицинская карта пациента, получающего медицинскую помощь в амбулаторных условиях, медицинская карта родов,

история развития ребенка) должна быть предусмотрена обязательность, в случае смерти пациента, визирование оформленной медицинской карты руководителем медицинской организации или уполномоченным им лицом с указанием цели направления тела умершего в патолого-анатомическое отделение («на патолого-анатомическое вскрытие» или «для сохранения»).

Главный врач патолого-анатомического бюро, заведующий патолого-анатомическим отделением не вправе принимать решение об отмене патолого-анатомического вскрытия.

Унифицированные требования по технологии проведения патолого-анатомического вскрытия и взятия материала для микроскопического изучения

Патолого-анатомическое вскрытие производится методом полной эвисцерации [7, 8, 9] в соответствии с этапами, установленными Порядком⁵⁹.

При проведении патолого-анатомического вскрытия гистологический, биохимический, микробиологический и другие необходимые методы исследований отдельных органов, тканей умершего или их частей являются неотъемлемой частью диагностического процесса в целях выявления причин смерти человека, осложнений основного заболевания и сопутствующего заболевания, его состояния. Волеизъявление умершего, высказанное при его жизни, либо письменное заявление супруга, близкого родственника (детей, родителей, усыновленных, усыновителей, родных братьев и родных сестер, внуков, бабушки, дедушки), а при их отсутствии иных родственников либо законного представителя умершего о проведении таких исследований не требуется⁶⁰.

Общие рекомендации по процедуре макроскопического изучения

1. Характер, объем и степень необходимой детализации макроскопического описания определяется клиническими рекомендациями, а в неопределенных случаях – соображениями

⁵⁹ В соответствии с пунктами 19-24 Порядка [2].

⁶⁰ В соответствии с частью 4 статьи 67 федерального закона от 21 ноября 2011 г. № 323-ФЗ «Об основах охраны здоровья граждан в Российской Федерации» [4] и пунктом 16 Порядка [2].

диагностической целесообразности, определяемыми врачом-патологоанатомом.

2. В любом макроскопическом описании должен содержаться минимально необходимый набор морфологических феноменов, наличие которых в описании, по своей совокупности, формально позволяет обосновать сформулированный далее диагноз (заключение).
3. Мягкие ткани могут быть легко повреждены при манипуляциях с использованием катетеров, как на нативном (нефиксированном) материале, так и на фиксированных тканевых образцах. Любые подобные действия, могут в значительной степени повредить материал, нарушить анатомические взаимоотношения тканей, вызвать раздавливание (размозжение) тканей, что, в свою очередь может осложнить дальнейшее микроскопическое изучение и интерпретацию полученных результатов исследования.
4. Нефиксированные ткани очень подвержены раздавливанию зажимами, пинцетами, другими инструментами или руками медицинского персонала. Следует помнить о необходимости минимизации любых механических воздействий на извлеченные тканевые образцы.
5. Следует строго следить за тем, чтобы извлеченные тканевые образцы не подвергались воздействию никаких жидкостей, химических и физических агентов, кроме унифицированных растворов формалина⁶¹, в который тканевые образцы следует помещать тотчас после иссечения.
6. Дегенеративные изменения в тканях начинают развиваться сразу после наступления смерти. Аутолиз обусловлен воздействием гидролитических ферментов лизосом при нарушении внутренних мембран клеток. Признаки аутолиза могут быть в различной степени представлены в различных тканях, обычно бывают более выражены в эпителиальных тканях, чем в мезенхимных, что связано с большей устойчивостью последних к гипоксическим повреждениям (ранний признак аутолитических изменений тканей при отложенной фиксации – слущивание цилиндрических эпителиев выводных протоков желез, бронхов). В некоторых органах, таких как поджелудочная железа, процессы посмертного аутолиза более выражены из-за обилия протеолитических ферментов. Избежать аутолиза, позволяет быстрая фиксация материала. Затормозить процессы саморазрушения тканей

⁶¹ В соответствии с пунктом 10 Правил [1].

трупа до вскрытия позволит охлаждение тела до +4°C. При любых обстоятельствах явления аутолиза трупного материала будут тем менее выражены, чем скорее будет произведено вскрытие, изъятие и фиксация тканевых образцов. Раннее вскрытие позволяет идентифицировать прижизненные повреждения органов и тканей. При поздних вскрытиях отличить прижизненные повреждения и посмертный аутолиз органов и тканей весьма затруднительно.

7. Кроме диагностически значимой нагрузки, процедура макроскопического описания несет в себе и важные технологические элементы, призванные обеспечить доказательность диагностического заключения – это методически правильная вырезка и маркировка материала.

Общие рекомендации по процедуре вырезки секционного материала

1. Проверка качества предварительной фиксации всегда рекомендуется производить перед началом работы с материалом.
2. Недостаточно фиксированные образцы не следует запускать в дальнейшую проводку. Дефекты фиксации образцов обнаруживаются при вырезке, как правило, в глубине больших кусочков, и отличаются от поверхностных слоев ткани красноватым оттенком окраски. Именно в них могут проявиться дефекты дальнейшей гистологической обработки, а при микроскопическом исследовании нередко обнаруживаются аутолитические изменения тканей.
3. Из крупного образца вырезаются более мелкие кусочки, толщиной не более 3-4 мм. Это особенно важно для плотных тканей. Приготовление образцов толщиной более 6 мм может быть причиной некачественной проводки ткани. При вырезке следует помнить и то, что площадь кусочка в последующем может оказать влияние на толщину парафиновых срезов – зависимость здесь обратно пропорциональная. Идеальны для микротомии кусочки с площадкой среза, сторона которой не превышает 5-8 мм. Для парафиновой заливки с использованием стандартных заливочных форм следует вырезать кусочки трех типоразмеров сообразно размерам заливочных форм – до 5x5 мм, 10x10 мм, до 20x20 мм и до 20x30 мм. При значительных размерах зоны интереса следует помнить, что предельный размер кусочков при заливке в стандартные заливочные формы не может

превышать 20 мм. В таких случаях можно для заливки вырезать несколько последовательно ориентированных кусочков, что позволит в дальнейшем реконструировать микроскопическую картину.

4. Форма вырезаемых образцов. Вырезку следует производить так, чтобы в итоге поверхность образца в области интереса, предназначенная для среза, была плоской и на ней должны быть представлены все слои ткани. Неровные образцы требуют значительной обрезки при микротомии, что может привести к потере части ткани образца и повышенному износу микротомных лезвий.
5. Количество вырезаемых образцов определяется клиническими рекомендациями, а в неопределенных случаях – соображениями диагностической целесообразности, определяемыми врачом-патологоанатомом.
6. При вырезке рекомендуется придерживаться правила: в одну кассету для проводки следует помещать только один тканевой образец, на одну кассету следует наносить только один уникальный регистрационный номер, соответствующий номеру тканевого образца.
7. Следует избегать повреждений тканей, в особенности не полностью профилированных – не давить, использовать только острые лезвия, разрезы производить плавными движениями в один рез. Грубое обращение с образцами, использование тупых лезвий или ножниц приводят к деформациям и повреждениям ткани.
8. Каждый образец следует класть на чистую поверхность, чтобы исключить попадание мелких фрагментов тканей от другого образца. Поверхность, на которой производится вырезка, перед вырезкой каждого нового образца должна быть тщательно очищена влажной салфеткой. При вырезке на неочищенной поверхности возможен перенос частичек предыдущего образца на последующий образец. Особенно это важно в тех случаях, когда один за другим обрабатываются образцы одного типа. То же касается и инструментов, используемых при вырезке – всякий раз при переходе к вырезке нового образца инструменты следует тщательно очистить от остатков ткани предыдущего образца.
9. Для проводки ткани следует выбирать соответствующий тип кассет, чтобы избегать дополнительной деформации, сдавливания или утраты образцов. Во время проводки фрагменты ткани сжимаются и могут продавливаться через слишком большие отверстия кассеты в растворы

для проводки или в другую кассету. Не следует исходить из принципа «один размер кассет подходит для любых образцов».

10. Образцы в кассетах всегда следует размещать плоской поверхностью, предназначенной для среза, вниз. В последующем и при заливке образцы переносятся из кассет в заливочные формы этой же поверхностью вниз. Таким образом, поверхность, выбранная для среза врачом во время вырезки, всегда попадет на вершину парафинового блока.
11. Кассеты не следует переполнять образцами – таким образом, обеспечивается наилучший доступ реагентов и предотвращается искажение формы образца. Если образец слишком велик – необходимо использовать вторую кассету. Если в кассеты кладется слишком большое количество образцов – это затрудняет доступ реагентов и приводит к деформации кусочков.
12. Необходима четкая и разборчивая маркировка кассет, что важно для правильной идентификации образцов. Трудночитаемые номера недопустимы во избежание неоднозначного толкования маркировки. Если в лаборатории нет специального гистологического принтера для кассет, то для ручной маркировки следует использовать простой грифельный карандаш средней твердости, обеспечивающий легкое нанесение маркировки. Если при маркировке кассеты допущена ошибка – не следует стирать надпись ластиками, лучше всего ошибочную надпись соскоблить лезвием скальпеля. Маркировка кассеты должна быть максимально лаконична. Лучше всего ограничиться нанесением на кассету только индивидуального уникального номера тканевого образца (объекта). Любая избыточная маркировка затрудняет идентификацию надписи на последующих этапах гистологической обработки материала.
13. Попадание инородной ткани в исследуемый образец в большинстве случаев происходит при вырезке, например, когда нож или поверхность рабочего стола недостаточно очищаются после обработки предыдущего материала. Обработка скальпеля и рабочей поверхности водой или спиртовыми салфетками позволит избежать этого артефакта. Важно помнить, что расходные материалы (например, кассеты, прокладки, растворы для проводки), при их многократном использовании тоже могут служить источником загрязнения препарата. При проводке материала, частички ткани могут задерживаться на кассетах или в многократно применяемых растворах. Для снижения риска загрязнения

материала необходимо следить, чтобы кассеты и полиуретановые прокладки использовались однократно. Следует также стремиться всегда использовать свежеприготовленные растворы. Загрязнение образца инородной тканью может произойти и на других стадиях обработки материала, например: при расправлении срезов в водяной бане после микротомии (флотация), если с поверхности воды не были удалены фрагменты срезов с предыдущего блока или если на поверхности воды одновременно расправляются срезы с нескольких блоков; в результате применения грязных пинцетов, заливочных форм, парафина; при окраске материала, если фрагменты срезов слетевших со стекла, попадают в красящий раствор, а потом оседают на другом препарате. В тех случаях, если возникают сомнения по поводу истинности наблюдаемых в образце изменений, необходимо провести повторное исследование, чтобы исключить возможность контаминации. Пренебрежение этим в ряде случаев, может стать причиной диагностических ошибок.

Общие рекомендации по маркировке объектов

Регистрационный номер должен быть уникальным и формироваться исходя из четкого алгоритма, ясного для всех работников патолого-анатомического отделения.

Следует использовать *сквозную нумерацию случаев* с добавлением количества объектов после косой черты:

0783/1-9

Первая часть регистрационного номера (слева перед косой чертой) является основным идентификатором случая, вторая (после косой черты) отражает количество объектов в пределах данного случая.

При этом уникальные регистрационные номера отдельных объектов исследования на блоках и стеклах отображаются в следующем формате:

0783-1

0783-2

.....

При данном формате регистрационного номера основной идентификатор всегда соответствует конкретной цифре, является неделимым, уникальным для данного случая и легко учитываемым. Такой формат регистрационного номера удобен при любых формах унифицированной ручной и, тем более, машинной обработке направлений (направление = номер).

При данном формате регистрационного номера основной идентификатор всегда соответствует количеству тел умерших, поступивших в патолого-анатомическое отделение (зарегистрированных в журнале по форме № 015/у).

Сквозная нумерация в пределах определенного периода (год)

При данной системе регистрации для обеспечения уникальности регистрационного номера к основному идентификатору требуется добавление префикса (буква, цифра), указывающего на выбранный период. Ясно, что такой основной идентификатор никогда не является конкретной цифрой, а представляет собой некий набор букв и/или цифр, разделенных определенными знаками – такими как точка, черта-разделитель, тире и другими.

При любой выбранной стратегии следует стремиться к наиболее простому формату написания регистрационного номера без утраты его уникальности. Особенно это касается патолого-анатомических отделений, в которых используется ручное нанесение маркировки на блоки и микропрепараты – чем формат регистрационного номера проще, тем проще его наносить, и меньше вероятность возникновения ошибок при маркировке. Потому вопрос максимального упрощения формата регистрационного номера является важнейшей технологической задачей в патолого-анатомическом отделении.

Основные требования

1. Регистрация тел умерших, поступивших в патолого-анатомическое отделение, производится в специальном регистрационном журнале по форме № 015/у.
2. Уникальный регистрационный номер случая проставляется на направлении одновременно с записью в регистрационном журнале (форма № 015/у).
3. Тканевым образцам, иссекаемым из органов и тканей тел умерших, присваиваются уникальные регистрационные номера в соответствии с требованиями, изложенными в предыдущем отделе (*табл. 4*).
4. Уникальный регистрационный номер проставляется на всех первичных материалах исследования – парафиновых блоках (заливочных кассетах при заливке) и микропрепаратах (предметных стеклах при микротомии).
5. Для нанесения регистрационного номера на заливочных кассетах и предметных стеклах используются простые графитовые карандаши или специальные гистологические принтеры с несмываемой краской.

6. Регистрационный номер на заливочных кассетах и предметных стеклах должен наноситься четко и ясно, без исправлений и помарок.
7. Регистрационный номер на предметном стекле должен четко соответствовать регистрационному номеру блока, с которого изготовлен данный микропрепарат.

Унифицированные требования по технологии лабораторной обработки секционного материала

Унифицированные требования по технологии лабораторной обработки секционного материала аналогичны таковым при лабораторной обработке биопсийного и операционного материала.

Секционный материал следует запускать в лабораторную обработку (проводка, заливка, микротомия, окраска) отдельно от биопсийного и операционного материала.

Унифицированные требования по технологии архивирования первичных материалов патолого-анатомических вскрытий

Первичная медицинская документация, микропрепараты и парафиновые блоки секционного материала являются первичными материалами патолого-анатомических исследований, относятся к служебным материалам медицинской организации, и хранятся в архиве патолого-анатомического бюро (отделения)⁶². Заведующий патолого-анатомическим отделением несет персональную ответственность за организацию архива и сохранность первичных материалов исследований.

Организация архива первичной медицинской документации

Хранению в архиве патолого-анатомического отделения подлежат следующие виды первичной медицинской документации патолого-анатомического вскрытия:

⁶² В соответствии с пунктом 34 Порядка [2] и пунктом 29 Правил [1].

- 1) направления в патолого-анатомическое бюро (отделение)⁶³;
- 2) журнал по форме № 015/у «Журнал регистрации поступления и выдачи тел умерших»;
- 3) протоколы патолого-анатомического вскрытия по форме № 013/у и № 013-1/у.

Первичная медицинская документация посмертных патолого-анатомических исследований должна сохраняться в архиве патолого-анатомического отделения в течение срока хранения медицинской документации пациента⁶⁴ (медицинская карта стационарного больного (медицинская карта родов, медицинская карта новорожденного, история развития ребенка, медицинская карта амбулаторного больного).

Организация архива «сырого» материала (тканевых образцов в 10% растворе нейтрального формалина)

Принципы организации хранения тканевых образцов секционного материала в 10% растворе нейтрального формалина те же, что и для биопсийного и операционного материала.

Установленные сроки хранения тканевых образцов секционного материала в 10% растворе нейтрального формалина в архиве патолого-анатомического отделения – до окончания микроскопического изучения и установления патолого-анатомического диагноза⁶⁵ – то есть до окончания оформления протокола патолого-анатомического вскрытия⁶⁶.

Организация архива парафиновых блоков

Принципы организации хранения тканевых образцов секционного материала в парафиновых блоках те же, что и для биопсийного и операционного материала.

⁶³ В соответствии с пунктом 8 Порядка [2].

⁶⁴ В соответствии с пунктом 30 Правил [1].

⁶⁵ В соответствии с пунктом 35 Порядка [2].

⁶⁶ В соответствии с пунктом 30 Порядка [2].

Установленные сроки хранения тканевых образцов секционного материала в парафиновых блоках в архиве патолого-анатомического отделения в течение трех лет⁶⁷.

Организация архива микропрепаратов

Принципы организации хранения микропрепаратов секционного материала те же, что и для биопсийного и операционного материала.

Установленные сроки хранения микропрепаратов секционного материала в архиве патолого-анатомического отделения в течение трех лет⁶⁸.

Выдача архивных материалов

Изъятие микропрепаратов и блоков из архива может производиться только с ведома заведующего патолого-анатомическим отделением, должно строго учитываться и соответствующим образом регистрироваться.

Отсутствие препаратов или блоков в архиве, не подкрепленное санкцией заведующего патолого-анатомическим отделением, должно расцениваться как чрезвычайное происшествие.

Выдача микропрепаратов и блоков секционного материала из архива патолого-анатомического отделения допускается только по письменному запросу органов дознания, следствия или суда⁶⁹. Выдача микропрепаратов и парафиновых блоков из архива по запросам суда и следственных органов может быть осуществлена при условии соблюдения установленных действующим Законодательством процессуальных норм, и только с ведома руководителя учреждения, в состав которого входит соответствующее патолого-анатомическое отделение.

Выдача микропрепаратов, тканевых образцов в парафиновых блоках и копий направлений и протоколов фиксируется в журнале регистрации выдачи архивных материалов. Специальная учетная форма медицинской документации при этом не предлагается, однако устанавливаются обязательные графы⁷⁰. Потому журнал может быть оформлен в свободной форме с условием, если оно содержит установленные порядком обязательные графы.

⁶⁷ В соответствии с пунктом 35 Порядка [2].

⁶⁸ В соответствии с пунктом 35 Порядка [2].

⁶⁹ В соответствии с пунктом 36 Порядка [2].

⁷⁰ В соответствии с пунктом 36 Порядка [2].

Документы об изъятии первичных материалов исследований из архива лаборатории (запросы сторонних учреждений и расписки получателей) являются, как и сам архив микропрепаратов и блоков, служебными материалами медицинской организации.

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА МИКРОПРЕПАРАТОВ

Общие принципы организации контроля качества микропрепарата

1. Качество микропрепаратов является интегральным выражением состояния организации технологического процесса в патолого-анатомическом отделении. В патолого-анатомическом отделении следует создать необходимые и достаточные условия для качественного выполнения всех видов лабораторных работ.
2. Ответственность за состояние организации технологического процесса в патолого-анатомическом отделении и качество конечного лабораторного продукта (микроскопических препаратов) несет руководитель отделения.
3. Контроль качества микропрепаратов в патолого-анатомическом отделении должен осуществляться как минимум на трех уровнях – лаборантом, врачом-патологоанатомом и руководителем отделения.
4. Каждый лаборант должен уметь распознавать лабораторные дефекты в микропрепаратах, нельзя допускать, чтобы некачественные препараты подавались врачу.
5. Ни один микропрепарат с лабораторными дефектами не может быть использован для диагностики. Формулирование заключения (диагноза) по некачественным микропрепаратам не допустимо.
6. Каждый врач-патологоанатом должен уметь распознавать лабораторные дефекты в микропрепаратах и оказывать необходимую методическую помощь лаборанту в анализе и поиске путей устранения выявленных дефектов.
7. Каждый случай выявления некачественных микропрепаратов расценивать как повод для полноценной экспертизы всего производственного процесса с целью выявления дефектов на отдельных этапах технологической цепочки.
8. При анализе дефектов микропрепаратов рекомендуется последовательно разобрать все этапы технологического процесса с

максимальной детализацией (качество используемых реагентов, соблюдение стандартных протоколов лабораторных процедур, действия персонала и другие).

9. По каждому некачественному микропрепарату следует поднять соответствующий блок, изготовить с него новый препарат и заново его окрасить – это позволит, по крайней мере, устранить дефекты микротомии, окраски и заключения среза. В случаях выявления дефектов просветления среза, достаточно снять с препарата покровное стекло, заново просветлить и заключить препарат.
10. При поступлении некачественных препаратов на консультативный пересмотр, всегда следует препараты переделать, для чего рекомендуется всегда просить направлять на пересмотр микропрепараты вместе с блоками.
11. В случаях выявления в микропрепаратах неустранимых дефектов фиксации или проводки – наличие этих артефактов всегда должно быть отмечено в описании и заключении, рекомендуется также отмечать насколько повлияли эти дефекты на возможность адекватного микроскопического анализа материала.

Критерии качества микропрепарата

1. Предметное стекло, используемое для изготовления микропрепарата должно быть тонким (толщиной не более 1,0 мм), бесцветным, с идеально гладкой поверхностью и матовой полосой для записи.
2. Срез должен располагаться как можно ближе к геометрическому центру предметного стекла.
3. Под покровным стеклом не должно быть пузырьков воздуха и других посторонних включений.
4. При осмотре микропрепарата на просвет или при наклоне под углом по отношению к источнику света, на срезе не должны выявляться участки помутнения, он должен быть прозрачен по всей своей площади.
5. При внешнем осмотре следует обращать внимание и на равномерность окраски срезов как в пределах одного микропрепарата, так и в серии препаратов, находящихся на одной планшете.

6. Качественный микропрепарат, окрашенный гематоксилином и эозином должен иметь светло-сиреневый тон окраски.
7. При микроскопии, в первую очередь, следует оценить общее состояние среза в микропрепарате – равномерность окраски, наличие посторонних включений, общие признаки сохранности ткани.
8. Толщина среза не должна превышать 4 мкм, или 1 слоя клеток – это легко проверить с помощью шкалы микровинта. Для выяснения толщины среза следует навести фокус на верхнюю плоскость среза и заметить деление микровинта, стоящее напротив риски, затем перевести фокус на нижнюю плоскость среза, и определить на сколько делений сместилась шкала микровинта.
9. В срезе должны отсутствовать следы механических, термических и вибрационных повреждений.
10. В срезе должны быть сохранены все тканевые элементы. Отсутствие тонкой структуры и сморщивание ядер клеток, вакуолизация цитоплазмы, разрушение межклеточных связей, межклеточный отек, признаки периваскулярного и перицеллюлярного «отека», тканевые смещения, фокальные коагуляционные изменения клеток и волокон, экзогенные пигменты, трещины среза – эти и другие феномены могут быть признаками артифициальных повреждений ткани.
11. Для оценки качества микропрепаратов рекомендуется сверяться с микрофотографиями из лучших руководств (WHO Blue Books, Asker-mann Surgical Pathology), которые можно принять за эталонные изображения.

ЛИТЕРАТУРА

1. **О правилах проведения патолого-анатомических исследований** / Приказ Министерства здравоохранения Российской Федерации от 24 марта 2016 г. № 179н (зарегистрирован Министерством юстиции Российской Федерации от 14 апреля 2016 г., регистрационный № 41799).
2. **О порядке проведения патолого-анатомических вскрытий** / Приказ Министерства здравоохранения Российской Федерации от 6 июня 2013 г. № 354н (зарегистрирован Министерством юстиции Российской Федерации 16 декабря 2013 г., регистрационный № 30612).
3. **Патолого-анатомические исследования: Нормативные документы** / Под редакцией Г. А. Франка и П. Г. Малькова / Минздрав России – М.: Практическая медицина, 2016. – 237 с.
4. **Об основах охраны здоровья граждан в Российской Федерации** / Федеральный Закон Российской Федерации от 21 декабря 2011 г. № 323-ФЗ (с изменениями, вступившими в силу с 1 января 2016 г.).
5. Лилли, Р. **Патогистологическая техника и практическая гистохимия** / Пер. с англ. под ред. В. В. Португалова – М.: Мир, 1969. – 646 с. (Histopathologic Technic and Practical Histochemistry / R. D. Lillie / Dep. of Pathology Louisiana State University – McGraw-Hill Book Company, 1965)
6. **О погребении и похоронном деле** / Федеральный Закон Российской Федерации от 12 января 1996 г. № 8-ФЗ (с изменениями от 14 декабря 2015 г.).
7. Шор Г. В. **О смерти человека. Основы танатологии.** – Л., 1925. – 117 с.
8. Головин Д. И. **Вскрытие трупов. Метод полной эвисцерации** / Методические рекомендации – Кишинева: Государственное издательство Молдавии, 1957. – 110 с.
9. Автвндиллов Г. Г. **Основы патологоанатомической практики.** – М., 1994. – 324 с.