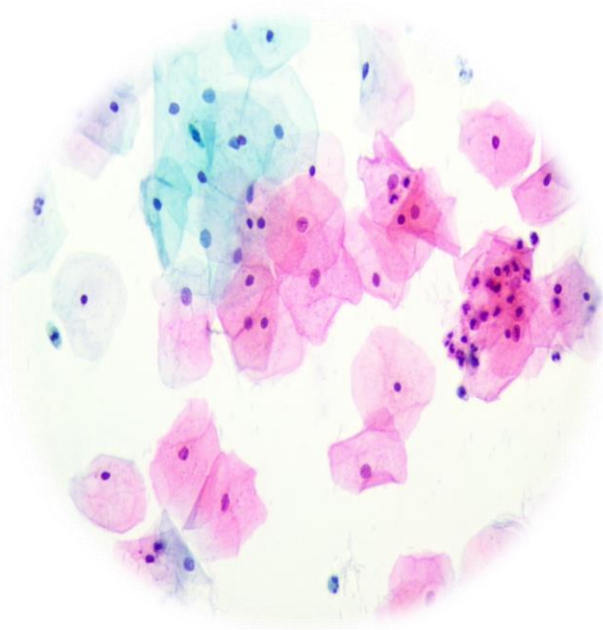
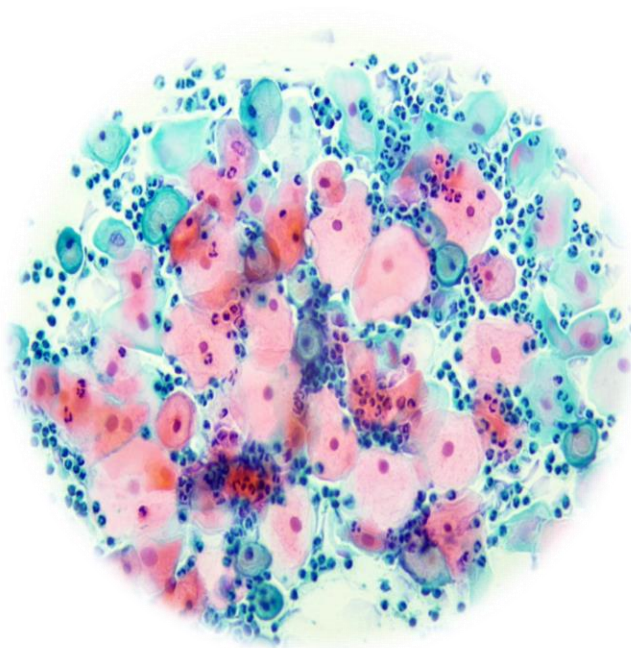




**Цитологическое исследование шейки матки
на основе методики окраски по Папаниколау,
скрининг на РШМ**

Преаналитический этап

V1.3 – 02.04.2019



IVD

Дубна 2019

Цитологическое исследование шейки матки при окраске по Папаниколау - основа наиболее успешного скрининга онкологических заболеваний - цитологического скрининга на рак шейки матки («Пап-теста»). В России опыт использования этой методики не распространился достаточно широко, в связи с этим, целесообразен выпуск руководства по преаналитическому этапу Пап-теста. Настоящее пособие подготовлено на основе международного стандарта - «G15-A3 Cervicovaginal Cytology Based on the Papanicolaou Technique; Approved Guideline—Third Edition» (Руководство по цервикальной цитологии при окраске по Папаниколау) [6], разработанного Институтом клинических и лабораторных стандартов (CLSI); второго издания European guidelines for quality assurance in cervical cancer screening (Европейское руководство по обеспечению качества при цервикальном скрининге [5]; первого и второго изданий руководства ВОЗ «Comprehensive cervical cancer control: a guide to essential practice» (Комплексная борьба с раком шейки матки) [18], [4]; книги Г. Гилла «Клиническая цитология: теория и практика цитотехнологии» [17], ряда других публикаций.

В руководстве рассмотрены практические вопросы, связанные с получением цервикальных клеточных образцов и их обработкой, включая методические рекомендации по окраске по Папаниколау, протоколы экономичных вариантов методики, программы, рекомендуемые для наиболее распространенных автоматов окраски российского производства.

Цитологическое исследование шейки матки на основе методики окраски по Папаниколау, скрининг на РШМ - преаналитический этап
V1.2 – 28.03.2019



Общество с ограниченной ответственностью МЛТ (ООО МЛТ)
141983, Россия, МО, г. Дубна, ул. Программистов, д.4, стр.3,
тел: +7 (495) 287-81-00, факс: +7 (495) 287-81-00
; e-mail: mlt.llc@mail.ru , 2878100@mail.ru; web: www.mlt.ru , stainer.ru

Оглавление

Цитологическое исследование шейки матки на основе методики окраски по Папаниколау - преаналитический этап	4
Введение	4
1 Область применения	4
2 Меры безопасности	5
3 Термины, определения	5
4 Обозначения и сокращения	6
5 Информирование пациенток.....	7
6 Обучение медицинских работников	8
7 Форма направления на обследование.....	9
7.1 Демографическая информация.....	9
7.2 Клиническая информация.....	9
7.3 Требования к бланку направления	10
7.4 Электронный документооборот	10
8 Оснащение	11
9 Инструменты для получения клеточного материала	13
10 Получение клеточного материала.....	15
10.1 Положение пациентки	15
10.2 Подготовка шейки матки	15
10.3 Процедура получения клеточного материала. Традиционный мазок	17
10.3.1 Получение клеточного материала с помощью КЦЩ.....	18
10.3.2 Получение клеточного материала с помощью ЦШ и ЭЦЩ	20
10.3.3 Фиксация клеточного материала.	23
10.3.4 Сравнение эффективности инструментов для получения КМ.....	25
11 Жидкостный метод приготовления препаратов	26
12 Завершение отбора проб	26
13 Особые процедуры получения образцов.....	27
13.1 Беременные женщины	27
13.2 Женщины, у которых была гистерэктомия	27
13.3 Женщины с пониженным иммунитетом	27
13.4 Скрининг среди больных ЗППП и инфекционными заболеваниями	28
13.5 Пациентки с экспозицией к ДЭС.....	28
13.6 Самостоятельное получение образцов	29
14 Контроль качества препаратов.....	29
15 Транспортировка образцов	29

15.1 Традиционный мазок.....	29
15.2 Жидкостный метод приготовления препаратов	30
16 Прием препарата в лабораторию	30
17 Критерии для отбраковки препарата.....	30
18 Оценка препаратов.....	31
19 Предварительная обработка препаратов	31
19.1 Традиционный мазок.....	31
19.2 Препарат, полученный методом ЖЦ	31
20 Окраска по Папаниколау	31
20.1 Регрессивная методика окраски.....	34
20.2 Прогрессивная методика окраски	34
20.2.1 Технологические операции при прогрессивной окраске по	35
20.3 Результат окраски	37
20.4 Обеспечение качества окраски	37
21 Хранение образцов.....	38
22 Результаты исследования	39
23 Обратная связь по оценке качества препаратов.....	39
24 Обучение персонала	40
Список источников.....	41
Консультирование [18] 73-76 (ПРИЛОЖЕНИЕ А).....	43
Получение информированного согласия [18]115-117 (ПРИЛОЖЕНИЕ Б)	47
Сбор анамнеза и проведение гинекологического исследования [18]118- 122 (ПРИЛОЖЕНИЕ В).....	50
Вариант бланка направления на обследование (ПРИЛОЖЕНИЕ Г)	53
Протоколы окраски для автоматов АФОМК (ПРИЛОЖЕНИЕ Д)	55
Основные проблемы, возникающие при окрашивании, их возможные причины и способы решения (на основе рекомендаций [17]) (ПРИЛОЖЕНИЕ Е)	63

Цитологическое исследование шейки матки на основе методики окраски по Папаниколау - преаналитический этап

Правильно приготовленный препарат требует не больше времени и денег, чем препарат, приготовленный неправильно.

Гари. В. Гилл [17]

Введение

Основной целью получения образца клеток из шейки матки является диагностирование предраковых состояний и/или рака шейки матки. Задача настоящего пособия – дать рекомендации по оптимизации процессов получения и обработки образцов, что является критически важным для правильной цитологической интерпретации.

1 Область применения

В настоящее руководство включены следующие рекомендации по преаналитическому этапу цитологического исследования шейки матки на основе методики окраски по Папаниколау:

- меры безопасности;
- опрос и консультирование пациенток;
- форма направления на обследование;
- инструменты, применяемые при получении клеточного материала;
- получение цервикагинального клеточного материала;
- транспортировка образцов;
- прием образцов в лаборатории;
- обработка образцов;
- обеспечение качества;
- хранение препаратов на предметных стеклах;
- безопасность данных.

Цитологическая интерпретация в настоящем пособии не затрагивается.

Руководство будет полезно для врачей, лаборантов, других лиц, связанных с обеспечением цитологических исследований и скрининга РШМ.

2 Меры безопасности

Пациенты и образцы для лабораторных анализов должны рассматриваться, как потенциально инфицированные. При обработке образцов: фиксации, окраске, заключении под покровное стекло, могут использоваться токсичные и раздражающие реагенты, легковоспламеняющиеся жидкости.

ЗАПРЕЩАЕТСЯ ВЗЯТИЕ БИОЛОГИЧЕСКИХ ОБРАЗЦОВ, РАБОТА С БИОЛОГИЧЕСКИМИ ПРЕПАРАТАМИ И РЕАГЕНТАМИ БЕЗ СООТВЕТСТВУЮЩИХ СРЕДСТВ ЗАЩИТЫ: ЛАБОРАТОРНОЙ ОДЕЖДЫ, ПЕРЧАТОК, ЗАЩИТНЫХ ОЧКОВ.

ЗАПРЕЩАЕТСЯ РАБОТА В КОНТАКТНЫХ ЛИНЗАХ ПРИ РАБОТЕ С КСИЛОЛОМ.

3 Термины, определения

Вирус папилломы человека – наиболее часто встречающийся и передающийся половым путем вирус, который почти во всех случаях является возбудителем в патогенезе рака шейки матки и предшествующих поражений.

Диэтилстилбестрол (Diethylstilbestrol) – синтетический нестероидный эстроген, который в прошлом веке назначали беременным женщинам для предотвращения выкидышей. ПРИМЕЧАНИЕ: существуют доказательства, что дочери этих женщин, если они подверглись воздействию этого вещества в ходе внутриутробного развития, имеют предрасположенность к неопухоловому аденозу и неопластической светлоклеточной аденокарциноме в женском урогенитальном тракте (шейка матки и влагалище).

Жидкостный метод приготовления цитологических препаратов – метод приготовления цитологического препарата, при котором клеточный материал с шейки матки/влагалища, до нанесения на предметное стекло, помещается в контейнер с консервирующим раствором и только после этого, наносится на предметное стекло. Существует большое количество методов нанесения клеток, собранных в консервирующий раствор, основные способы: седиментация в гравитационном поле, седиментация в цито-центрифугах, осаждение фильтрацией с последующим переносом клеток с фильтра на предметное стекло.

Жидкостная цитология - цитологическое исследование с использованием препарата, приготовленного жидкостным методом.

Зона трансформации - участок между исходной границей плоского и цилиндрического эпителия и передним краем распространяющейся метаплазии новой границы плоского и цилиндрического эпителия.

Комбинированная цервикальная щётка, (см. Рисунок 2, п.1а, 1б) - инструмент, предназначенный для одновременного получения клеточного материала с эктоцервикса и из эндоцервикса. Одно из широко используемых зарегистрированных названий – «Cervex-Brush®»

Методика окраски по Папаниколау – методика полихроматического окрашивания препаратов, разработанная американским врачом греческого происхождения Георгиосом Папаниколау, для идентификации изменений в морфологии клеток, их зрелости и активности метаболизма.

Пап-тест – цитологическое исследование препарата из клеточного материала с шейки матки при окраске по Папаниколау с целью выявления больных раком и пациентов с риском развития рака. Пап-тест – первая методика, примененная для скрининга на рак шейки матки, является наиболее распространенной и в настоящее время.

Традиционный мазок – метод приготовления цитологического препарата, при котором клеточный материал с шейки матки/влагалища переносится на предметное стекло, распределяется по нему и фиксируется.

Традиционная цитология – цитологическое исследование с использованием традиционного мазка.

Цервикальный шпатель (см. Рисунок 2, п.3а, 3б) - инструмент, предназначенный для получения клеточного материала с шейки матки.

Эндоцервикальная щётка (см. Рисунок 2, п.2) – инструмент для получения клеточного материала из эндоцервикса. Одно из широко используемых зарегистрированных названий – «Cytobrush®».

4 Обозначения и сокращения

В настоящем стандарте использованы следующие сокращения:

ВОЗ - Всемирная организация здравоохранения;

ВИЧ - вирус иммунодефицита человека;

ВМС - внутриматочная спираль

ВПЧ - вирус папилломы человека высокого канцерогенного риска;

ДЭС - диэтилстилбестрол;

ЖЦ - жидкостная цитология;

ЗППП - заболевания, передаваемые половым путём

ЗТ – зона трансформации;

ИС - информационная система;

КМ - клеточный материал;

КЦЩ - комбинированная цервикальная щётка;

ЛИС - лабораторная информационная система;

ЛПУ - лечебно-профилактическое учреждение;

РШМ - рак шейки матки;

ТМ – традиционный мазок;

ТЦ – традиционная цитология;

ФИО - фамилия, имя, отчество;

ЦШ - цервикальный шпатель;

ШМ - шейка матки;

ЭЦЩ - эндоцервикальная щётка.

5 Информирование пациенток

Перед осмотром и получением у пациентки клеточного материала, необходимо проконсультировать её и получить информированное согласие на проведение дальнейших действий.

ЛПУ должны иметь учебные материалы для пациентов или информировать женщин о том, что целью мазка является выявление предраковых поражений для предотвращения рака шейки матки. Многие женщины находят процедуру смущающей и неудобной. Чтобы поощрить женщин регулярно проходить ПАП-тест, медперсонал должен объяснить процедуру, ответить на вопросы и поддерживать общение и информирование на протяжении всей процедуры, что будет способствовать уменьшению тревожности. Во время назначения процедуры женщина должна быть проинформирована о том, что существует оптимальное время выполнения Пап-теста. Следует рекомендовать пациенткам планировать осмотр у гинеколога через две недели от первого дня последней менструации. Забор образца недопустим в следующих случаях:

- во время менструации;
- при использовании вагинальных препаратов, контрацептивов, кремов, лубрикантов или спринцеваний менее чем за 48 часов до обследования;
- при половом контакте в ночь перед исследованием.

Тем не менее, если эти условия не могут быть выполнены, и возможно, что пациентка не вернется, следует сделать мазок по Папаниколау.

ЛПУ и его сотрудники должны иметь согласованную политику консультирования пациентки о результатах теста и должны информировать её о способе передачи информации.

Подробные рекомендации ВОЗ по проведению консультации, получению информированного согласия, приведены в Приложениях А, Б.

Пациентку необходимо проинформировать, что рак шейки матки связан с вирусом папилломы человека (ВПЧ) высокого риска. Некоторые типы сексуального поведения женщин повышают риск заражения ВПЧ, а именно:

- половой контакт в раннем возрасте;
- большое количество партнеров;
- наличие партнера, у которого было много сексуальных партнеров;

В то время как большинство случаев заболевания раком шейки матки связано с ВПЧ, у большинства женщин, зараженных ВПЧ, цервикальный рак не разовьётся. Факторы риска развития рака шейки матки включают в себя:

- курение;
- ВИЧ;
- хламидии;
- недостаточное количество фруктов и овощей в ежедневном рационе;
- длительный прием оральных контрацептивов;
- большое количество беременностей;
- низкий социально-экономический статус;
- экспозицию к диэтилstilбестеролу (ДЭС).

6 Обучение медицинских работников

Перед допуском к получению клеточного материала (КМ), медицинский работник должен пройти обучение и тестирование.

При скрининге на РШМ с использованием Пап-теста неизбежно получение ложноотрицательных результатов. Корректное получение КМ и корректное приготовление препаратов, определяют результативность теста. Неудовлетворительные препараты – важная причина получения ложно положительных и ложно отрицательных результатов.

Врач должен произвести адекватную оценку пациентки, которая включает в себя изучение соответствующей истории болезни и клинические исследования,

включая гинекологический осмотр. Рекомендации ВОЗ по сбору анамнеза и проведению осмотра даны в Приложении В.

7 Форма направления на обследование

Крайне важно, чтобы врач, который произвел получение цитологического образца цервикагинальных клеток, либо иной уполномоченный специалист, внес полные и точные сведения в бланк направления на обследование. Необходимо указать имя пациентки, идентификационный номер, дату забора образца и другую необходимую информацию.

7.1 Демографическая информация

Форма направления на обследование должна содержать следующую информацию для идентификации пациентки:

- имя пациентки/идентификационный номер;
- дата рождения;
- дата забора биологического материала;
- источник материала (шейка матки, цервикальный канал, влагалище)
- тип направляемого материала(ов) и количество предметных стекол, если применимо;
- имя и контактные данные медицинского работника.

7.2 Клиническая информация

- Дата начала последнего менструального цикла;
- Гормональный статус (например, беременность, постменопауза);
- Гормональная терапия (оральные контрацептивы, противозачаточные пластыри, инъекции ДМПА (депомедроксипрогестерона ацетат), эстроген/прогестерон гормонозаместительная терапия (ЗГТ), гормонотерапия злокачественных образований, гормональные кремы);
- Наличие внутриматочной спирали (ВМС);
- Экспозиция к ДЭС;
- Клиническая история цервикагинальной интраэпителиальной неоплазии, злокачественных образований в уrogenитальном тракте;
- Клиническая история перенесенных курсов химиотерапии, лучевой терапии органов малого таза, гинекологического хирургического вмешательства, криохирургии, электрохирургии или лазерной хирургии;

- Дата последнего гинекологического мазка, клиническая история и даты предыдущих хирургических вмешательств или цитологических исследований;
- Любые текущие атипичные клинические результаты или симптомы и внешний вид шейки матки (например, нормальный или атипичный, эктопия («псевдоэрозия»), «рыхлая» шейка матки, «нарост», воспаление);
- Факторы риска для рака шейки матки (например, ВПЧ высокого риска и другие заболевания, передающиеся половым путем, сексуальная активность в раннем возрасте и курение);
- Результаты предыдущих тестов на ВПЧ с датами;
- Вакцинирование против ВПЧ, дата вакцинации, если известна.

7.3 Требования к бланку направления

Бланк должен предусматривать достаточное место для всех вышеперечисленных пунктов, места для отметок соответствия и дополнительное пространство для пояснений, где это требуется для полноты информации в разделе клинической истории. Пример бланка направления, предлагаемого CLSI и его русского варианта приведен в Приложении Г.

7.4 Электронный документооборот

При наличии в ЛПУ электронного документооборота, лабораторной информационной системы (ЛИС), направление может формироваться с использованием ранее внесенных сведений о пациентке. В том числе, могут автоматизировано подготавливаться этикетки для маркирования предметных стёкол. Этикетки должны быть стойкими к воздействию воды, этанола и изопропанола, ксилола и заменителей ксилола. При формировании этикеток целесообразно использование штрихкодирования или QR-кодирования, при этом, следует дублировать без кодирования минимально необходимые сведения о пациентке (фамилию и дату рождения). Варианты маркирования предметных стёкол приведены на Рисунке 1. Препараты, подготовленные с применением электронного документооборота, могут направляться в лаборатории с бумажными направлениями, содержащими минимально необходимый набор сведений, таких, как фамилия пациентки, дата её рождения, фамилия врача, локализация при получении клеточного материала, наименование лаборатории, куда препарат направляется. Бумажные направления должны сохраняться для удобства работы персонала лаборатории и на случай временной неработоспособности ЛИС.

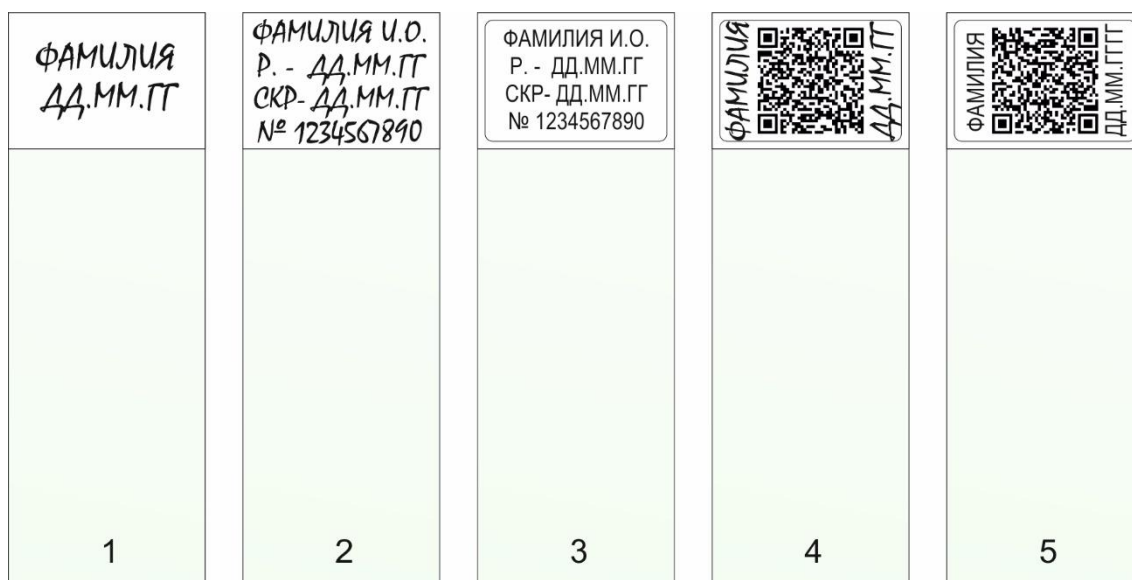


Рисунок 1. 1 – предметное стекло, маркированное простым карандашом с минимальным объёмом информации (фамилия, год рождения); 2 - предметное стекло, маркированное простым карандашом с максимальным объёмом информации (фамилия, инициалы, год рождения, дата скрининга, идентификатор пациентки в ЛПУ); 3 - предметное стекло, с этикеткой, распечатанное на принтере в ЛПУ; 4 - предметное стекло, с этикеткой с кодированной QR кодом информацией (например – с уникальным номером) и минимальной некодированной информацией, нанесённой вручную; 5 - предметное стекло, с этикеткой с кодированной QR кодом информацией и минимальной некодированной информацией.

8 Оснащение

Скрининг на РШМ — это обследование условно здоровых, не предъявляющих жалоб лиц для того, чтобы выявить больных и тех, у которых повышен риск болезни. Важно чтобы женщины были удовлетворены проведенным обследованием, иначе они не будут проходить повторные скрининговые обследования и возможные дополнительные последующие анализы. Даже до процедуры получения КМ окружающая обстановка должна быть соответствующей. Должны обеспечиваться приватность, тепло и непринуждённая атмосфера. До начала обследования должны быть подготовлены и проверены:

- амбулаторная карта или история болезни, бланк направления и ручка;
- изображение женских половых органов (по возможности);
- мыло и вода для мытья рук;
- источник света для осмотра шейки матки;
- гинекологическое кресло, накрытое чистой бумажной или полотняной простынёй;
- одноразовые или дезинфицированные (дезинфекция высокого уровня) многоразовые перчатки;

- дезинфицированные (дезинфекция высокого уровня) влагалищные зеркала разных размеров (могут быть нестерильными);
- небольшая емкость с теплой водой, чтобы смочить и согреть зеркало;
- инструменты для получения клеточного материала;
- предметные стёкла со штативом и контейнерами для упаковки, - фиксатор и заточенный простой карандаш (при использовании ТЦ);
- виалы (контейнеры) с консервирующей жидкостью и шариковая ручка при использовании ЖЦ;
- 0,5% раствор хлорной извести для дезинфекции инструментов и перчаток.

Следует всё подготовить, чтобы клеточный материал наносился и фиксировался без малейшей задержки: стёкла для ТМ должны быть предварительно промаркированы; с флаконов с фиксатором или со спрея-фиксатора должны быть сняты крышки. Необходимо проверить исправную работу распылителя спрея. Кроме того, должны быть подготовлены ёмкости для утилизации использованных расходных материалов и принадлежностей.

В наличии должны быть иллюстрированные информационные материалы для того, чтобы дать женщине информацию по вопросам, которые могут возникнуть.

От пациентки должно быть получено информированное согласие на процедуру, заполнен бланк направления, при этом должно быть подтверждено отсутствие противопоказаний для цитологического обследования шейки матки: полная гистерэктомия, ампутация шейки матки (если была проведена операция по поводу поражения шейки матки, следует сделать мазок из влагалища) и наличие подозрительного, макроскопически видимого поражения в области шейки матки.

Факторы, отрицательно влияющие на качество клеточного материала:

- менструация, кровопотеря, кровотечения
- вагинальное воспаление / инфекция
- половой акт в течение 24-48 часов до обследования
- тяжелая атрофия половых органов (менопауза)
- беременность, послеродовой период и лактация
- физические манипуляции или химическое раздражение, такие как: предшествующее бимануальное вагинальное исследование, дезинфицирующий крем или жидкость, смазывающий гель, вагинальные лекарства, вагинальный душ или спермицидный гель (менее чем за 24 часа), кольпоскопия (менее чем за 24 часа)), предыдущий мазок (менее чем за 3 недели), операция на шейке матки (менее чем за 3 месяца);
- лучевая терапия.

Необходимо знать эти факторы и сводить их влияние к минимуму.

9 Инструменты для получения клеточного материала

Для получения качественного клеточного материала необходимо использование современных инструментов (щёток и шпателей). **ЗАПРЕЩАЕТСЯ ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ВАТНЫХ ТАМПОНОВ ДЛЯ ВЗЯТИЯ КЛЕТОЧНОГО МАТЕРИАЛА.**

Для получения клеточного материала используются:

- **комбинированные цервикальные щётки (КЦЩ)** из мягкой гидрофобной пластмассы, предназначенные для получения КМ одновременно с эктоцервикса и эндоцервикса. Основной производитель и держатель патентов [7] - Rovers Medical Devices B.V. <https://www.roversmedicaldevices.com/>. В связи с этим, в качестве названий для щёток (Рисунок 2, п.-п. 1а, 1б) часто используются зарегистрированные наименования соответственно Cervex-Brush®, Cervex-Brush® Combi. В стандарте [6], в нормативном документе Европейской комиссии [5], по отношению к КЦЩ применяется термин «brum» – метёлка.

- **эндоцервикальные щётки (ЭЦЩ)**, предназначенные для получения КМ из эндоцервикса. ЭЦЩ (Рисунок 2, п. 3). В России чаще всего применяются ЭЦЩ с тонкими нейлоновыми щетинками, удерживаемыми витым проволочным каркасом с пластмассовой ручкой [15]. Для таких щёток часто применяется название «Cytobrush®». Так же используются ЭЦЩ со съёмным ёршиком из мягкой гидрофобной пластмассы производства Rovers Medical Devices B.V., с зарегистрированным названием «EndoCervex-Brush®».

- **цервикальные шпатели (ЦШ)** (Рисунок 2, п.-п. 3а, 3б), предназначенные для получения КМ преимущественно с эктоцервикса. Цервикальные шпатели изготавливаются из пластмассы или из дерева, могут иметь различную форму кончиков. Наиболее известные инструменты – шпатели Эйра (Ayer) [2], (Рисунок 2, п. 3а) предложенные ещё в 1947 году и до сих пор успешно используемые. И предназначенные для получения КМ с эктоцервикса и из зоны трансформации, если она не расположена в эндоцервиксе. Также известны шпатели с вытянутым кончиком (Рисунок 2, п. 3б), предназначенным для получения КМ и из эндоцервикса – шпатели типа Эйлсбери (Aylesbury), например – пластмассовые шпатели [12].

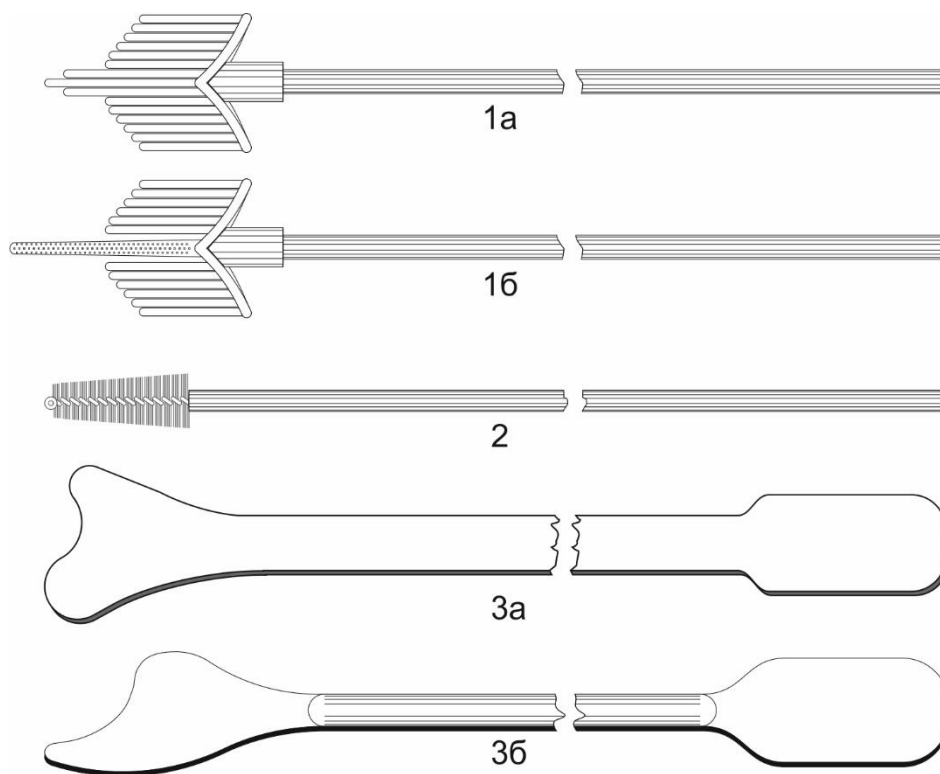


Рисунок 2. 1а комбинированная цервикальная щётка типа Cervex-Brush; 1б комбинированная цервикальная щётка типа Cervex-Brush-Comby; 2 – эндоцервикальная щётка типа Cytobrush; 3а – цервикальный шпатель Эйра (Ayer); 3б цервикальный шпатель Эйлсбери (Aylesbury).

При получении КМ во время осмотра обычно используется либо комбинированный инструмент - КЦЩ типа Cervex-Brush, Cervex-Brush-Comby, либо сочетание инструментов, приспособленных для более специализированного отбора КМ – ЭЦЩ и ЦШ. В литературе имеются противоречивые сведения о преимуществах одного или другого варианта получения КМ. Обобщённая точка зрения приведена в [1,5,6], где показано, что два варианта дают примерно одинаковый результат. Однако, из общих соображений, понятно, что применение сочетания современных **специализированных** инструментов, должно быть более результативно в отборе и нанесении КМ на предметное стекло. Специализация инструмента может быть как по отношению получения КМ, так и по отношению к нанесению КМ на стекло. Например, ЭЦЩ – наилучший инструмент для получения КМ из цервикального канала и для нанесения традиционного мазка. КЦЩ лучше приспособлены для жидкостной пробоподготовки цитологических препаратов – ЖЦ.

При использовании инструментов, необходимо предварительно изучить прилагаемых к ним инструкции по эксплуатации. Если рекомендации инструкций противоречат признанным рекомендациям, которые приведены в настоящем руководстве, необходимо проконсультироваться с производителем, потребовать от

него обоснование изменения процедуры получения клеточного материала, получив информацию – принять обоснованное решение, каким образом должен использоваться инструмент.

10 Получение клеточного материала

10.1 Положение пациентки

Хотя получение образца для цервикагинальной цитологии возможно в разных положениях пациентки, как правило, процедуру проводят в гинекологическом кресле.

10.2 Подготовка шейки матки

Как только пациентка примет нужное положение, во влагалище аккуратно вводится, избегая прямого надавливания на внутренние чувствительные стенки (например, уретры), простерилизованное или одноразовое двусторчатое гинекологическое зеркало подходящего размера. Зеркало предварительно желательно согреть в руках с надетыми стерильными перчатками или в теплой воде, для того чтобы нагреть и смазать зеркало. Использование небольшого количества водорастворимого гелевого лубриканта (нанесение на внешнюю поверхность створки зеркала) для облегчения его продвижения, допускается в [6] и не рекомендуется в [1] т.к. есть риск контаминации клеточного материала. Избыточное количество лубриканта, особенно в случае его нанесения на внутреннюю поверхность створок зеркала, может привести к неудовлетворительным результатам Пап-теста, особенно в случае применения метода жидкостной цитологии. Медицинский работник должен следовать рекомендациям производителя по забору цитологического материала. Необходимо иметь зеркала нескольких размеров, чтобы иметь возможность подобрать инструмент, подходящий для пациентки. Очень молодые пациентки, пациентки с небольшим сексуальным опытом, а также возрастные пациентки с вагинальной атрофией должны проходить обследование при использовании более маленьких и узких зеркал, чем сексуально активные женщины. Установите зеркало таким образом, чтобы вся поверхность шейки матки была видна между его створками, поскольку правильно взятый мазок предполагает забор клеток со всей зоны трансформации и из цервикального канала. Для выравнивания положения шейки матки часто используют большой ватный тампон, но его нельзя применять для забора образца.

Надлежащий порядок забора образца также предполагает визуальный осмотр полового тракта перед введением зеркала, а также осмотр шейки матки после его установки. Плоский эпителий эктоцервикса мягкий, розовый и светопоглощающий.

Поверхность нативного цилиндрического эпителия эндоцервикса неоднородная, блестит и имеет темно-розовый или красный цвет. Зона трансформации – это участок между исходной границей плоского и цилиндрического эпителия и передним краем распространяющейся метаплазии новой границы плоского и цилиндрического эпителия. Зона трансформации появляется в том месте, где нативный цилиндрический эпителий цервикального канала замещается метапластическим плоским эпителием. Внешний вид варьируется в зависимости от степени созревания метапластического плоского эпителия.

Расположение и строение активной зоны трансформации могут быть различными, в зависимости от таких факторов, как вагинальный кислотно-щелочной баланс, беременность, гормональная среда, прием контрацептивов, возраст, хирургические вмешательства и индивидуальные анатомические особенности. Проксимальная (эндоцервикальная) граница зоны трансформации динамическая и определяется передним краем смещающейся границы плоского и цилиндрического эпителия. У женщин после менопаузы граница плоского и цилиндрического эпителия часто продвигается внутрь цервикального канала и визуально не определяется (см. Рисунок 3, п.4).

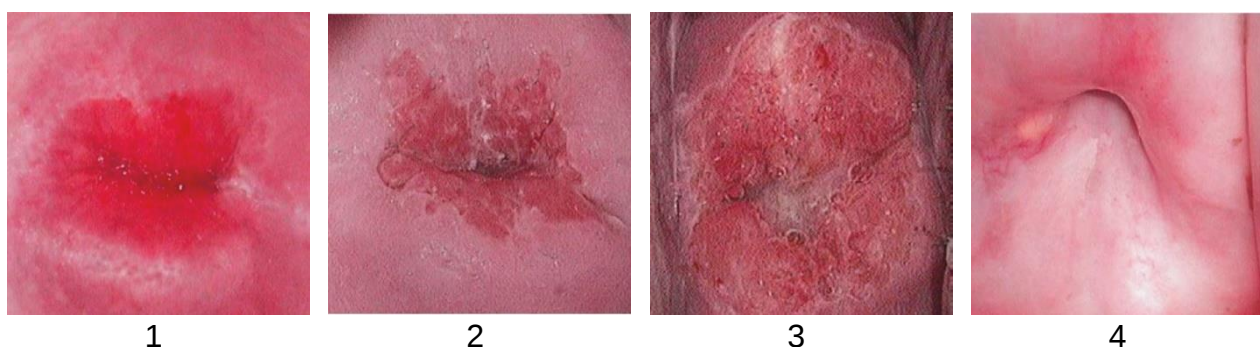


Рисунок 3. Разновидности эпителия шейки матки. 1: узкая зона трансформации; 2: более широкая зона трансформации; 3: цервикальная эктропия – шейка матки рожавшей женщины; 4: граница плоского и цилиндрического эпителия высоко в цервикальном канале – шейка матки после менопаузы, либо после медикаментозного вмешательства. [6]

Правильно взятый материал для цитологического исследования должен включать в себя клетки плоского и цилиндрического эпителия и самое важное – клетки зоны трансформации, где развивается подавляющее большинство неоплазий шейки матки. Инструменты для получения образца и методика исследования определяются исходя из индивидуальных анатомических особенностей ШМ пациентки, в частности,

расположения и строения зоны трансформации, определенных посредством визуального осмотра.

Важно, чтобы полученный образец не был загрязнен кровью, слизью или воспалительными выделениями. Если после правильного расположения зеркала во влагалище на поверхности шейки матки находится избыточное количество слизи или других выделений, удалите их при помощи ватного тампона. Ватный тампон может использоваться также для коррекции положения ШМ для более удобного доступа к ней с помощью инструментов для получения КМ.

Запрещается использовать марлевый тампон т.к. он имеет грубую структуру. Запрещается производить очистку поверхности шейки матки с применением физиологического раствора или других растворов, так как это может привести к образцам с недостаточным количеством клеток. Получение цитологического образца необходимо проводить до обработки шейки матки уксусной кислотой или раствором Люголя.

10.3 Процедура получения клеточного материала. Традиционный мазок

Соблюдайте стандартные меры предосторожности при получении и обработке образцов. Перед тем как взять мазок, промаркируйте матовый край предметного стекла (размер 76x25 мм, толщина примерно 1 мм), нанеся на него имя пациентки, идентификационный код или штрих-код (см. Рисунок 1). Информацию следует наносить на матовый край стекла разборчиво, твердым графитным карандашом. (Многие чернила растекаются при обработке; тем не менее, допускается применение ручек с устойчивыми к растворителям чернилами, если они были одобрены соответствующей цитологической лабораторией).

Если образец состоит из нескольких стёкол, обязательно указание источника материала (например, эктоцервикс, эндоцервикс).

Введите зеркало. Если инструмент металлический, его можно предварительно нагреть тёплой водой. Перед введением допускается нанесение небольшого количества водорастворимого гелевого лубриканта на внешнюю поверхность створок зеркала.

Проведите визуальный осмотр шейки матки на наличие патологических изменений. Определите зону трансформации, если она визуально различима, при взятии мазка постарайтесь охватить её площадь.

ПРИМЕЧАНИЕ: при обнаружении приподнятого, язвенного, некротического, либо покрытого экссудатом поражения назначьте проведение кольпоскопии и биопсии

после взятия мазка для цитологического исследования. Поскольку мазок может содержать неполный диагностически значимый материал, рекомендуется проведение прицельной биопсии подозрительного поражения. Таким же образом соскоб с поверхности выпуклой кератозной бляшки на шейке матки может не быть репрезентативным, для подобных поражений рекомендованы кольпоскопия и биопсия.

Поскольку целью Пап-мазка является охват всей зоны трансформации, выбор инструмента для забора материала должен основываться на клинической оценке внешнего вида шейки матки.

При помощи комбинированной щётки можно получить более репрезентативный образец, если у пациентки обширная цервикальная эктопия с периферийной или широкой зоной трансформации. И наоборот, пациентки постменопаузального возраста, либо пациентки, перенесшие хирургическое или аблативное лечение шейки матки, как правило, имеют границу плоского и цилиндрического эпителия внутри цервикального канала, и зев шейки матки может быть узким; наиболее подходящим инструментом для получения образца таких случаях будет эндоцервикальная щетка в комбинации со шпателем. Шпатель рекомендуется использовать пластиковый, а не деревянный.

Практически во всех руководствах обращается особое внимание на предотвращение загрязнения препаратов кровью, слизью, продуктами воспаления. При получении КМ необходимо минимизировать выделение крови т.к. это может привести к тому, что препарат будет непригодным для исследования. Кроме того, травматичное взятие материала может вызвать отказ пациентки от прохождения последующих Пап-тестов.

10.3.1 Получение клеточного материала с помощью КЦЩ

Использование комбинированной цервикальной щётки типа Cervex-Brush, обеспечивает получение материала как с эктоцервикса, так и из цервикального канала. Комбинированная щётка - лучший выбор при необходимости обследования беременных (применять с осторожностью) и при обследовании женщин с шейкой матки, которая начинает кровоточить даже при лёгком воздействии. Эндоцервикальные клетки и эктоцервикальные клетки отбираются одновременно - длинные щетинки захватывают эндоцервикальные клетки, в то время как короткие щетинки собирают эктоцервикальные клетки. **ВНИМАНИЕ:** щетинки комбинированной щётки имеют форму [7], обеспечивающую эффективный сбор клеток **только при**

вращении по часовой стрелке. Для забора материала, введите длинные центральные щетинки в зев ШМ, боковые щетинки в это время прижимаются к вагинальной части шейки матки, совершите пять полных оборотов ручки щётки, **по часовой стрелке**, держа ручку инструмента между большим и указательным пальцами (см. Рисунок 4). **Щётка не должна терять плотный контакт с поверхностью эпителия** на протяжении всего вращения. Не меняйте направление вращения, так как это повышает риск кровотечения.

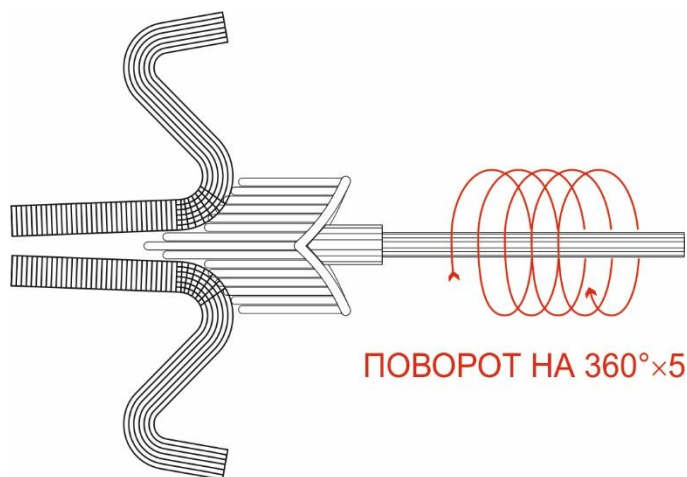


Рисунок 4. Получение клеточного материала с помощью комбинированной щётки. Изображение схематичное. На практике периферийные щетинки изгибаются, центральные входят глубже в цервикальный канал.

Для переноса материала протяните щётку вдоль слайда, переверните и повторите нанесение другой стороной щётки. (см. Рисунок 5). Движение при нанесении клеток с помощью комбинированной щётки аналогично движению художника кистью.

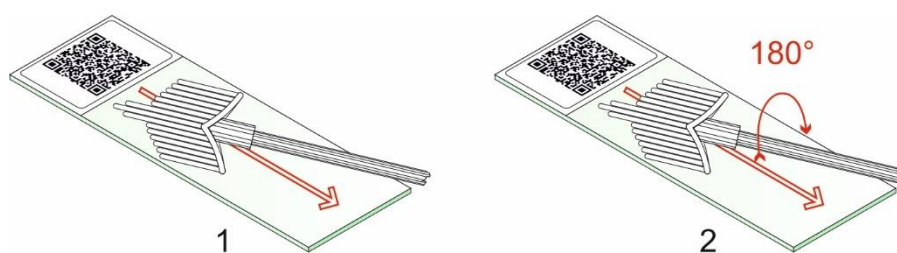


Рисунок 5. Нанесение клеточного материала с помощью комбинированной щётки. Изображение схематичное. На практике нанесение идёт с изгибом щетинок, как при мазке кистью художника.

Немедленно зафиксируйте материал либо путем погружения стекла в 95% этанол, либо путем покрытия поверхности стекла фиксатором (подробнее – см. раздел **Фиксация**, Рисунок 10 -11).

10.3.2 Получение клеточного материала с помощью ЦШ и ЭЦЩ

В первую очередь применяется цервикальный шпатель, который собирает клетки с эктоцервикса (могут применяться цервикальные шпатели с кончиком различной формы по Эйру (Ayre), по Эйлсбери (Aylesbury)); во вторую очередь применяется эндоцервикальная щётка для получения клеток из цервикального канала.

Эндоцервикальная щётка должна использоваться только в сочетании с другим инструментом, обеспечивающим получение клеток с эктоцервикса.

ЗАПРЕЩАЕТСЯ ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ЭНДОЦЕРВИКАЛЬНОЙ ЩЁТКИ ПРИ ОБСЛЕДОВАНИИ БЕРЕМЕННЫХ ЖЕНЩИН.

Приложите край шпателя к поверхности шейки матки и поверните по часовой стрелке не менее чем на 360° вокруг внешнего зева и эктоцервикса, не теряя плотный контакт с поверхностью эпителия на протяжении всего вращения (см. Рисунок 6). При необходимости повторите, чтобы на инструмент попало достаточное количество клеточного материала. В [5] рекомендуется завершать (следовательно и начинать) вращательное движение по часовой стрелке в положении «9 часов» - так, чтобы собранный клеточный материал находился на верхней поверхности шпателя, расположенной горизонтально. В этом случае, медицинский работник может визуальнo контролировать количество полученного клеточного материала. Кончик шпателя собирает клетки с поверхности зева шейки матки, широкая часть шпателя собирает клетки внешней поверхности шейки матки. Необходимо обратить особое внимание на получение клеток с границы между плоским и цилиндрическим эпителием. В случае обширной цервикальной эктропии (Рисунок 3 п. 3) дополнительно используйте тупой конец шпателя (Рисунок 2 п.3).

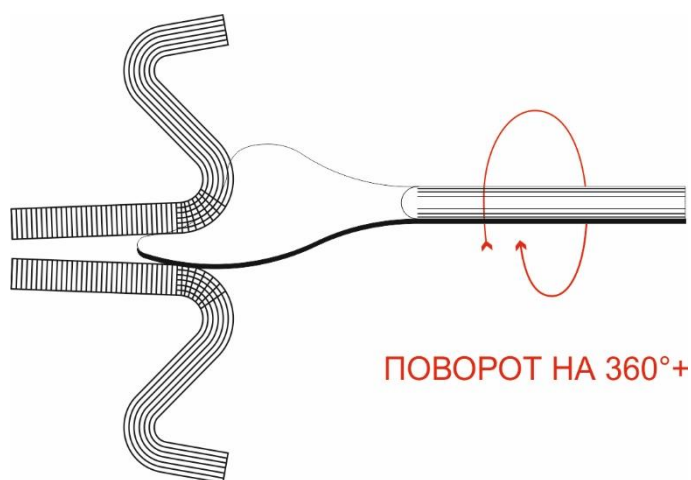


Рисунок 6. Получение клеточного материала с помощью цервикального шпателя.

Несмотря на то, что материал забирается двумя инструментами, рекомендуется наносить его на одно стекло [14] в связи с тем, что:

- использование двух стёкол менее экономично, особенно в смысле трудозатрат цитолога;
- при наличии двух стёкол с клеточным препаратом с шейки матки, по практике скрининга в Канаде [14], цитологи, как правило, одно из стёкол просматривают менее тщательно.

При нанесении на стекло КМ, он быстро высыхает, что может вызвать появление артефактов. Клеточный материал дольше не высыхивается, если находится на шпателе. В связи с этим рекомендуется, не нанося КМ на предметное стекло, положить шпатель на стекло или подставку клеточным материалом вверх и без промедления получить материал с помощью эндоцервикальной щётки.

Для этого введите эндоцервикальную щётку в зев ШМ; часть щетинок должна оставаться видимой. Глубина введения зависит от разных факторов, таких как возраст, степень раскрытия, хирургические вмешательства и гормональный статус. Мягко надавливая, поверните щетку **по часовой стрелке на 90°**, или немного больше (см. Рисунок 7), уделяя особое внимание минимизации кровотечений.

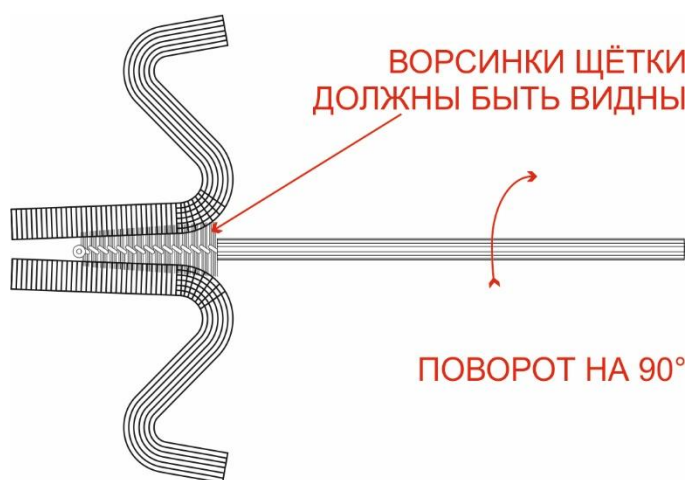


Рисунок 7. Получение клеточного материала с помощью эндоцервикальной щётки.

Щетинки эндоцервикальной щетки расположены таким образом, что при введении они контактируют со всей поверхностью цервикального канала, в отличие от края шпателя, который захватывает только незначительную часть поверхности эпителия. Поэтому щетку следует поворачивать только на четверть окружности (90°).

Быстро перенесите материал со щётки на половину стекла. См. Рисунки 8, 9.

Нанесение осуществляется протягиванием щётки с щетинками, находящимися

в контакте с поверхностью стекла вдоль стекла с одновременным вращением рукоятки щётки предпочтительно - **против часовой стрелки**. Ось щётки – перпендикулярна продольной оси предметного стекла. Щетинки при нанесении должны быть под небольшим наклоном (щётка должна быть прижата к стеклу).

Без промедления перенесите материал со шпателя на предметное стекло одним ровным поглаживающим движением. Главная цель – быстро и ровно распределить клеточный материал тонким слоем по предметному стеклу. По возможности разгладьте скопления материала, избегая излишних манипуляций, размазывающих движений, что может повредить клетки. Для того, чтобы избежать возникновения артефактов из-за высыхания клеток, перенесите материал с обоих инструментов на стекло в течение нескольких секунд и сразу зафиксируйте его. Качество препарата будет значительно снижено при задержке фиксации даже на несколько секунд.

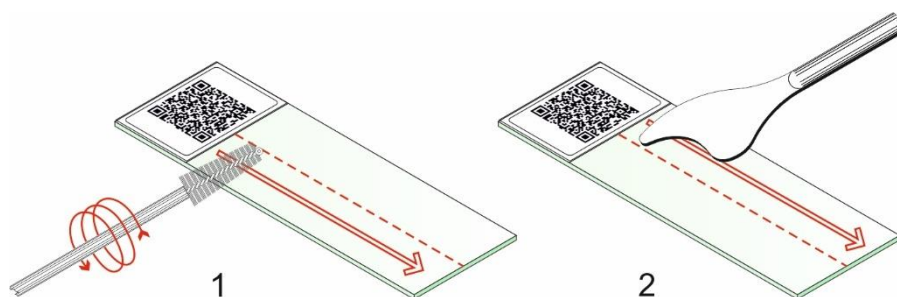


Рисунок 8. Нанесение клеточного материала с помощью эндоцервикальной щётки и шпателя. Вариант 1.

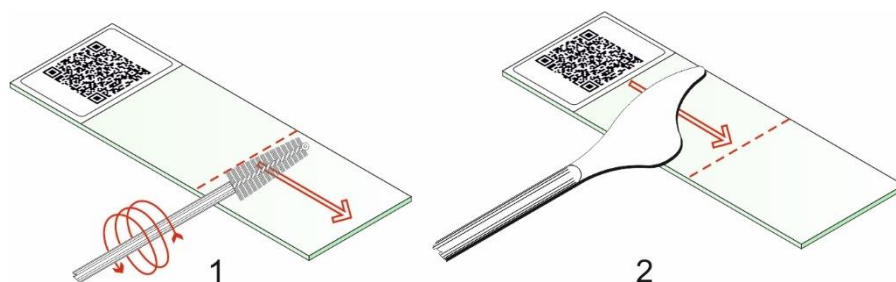


Рисунок 9. Нанесение клеточного материала с помощью эндоцервикальной щётки и шпателя. Вариант 2.

Для оптимального проведения исследования рекомендуется использование обоих инструментов. Порядок забора материала – сначала шпателем, затем щеткой определяется тем, что на шпателе клеточный материал медленнее сохнет, клетки плоского эпителия менее чувствительны к высушиванию, кроме того, использование шпателя реже приводит к выделению крови, чем использование эндоцервикальной

щётки. В связи с этим, при таком порядке получения клеточного материала, препараты получают более высокого качества. Однако, есть мнение, что первичное получение материала при помощи эндоцервикальной щетки может привести к увеличению слущивающихся патологических клеток, которые затем соберутся шпателем.

Для неопытного персонала может быть затруднительным достаточно быстро нанести клеточный материал с двух инструментов на одно стекло и зафиксировать. В этом случае временно, до приобретения достаточного опыта, возможно нанесение препаратов отдельно на два стекла. Сразу же после получения клеточного материала шпателем производится нанесение на первое стекло, препарат немедленно фиксируется; затем, сразу же после получения клеточного материала эндоцервикальной щёткой, производится нанесение на второе стекло, препарат немедленно фиксируется.

10.3.3 Фиксация клеточного материала.

Фиксация препаратов осуществляется во влажном состоянии¹. После взятия клеточного материала необходимо его зафиксировать как можно скорее, не допуская даже незначительного локального высушивания. Немедленная фиксация убивает бактерии, денатурирует ферменты, устраняет возможность образования артефактов, связанных с высушиванием препарата [1]. В качестве фиксатора используется 95% этиловый спирт. Специальные фиксаторы для цитологических препаратов, как правило изготавливаются на основе этанола (возможны добавки других спиртов), с растворёнными веществами, обеспечивающими замедление испарения спирта и лучшую сохранность препаратов при высушивании и хранении. Препарат на предметном стекле следует залить фиксатором из флакона-капельницы (Рисунок 10), или погрузить в контейнер с фиксатором.

¹ Вообще говоря, возможно и использование высушенных препаратов [17] с последующей фиксацией высушенного или гидратированного препарата. Гидратация проводится в глицериново-водных растворах или в сбалансированных по солевому составу водных растворах. Однако, полученные таким образом препараты, как правило, отличаются от препаратов, полученных по общепринятой технологии.



Рисунок 10. Фиксация препарата наливом фиксирующего раствора.

В случае использования фиксации погружением в раствор, следует обеспечить невозможность перекрёстной контаминации препаратов клетками, смытыми с поверхности стекла. Необходимо отметить, что фильтрация использованного фиксатора с помощью обычной фильтровальной бумаги не может обеспечить удаление мелких клеток и ядер клеток. В связи с этим отработанный фиксатор следует своевременно утилизировать. Согласно [10] фиксация клеточного материала не требует более чем нескольких минут, но, минимум 15 минут рекомендуется для обеспечения хорошей адгезии препарата к стеклу. В [6] рекомендуемая длительность фиксации – не менее 10 минут. Такая длительность фиксации в случае фиксации однократным наливом чистого 95% этилового спирта на поверхность стекла не всегда реализуема из-за быстрого испарения. В связи с этим рекомендуется использовать специальный фиксатор с добавками, предотвращающими быстрое испарение и сохранение клеток.

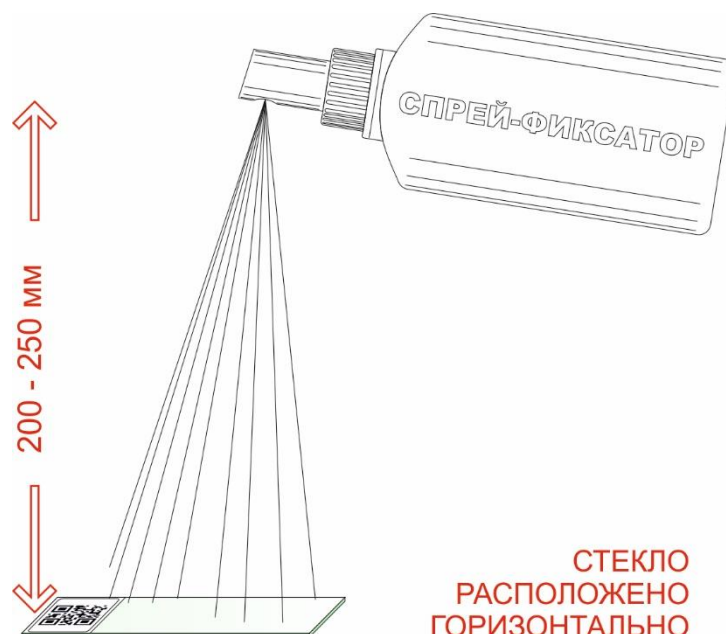


Рисунок 11. Фиксация препарата с помощью спрея.

Третий вариант фиксации – с помощью аэрозольного фиксатора на спиртовой основе с добавками, обеспечивающими замедление испарения спирта и лучшую сохранность препаратов при высушивании и хранении. Фиксации распылением, должна быть осуществлена немедленно после нанесения клеточного материала на стекло. Держите флакон со спреем на расстоянии, рекомендуемом инструкциями производителя, чтобы не допустить сдувания клеток со стекла, либо попадания недостаточного количества фиксатора на стекло (как правило, рекомендуемое расстояние – 20 – 25 см). При фиксации рекомендуется **размещать предметное стекло на горизонтальной поверхности**. Струя аэрозоля должна быть направлена на плоскость стекла под углом близким к 90°. Следует избегать неоднородного по площади стекла распыления спрея и слишком большого количества фиксатора. Во всех трёх вариантах быстрая фиксация в течение нескольких секунд необходима для предотвращения образования артефактов, которые могут образоваться при частичном высушивании. Следует отметить, что мазки женщин в постменопаузе и мазки с примесью крови высыхают очень быстро [5]

Перед упаковкой и транспортировкой полностью высушите зафиксированные препараты.

10.3.4 Сравнение эффективности инструментов для получения КМ

В ряде исследований было проведено сравнение эффективности различных инструментов для забора образцов. Результаты исследований несколько разнятся

между собой; тем не менее, исследования, которые оценивали качество мазка с клетками из канала шейки матки и/или клетками цилиндрического метапластического эпителия, взятыми при помощи сочетания шпателя и щетки и взятыми при помощи комбинированной щётки, либо не имели разницы в качестве мазков, либо показали, что при заборе материала при помощи сочетания ЦШ и ЭЦЩ забирается больше клеток из канала шейки матки. В некоторых исследованиях также было отмечено, что при использовании ЭЦЩ наблюдается повышенное кровотечение или наличие в мазке артефактов, связанных с высушиванием, но их количество недостаточно для того, чтобы подвергать сомнению общее качество образца. Согласно обобщению [1,6] статистически значимых различий между результатами, получаемыми с помощью комбинированной щётки и сочетания ЦШ + ЭЦЩ в способности обнаруживать патологии в общем в ходе тщательных испытаний обнаружено не было.

11 Жидкостный метод приготовления препаратов

Контейнер с образцом следует промаркировать сразу после забора материала и проверки правильности этикетки. Для минимизации риска неправильной идентификации пациентки не маркируйте контейнер заранее и не наклеивайте этикетку на крышку сосуда. В случае отмены визита пациентки, заблаговременное маркирование контейнеров может привести к ошибкам в идентификации.

Получение образцов для жидкостного метода приготовления препаратов осуществляется по такой же схеме, как было описано ранее (см. Раздел 9.3.1, за исключением того, что КМ на комбинированной щётке или без неё (в зависимости от конкретной технологии) помещается в контейнер с транспортной (консервирующей жидкостью). Все операции по обработке полученного клеточного материала следует выполнять в полном соответствии с рекомендациями производителя используемой системы жидкостного приготовления препаратов. Если в лаборатории используется альтернативный неодобренный инструмент для забора образцов, необходимо провести клиническую валидацию для подтверждения одинаковых результатов.

12 Завершение отбора проб

Ввиду важности быстрой фиксации препаратов на предметных стёклах, зеркало следует оставить на месте, объяснив перед процедурой женщине, причину этого. После фиксации препаратов зеркало извлекается в обычном порядке.

13 Особые процедуры получения образцов

13.1 Беременные женщины

Поскольку раком шейки матки могут заболеть женщины репродуктивного возраста, возможно обнаружение РШМ или предраковых состояний ШМ во время беременности. Пренатальные посещения, обеспечивают возможность прохождения обследования. Тем не менее, беременность сама по себе не требует повторение Пап-теста, выполненного в соответствии с рекомендуемым интервалом, если результаты последнего теста были нормальными.

В случае положительного результата Пап-теста, дальнейшее сопровождение пациентки должно быть в основном аналогичным сопровождению женщин без беременности т.е. показания для кольпоскопического исследования остаются теми же. Нет никаких доказательств того, что риск прогрессирования от интраэпителиального поражения (CIN1) до более тяжелого поражения (CIN2 / CIN3) или от тяжелого поражения (CIN2 / CIN3) до инвазивного РШМ больше во время беременности. Часто наблюдается регресс поражений эпителия в послеродовой период. В связи с этим, часть мероприятий по сопровождению пациентки могут быть отложены на время в 12 недель после родов.

13.2 Женщины, у которых была гистерэктомия

Ряд исследований, подтверждают рекомендация прекратить скрининг среди женщин, у которых была полная гистерэктомия (шейка матки удалена), когда вмешательство было сделано для доброкачественного состояния. В этом случае, риск рака влагалища чрезвычайно низок, и результативность цитологического теста минимальна.

Однако женщины, у которых была субтотальная гистерэктомия, должны проверяться так же, как и население в целом. В случае, когда гистерэктомия была выполнена в связи с раком шейки матки или предракового поражения, может быть необходимо наблюдение в течение нескольких лет, так как риск вагинального рака у таких пациенток выше. Последующее наблюдение должно проводиться на индивидуальной основе, в соответствии с рекомендациям лечащего врача.

13.3 Женщины с пониженным иммунитетом

Женщины с иммуносупрессией после ВИЧ-инфекции, трансплантации органов или длительного потребления лекарств для лечения аутоиммунных заболеваний или

рака имеют более высокий риск генитального рака, чем риск у средней женщины. Риск после заражения ВИЧ был изучено больше всего. Среди ВИЧ-инфицированных женщин был выявлен более высокий риск с точки зрения заболеваемости, распространенность и персистенция ВПЧ-инфекций, а также заболеваемость цервикальными предраковыми состояниями, инвазивным раком и рецидивами рака после лечения.

Рекомендуется предлагать ежегодный скрининг всем сексуально активным женщинам с иммуносупрессией после ВИЧ-инфекции, трансплантации органов или других хронических состояний, независимо от их возраста.

Женщины с сомнительными (ASC-US) или аномальными результатами должны быть направлены на ВПЧ тестирование, далее, при необходимости - на кольпоскопию.

13.4 Скрининг среди больных ЗППП и инфекционными заболеваниями половых органов

Женщины целевой группы, обращающиеся в медицинские учреждения с симптомами, которые могут быть вызваны ЗППП или инфекционными заболеваниями женских половых органов, нуждаются в обследовании. Однако они должны быть обследованы в рамках скрининга рака шейки матки только в отсутствие признаков острого воспалительного заболевания. Если при осмотре шейки матки в зеркалах выявлены его признаки, назначают соответствующее лечение, а обследование в рамках скрининга откладывают до выздоровления. Санитарное просвещение и консультирование по проблемам ЗППП и инфекционных заболеваний женских половых органов должно включать информацию об инфекции, вызываемой ВПЧ, ее связи с раком шейки матки, благоприятных последствиях более безопасного полового поведения, в том числе использования презервативов. Лечение и консультирование по проблемам профилактики рака шейки матки следует проводить также партнерам больной. Медицинская помощь по поводу ЗППП, нацеленная в первую очередь на мужчин, должна включать предоставление информации о ВПЧ и профилактике рака шейки матки

13.5 Пациентки с экспозицией к ДЭС

Если в направлении на обследование указана внутриутробная экспозиция ДЭС, произведите забор материала со всех четырех вагинальных квадрантов при помощи шпателя, соскребая эпителий с верхней трети вагинальной стенки, для исследования на наличие аденоза и/или светлоклеточной аденокарциномы. Нанесите на четыре

отдельных стекла маркировку с анатомической информацией об источнике материала. Цервикагинальный образец не заменяет бимануальное обследование на предмет наличия поражений влагалища.

13.6 Самостоятельное получение образцов

Самостоятельный забор цервикагинального материала для цитологического исследования не рекомендован, поскольку качество образца часто неадекватно.

14 Контроль качества препаратов

Препарат должен быть, по возможности, монослойным – без перекрытия клеток друг другом.

Полученные препараты должны иметь достаточное для исследования количество клеток. Согласно системе BETHESDA 2014 [8] количество хорошо сохраненных, доступных для исследования клеток плоского, или метапластического плоского эпителия, на препарате ТМ должно составлять не менее 8000 шт. Для ЖЦ – не менее 5000 шт. По возможности должны быть представлены так же, клетки из зоны трансформации, клетки цилиндрического эпителия.

Женщины, прошедшие химио- или лучевую терапию в постменопаузе с атрофическими изменениями, или после гистерэктомии могут иметь образцы с количеством менее 5000 клеток, и такие образцы могут считаться адекватными на усмотрение лаборатории. В таких случаях должна быть принята во внимание история пациента. Образцы с количеством клеток менее 2000 следует считать неудовлетворительными в большинстве случаев.

Препарат не должен быть загрязнен в значительных количествах слизью и кровью.

15 Транспортировка образцов

15.1 Традиционный мазок

Предварительно зафиксированные и высушенные мазки могут быть отправлены в назначенную цитопатологическую лабораторию в подходящем контейнере для стекол. Хорошо высушите стекла перед транспортировкой, поместите стекла в адекватную транспортировочную упаковку, чтобы они не сломались.

Существует ряд контейнеров, пригодных для транспортировки стекол (вентилируемые цилиндрические или прямоугольные полистироловые контейнеры с поролоновой подложкой и картонные или пластиковые футляры для стекол (slide booklet). Использование картонных коробок не рекомендуется. Подходящий

контейнер для стекол должен:

- фиксироваться в закрытом положении и легко открываться;
- иметь ударопрочный/вибростойкий каркас;
- не допускать контакта поверхности стекол с держателем.

Утилизируйте контейнеры для стекол после одного использования, либо тщательно промойте для повторного использования.

15.2 Жидкостный метод приготовления препаратов

Следуйте инструкциям производителя по транспортировке образцов.

Аккуратно плотно закрутите крышки контейнеров с консервирующим раствором перед транспортировкой. Консервирующие растворы, содержащие легковоспламеняющиеся вещества, такие как спирт, должны транспортироваться в соответствии с действующими нормативными требованиями для легковоспламеняющихся веществ

16 Прием препарата в лабораторию

По прибытии в лабораторию необходимо провести сверку стекол и/или контейнеров с препаратами с соответствующими бумажными или электронными направлениями. Любой образец, вызывающий сомнения в идентификации, должен быть отбракован, а медицинский работник, осуществляющий транспортировку, по возможности уведомлен.

17 Критерии для отбраковки препарата

Критерии для отбраковки стекла/контейнера с препаратом:

- образец без надлежащей идентификации пациентки;
- в направлении на обследование нет данных об идентификации пациентки, либо оно содержит противоречивую информацию. Лаборатория имеет полномочия отбраковать любой образец по причине недостаточности информации в направлении на обследование или по причине возможной ошибки в идентификации (например, расхождение между именем пациентки и номером или несоответствие между идентификатором в направлении и на образце);
- образец без сопроводительного направления на обследование в бумажной или электронной форме;
- сломанные стекла (традиционный мазок), которые невозможно восстановить;
- контейнер (ЖЦ), который протекает, так что осталось недостаточное

количество жидкости для приготовления препарата; и/или

- контейнер (ЖЦ) с консервирующим раствором с истекшим сроком годности.

Критерии и процедуры отбраковки образцов должны быть ясно задокументированы в инструкциях. Требования к приему образцов в лабораторию должны быть четко прописаны и доступны для всех ответственных за транспортировку медицинских работников.

Медицинские работники, сдающие образцы в лабораторию, должны получать уведомление о присутствии образцов неприемлемого качества, и подобные случаи должны быть надлежащим образом задокументированы.

18 Оценка препаратов

При поступлении образцов в лабораторию необходимо:

- зафиксировать дату забора материала и поступления препарата в лабораторию;
- присвоить порядковый номер лаборатории.

19 Предварительная обработка препаратов

19.1 Традиционный мазок

Препараты, приготовленные традиционным методом, часто фиксируются фиксаторами с добавками воскообразного вещества (ПЭГ, полиэтиленгликоль), образующего плёнку на поверхности. В связи с этим протоколом обработки должно быть предусмотрено удаление плёнки с поверхности препарата перед окраской. Это может быть осуществлено промывкой препарата в воде в течение 30 - 60 сек. [17]. Возможна также промывка в 95% этаноле минимум на 10 минут [6]. Неполное удаление фиксирующего покрытия может привести к неровному, пятнистому, низкокачественному окрашиванию.

19.2 Препарат, полученный методом ЖЦ

При использовании метода жидкостной цитологии следует строго следовать инструкциям производителя применимой системы. Необходимо учитывать, что морфология клеток и оптимальные режимы окраски при применении ЖЦ могут существенно отличаться от морфологии клеток и режимов окраски для ТМ.

20 Окраска по Папаниколау

Модифицированная методика окраски по Папаниколау является

рекомендованным способом окрашивания цитологических препаратов, полученных из женского урогенитального тракта. Существует большое количество вариантов протоколов этой окраски. Изменения и улучшения вносились и самим Георгиосом Папаниколау [9,10,11] и в дальнейшей работе многочисленных врачей-цитологов и цитотехнологов [17], [16]. Современные варианты методики позволяют окрашивать препараты быстрее, экономичнее и с более стабильным результатом. Рецептура используемых красок, также модифицировалась. Для получения оптимальных результатов на красках разных производителей могут требоваться различные длительности обработки.

Окраска по Папаниколау особенно удобна для скрининга так как обеспечивает:

- хорошо окрашенный хроматин и выделение особенностей ядра;
- дифференцированное контрастное окрашивание (т.е. окрашивание цитоплазмы различных типов клеток в разные цвета) для определения зрелости и активности клеток;
- цитоплазматическую прозрачность (что позволяет видеть сквозь слои клеток, продукты распада и слизь).

Окраска по Папаниколау, подразумевает окрашивание ядра (гематоксилин, или краска Папаниколау-1) и два контрастных окрашивания цитоплазмы (краска типа OG - Папаниколау-2 (далее – OG) и краска типа EA – Папаниколау-3, далее - EA). Краска типа OG состоит из красителя оранжевый G в сочетании с фосфорновольфрамовой кислотой или уксусной кислотой в спирте. Рецептура краски EA представляет собой спиртовой раствор красителей эозин Y и светло-зеленый SF желтоватый (или зеленый прочный FCF). Дифференциальная окраска клеток этой краской обеспечивается наличием в её составе фосфорновольфрамовой кислоты. Возможны также добавки уксусной кислоты и других веществ.

Окраска по Папаниколау состоит из четырех основных этапов:

- влажная фиксация;
- окрашивание ядер гематоксилином;
- контрастное окрашивание цитоплазмы красками OG и EA;
- просветление и заключение под покровное стекло.

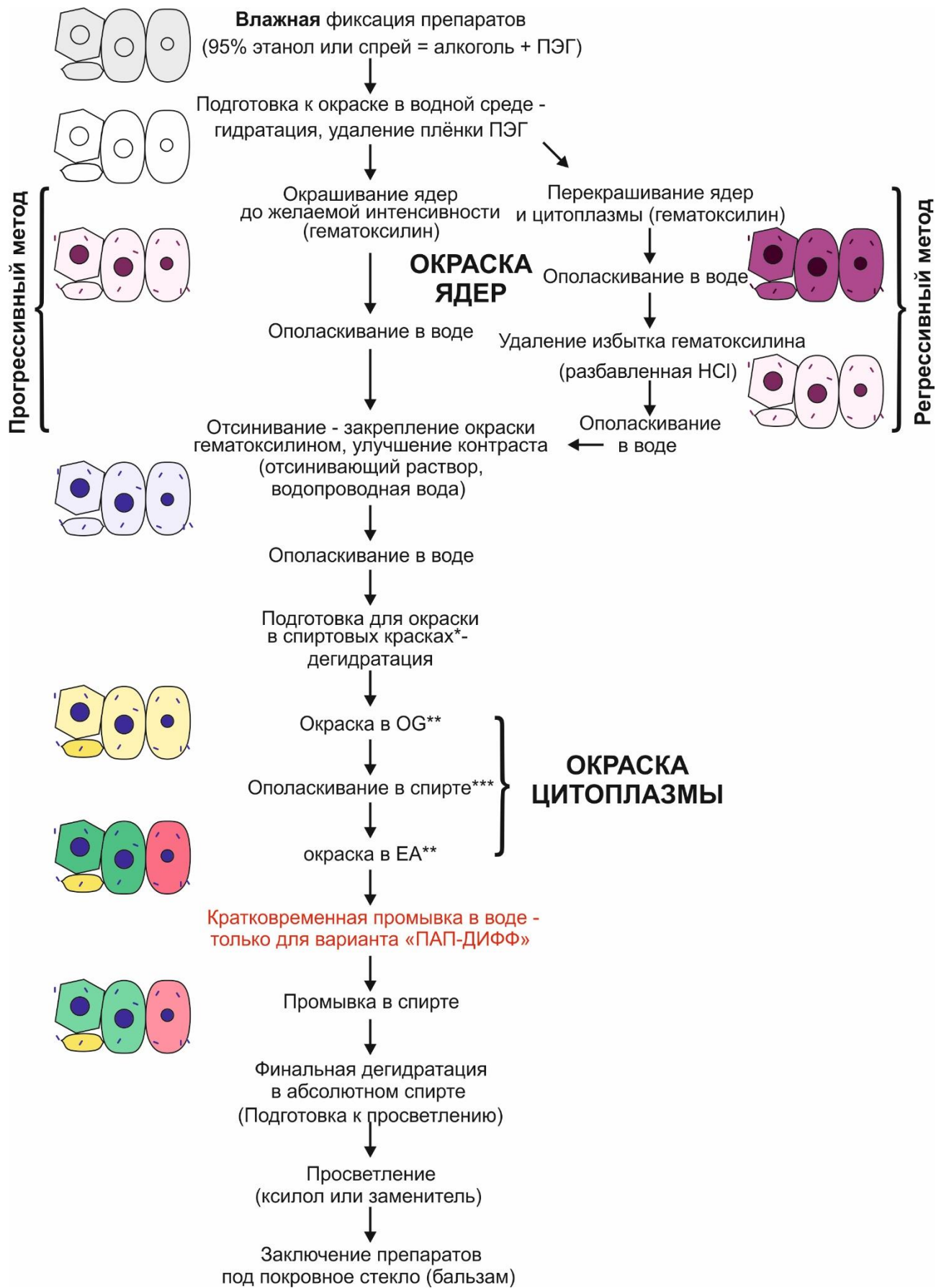


Рисунок 12. Схема методики окраски по Папаниколау.

Основные этапы перемежаются дополнительными шагами, такими как гидратация, дегидратация, дифференцировка, отсинивание, ополаскивание, промывка.

Могут применяться разные модификации окраски по Папаниколау, при которых цвет и интенсивность окрашивания ядра и цитоплазмы несколько варьирует. Выбор, какую модификацию использовать, по большей части зависит от предпочтений персонала ЛПУ. Краска типа ЕА в зависимости от состава, который использует производитель, может давать зелёное окрашивание цитоплазмы и сине-зелёное, близкое к синему окрашиванию. Очевидно, что структуру хроматина удобней рассматривать при контрастирующем зелёном окрашивании цитоплазмы.

20.1 Регрессивная методика окраски

Именно этот вариант методики был опубликован Г. Папаниколау в 1942 году [9]. В начале производится окраска гематоксилином, окрашивающим не только ядра, но и цитоплазму клетки, далее следует дифференцирование в кислом растворе, осветляющим ядра и удаляющим окраску цитоплазмы. За дифференцированием следует отсинивание ядер в щелочном растворе (изменение окраски ядер с тёмно-красного на тёмно-синий и перевод окраски в нерастворимое состояние). После отсинивания выполняется окраска в двух, контрастных по отношению к окраске ядра, цитоплазматических красках: оранжевой OG и комплексной краске ЕА на основе эозина, дающего розовую окраску и зелёного красителя (Light green SF или Fast green FCF).

20.2 Прогрессивная методика окраски

Вариант методики был рекомендован Г. Папаниколау в 1960 году [10]. В этом варианте методики используется «прогрессивный» гематоксин, окрашивающий ядра клеток, и практически не окрашивающий цитоплазму (используется раствор гематоксилина с содержанием красителя менее 4 гр./л, подкисленный уксусной кислотой). Такой гематоксин не перекрашивает препараты, скорость окраски меньше, результаты легче контролируются. Дифференцирование не проводится. Далее, аналогично регрессивному варианту, следует отсинивание ядер в щелочном растворе и окраска в двух цитоплазматических красках.

Прогрессивная окраска в настоящее время используется наиболее часто как при автоматизированной окраске, так и при окраске вручную. В связи с этим этот вариант окраски далее будет подробно рассмотрен по шагам.

20.2.1 Технологические операции при прогрессивной окраске по Папаниколау

В прогрессивной окраске по Папаниколау можно выделить следующие стадии (см. Рисунок 12):

1. Влажная фиксация препаратов (в этаноле, изопропанолe, с помощью спрея на основе этанола и полиэтиленгликоля и пр.). Фиксация должна производиться немедленно после нанесения на стекло для того, чтобы максимально наследовалась морфология ткани и не было разницы в условиях фиксации, вне зависимости от взаимного расположения клеток, наличия слизи, частичного высыхания препарата и пр.

2. Перед окраской препарат гидратируют (насыщают водой), у препаратов, фиксированных спреем, смывают поверхностную плёнку из полиэтиленгликоля. Если промывка производится в водопроводной воде, целесообразно, перед последующей окраской в гематоксилине, ополоснуть стёкла в дистиллированной воде, подкисленной уксусной кислотой (~0,5 % раствор). Это необходимо для обеспечения длительной работы гематоксилина (щелочная среда переводит гематоксилин в нерастворимое состояние, красящая способность раствора снижается).

3. Окрашивание ядер клеток в гематоксилине (цитоплазма в гематоксилинах, предназначенных для прогрессивной окраски окрашивается слабо). Ядра на этом этапе окрашиваются в тёмно-красный цвет. Длительность окраски примерно 2 минуты (зависит от конкретной используемой краски), перекрашивания при использовании прогрессивного гематоксилина (например – гематоксилин по Гиллу 1, 2) не происходит.

4. Отсинивание в водопроводной воде или в специальном растворе с $pH > 7$. Могут использоваться различные растворы, однако, Гарри Гиллом было показано, [17] что отсинивание с приемлемой скоростью идёт даже в водопроводной воде с $pH \geq 5$. Ядра на этом этапе приобретают тёмно-синий цвет. Обычное время отсинивания в водопроводной воде – около 2 минут. При отсинивании окраска становится нерастворимой в нейтральной среде.

5. Окрашивание цитоплазмы в краске OG. Краситель имеет маленький размер молекулы и очень быстро прокрашивает цитоплазму всех клеток, включая их многослойные скопления. Не допускайте избыточного окрашивания в OG т.к. окрашивание в красках EA и OG взаимозависимо.

6. Окрашивание цитоплазмы в комплексной краске ЕА. При выдержке в этой краске, вначале, цитоплазма всех клеток за исключением кератинизированных, быстро прокрашивается эозином в розовый цвет. Кератинизированные клетки сохраняют оранжевый цвет. При дальнейшей выдержке происходит замещение эозина на зелёный краситель в цитоплазме всех клеток, кроме зрелых клеток плоского эпителия. Дифференциальную окраску обеспечивает наличие в растворе фосфорно-вольфрамовой кислоты. В результате:

- кератинизированные клетки сохраняют оранжевый цвет;
- эозин даёт розовую окраску цитоплазмы зрелых клеток плоского эпителия, ресничек в клетках цилиндрического эпителия, ядрышек и эритроцитов;
- цитоплазма остальных клеток (незрелых клеток плоского эпителия, промежуточных, базальных и пр.), окрашивается в сине-зелёный цвет.

При низкой концентрации фосфорно-молибденовой кислоты в растворе (при истощении краски), цитоплазма клеток не окрашивается дифференциально.

При выдержке препарата в краске ЕА, кроме окрашивания цитоплазмы эозином и зелёным красителем, происходит частичное вымывание молекул оранжевого красителя из цитоплазмы клеток (концентрация этого красителя в растворе свежей краски ЕА равна 0, что создаёт большие градиенты концентрации и, соответственно, диффузию молекул красителя из препарата в раствор). Вымывание ОВ из кератинизированных клеток и из многослойных скоплений выражено в меньшей степени. Конечный цвет цитоплазмы каждой клетки и её отдельных участков, формируется наложением всех четырех красителей. Так, например, розовая окраска цитоплазмы клетки – результат преобладающей окраски эозином с небольшими добавками синего оттенка от гематоксилина, желтого – от красителя Оранжевый G, зелёного – от светло-зелёного красителя. Соотношение вкладов красителей зависит от многих факторов, в том числе – кинетических. Это необходимо учитывать при интерпретации окраски препарата. Так, например, в многослойных участках препарата цитоплазма клеток может быть окрашена преимущественно оранжевый цвет не из-за того, что клетки кератинизированы, а по кинетическим причинам - из-за увеличенных диффузионных путей.

Концентрация красителей в краске ЕА высокая, вследствие этого на поверхности предметного стекла и препарата образовывается осадок, который также даёт вклад в формирование цвета препарата (зеленоватый фон). Кратковременная промывка в водопроводной воде, или в растворе со слабой щелочной реакцией, после окраски в ЕА позволяет смыть осадок, в результате препарат получается более

прозрачным. Такая промывка должна быть кратковременной (5-10 сек) во избежание значительного вымывания красителей из самого препарата. Наиболее быстро вымывается оранжевый краситель. Вариант методики с промывкой после окрашивания в ЕА называется ПАП-ДИФФ (PAP-DIFF) [16].

7. Окончательная дегидратация, просветление в ксилоле, или заменителе ксилола и заключение под покровное стекло. Закрывающая среда служит постоянным связующим звеном между предметным и покровным стеклами. Она должна быть совместима с просветляющим веществом (ксилолом или заменителем ксилола). Рекомендуется использование закрывающей среды с низкой вязкостью во избежание захвата пузырьков воздуха. Следует удалять излишки закрывающей среды с предметного и покровного стекол и выпускать пузырьки воздуха. Для исключения перекрестного загрязнения не допускайте контакта дозатора закрывающей среды с образцом. Поддерживайте клетки влажными и не допускайте их высыхания для предотвращения развития коричневых, похожих на кукурузные хлопья артефактов.

20.3 Результат окраски

Хроматин - тёмно-синего цвета с хорошо выявляемой структурой, кариоплазма может быть окрашена цитоплазматическими красителями.

Цитоплазма зрелых клеток плоского эпителия – розового цвета.

Цитоплазма кератинизированных клеток – оранжевого цвета.

Цитоплазма остальных клеток – светло-зелёного цвета.

Слишком интенсивная окраска может мешать выявлению деталей структуры ядер и цитоплазмы.

20.4 Обеспечение качества окраски

Окраска по Папаниколау включает большое количество шагов – один из первоначальных вариантов насчитывает 24 операции различной длительности в разных ваннах [10]. Современные варианты окраски, как правило выполняются с меньшим количеством шагов, но, тем не менее, методику сложно реализовать вручную. Постоянное высокое качество окраски препаратов по Папаниколау может быть обеспечено только при автоматизированной окраске.

Наиболее распространённые российские автоматы окраски производит ГК ЭМКО (ООО ЭМКО, Москва, ООО МЛТ, ОЭЗ Дубна). В Приложении X приведены рекомендуемые протоколы окраски для различных моделей автоматов.

Для обеспечения качества окраски:

Поддерживайте рабочее место для окраски в чистоте, избегайте беспорядка. Предусмотрите достаточно места для оборудования для окраски.

Используйте только чистые штативы и ванны для растворов. Промывайте ванны для красок как минимум раз в неделю.

Своевременно меняйте реагенты для окраски.

При длительных перерывах в работе реагенты должны сливаться из ванн в флаконы с надёжной крышкой.

Выполняйте ежедневный контроль качества окраски. Проверка качества окрашенного материала выполняется путем сравнения с хорошо окрашенным контрольным образцом. В качестве контрольных образцов рекомендуется использовать препараты с буккальными клетками и кератинизированными клетками с твёрдого нёба. КМ для контрольных препаратов отбирается на одну ЭЦЩ сначала с поверхности твердого нёба, затем – с внутренней поверхности щеки. Перед получением КМ следует прополоскать рот обычной водопроводной водой. После нанесения КМ на предметное стекло препарат должен быть немедленно зафиксирован. Из КМ, взятого на одну щётку может быть приготовлено несколько контрольных препаратов. Процедура получения контрольных препаратов на всех этапах должна выполняться единообразно.

Из-за угрозы перекрестного загрязнения окрашивайте гинекологические и не гинекологические препараты отдельно. Для уменьшения риска ложноположительных результатов из-за перекрёстной контаминации рекомендуется ежедневная фильтрация реагентов [6].

21 Хранение образцов

Закрывающая среда должна полностью высохнуть, перед тем как предметное стекло будет отправлено на хранение. Высыхание среды может быть достигнуто либо при комнатной температуре, либо путем помещения препарата в инкубатор с температурой 37 °C на ночь.

Храните стекла в соответствии с применимыми нормами. Храните стекла в безопасном месте таким образом, чтобы можно было легко найти и достать нужный препарат. Температура хранения должна быть стабильной, необходимо избегать перегрева, чтобы образцы не склеились между собой.

Все принятые лабораторией препараты после проведения исследования должны отправляться на архивное хранение. Рекомендуемый минимальный срок

хранения препаратов с подозрением на патологию – 10 лет, без подозрения патологии – 5 лет [3]. Архивное хранение должно обеспечивать сохранность препаратов, должен быть ограничен доступ как к самим препаратам, так и к информации о них.

22 Результаты исследования

Результаты должны быть ясными, исчерпывающими и легко поддающимися интерпретации компетентным медицинским работником. Предпочтительна унифицированная терминология - последней редакции классификации Бетесда. Информация, которая должна содержаться в результатах исследования:

- имя пациентки/уникальный идентификатор;
- дата рождения или возраст;
- дата забора образца;
- источник биологического материала (шейка матки, эндоцервикс, влагалище);
- тип полученного образца(ов);
- соответствующая клиническая история; и
- дата результатов.

Дополнительные пункты, рекомендованные системой Бетесда:

- адекватность образца;
- общая классификация (опционально);
- интерпретация/результат;
- дополнительные исследования;
- автоматизированное исследование; и
- примечания и предложения.

В результатах исследования должна предусматриваться оценка качества препарата (удовлетворительный, условно удовлетворительный, неудовлетворительный). Целесообразно указывать причину оценки (недостаточное количество клеток, загрязнение кровью и пр.

23 Обратная связь по оценке качества препаратов

Для обеспечения обратной связи между цитологической лабораторией и пунктами осмотра, обеспечения высокого качества препаратов, должно быть предусмотрено регулярное информирование персонала пунктов осмотра о качестве и недостатках приготовленных препаратов [1,5,14]. Сообщения о качестве препаратов должны носить персонифицированный характер, сведения о качестве препаратов должны доводиться до каждого сотрудника, занятого в получении препаратов и до

руководства. Обратная связь может осуществляться цитологической лабораторией, или органом, руководящим скринингом в регионе. Европейский и Канадский опыт показывает, что таким образом можно существенно повысить качество получаемых препаратов.

24 Обучение персонала

Опыт и ответственность персонала, осуществляющего получение КМ, имеет решающее значение для получения качественных препаратов. По некоторым данным влияние человеческого фактора, важнее, чем выбор оборудования [1]. Обучение правильному выполнению Пап-теста должно стать обязательным элементом обучения в медицинских учебных заведениях и в системе последипломного обучения.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ.

- 1 Albertyn, G. et al.** 2001 CERVICAL CANCER SCREENING IN THE FLEMISH COMMUNITY A TECHNICAL GUIDELINE: COLLECTION OF ADEQUATE PAP SMEARS OF THE UTERINE CERVIX Translation of the final report of the Working Group "Sampling" https://www.wiv-isp.be/epidemiology/epinl/cervixnl/s_eng1.pdf (Ссылка проверена 28.03.2019)
- 2 Ayre J.E.** CERVICAL SCRAPER United States Patent № 2,471,088 May 24, 1949 <https://patents.google.com/patent/US2471088> (Ссылка проверена 28.03.2019)
- 3 CERVICAL CYTOLOGY PRACTICE GUIDELINES** Hong Kong Society of Cytology 2002 <http://www.cytology.org.hk/index/education/cervical-cytology-practice-guidelines> (Ссылка проверена 19.03.2019)
- 4 Comprehensive cervical cancer control A guide to essential practice - Second edition**
Authors: WHO 2014 ISBN: 978 92 4 154895 3
<https://www.who.int/reproductivehealth/publications/cancers/cervical-cancer-guide/en/>
https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/144785/9789241548953_eng.pdf?sequence=1 (Ссылка проверена 19.03.2019)
- 5 European guidelines for quality assurance in cervical cancer screening Second Edition** http://screening.iarc.fr/doc/ND7007117ENC_002.pdf (Ссылка проверена 19.03.2019)
- 6 GP15-A3 Vol. 28 No. 28 Cervicovaginal Cytology Based on the Papanicolaou Technique; Approved Guideline—Third Edition (Clinical and Laboratory Standards Institute)** https://clsi.org/media/1383/gp15a3_sample.pdf (Ссылка проверена 19.03.2019)
- 7 Kist J, DEVICE FOR OBTAINING A SMEAR SAMPLE FROM A BODY CAVITY** United States Patent № 4,700,713 Oct. 20, 1987 <https://patents.google.com/patent/US4700713A/en?q=4%2c700%2c713> (Ссылка проверена 28.03.2019)
- 8 Nayar R., Wilbur D.C.** Editors The Bethesda System for Reporting Cervical Cytology Definitions, Criteria, and Explanatory Notes Third Edition 2015 © Springer International Publishing Switzerland 2015
- 9 Papanicolaou GN.** A new procedure for staining vaginal smears. Science. 1942;95:438–9.
- 10 Papanicolaou G.** ATLAS OF Exfoliative Cytology, Commonwealth Fund by Harvard University Press, Cambridge, Mass.1963. <https://www.papanicolaou.ru/atlas-eksfoliativnoy-citologii> (Ссылка проверена 19.03.2019)
- 11 Papanicolaou, George N. and Traut, Herbert F.** Diagnosis of Uterine Cancer by the Vaginal Smear The Commonwealth Fund, New York, N. Y., May, 1943 <https://www.papanicolaou.ru/diagnostika-raka-matki-po-vaginalnomu-mazku> (Ссылка проверена 19.03.2019)
- 12 Pearce H.J** CELL SAMPLING SPATULA United States Patent № 6,723,057 B1 Apr. 20, 2004 <https://patents.google.com/patent/US6723057B1/en?q=6%2c723%2c057> (Ссылка проверена 28.03.2019)
- 13 PROGRAMMATIC GUIDELINES FOR SCREENING FOR CANCER OF THE CERVIX IN CANADA** <https://www.canada.ca/content/dam/phac-aspc/migration/phac-aspc/cd-mc/pdf/screening.pdf> (Ссылка проверена 19.03.2019)

- 14** SCREENING FOR CANCER OF THE CERVIX An Office Manual for Health Professionals (BC Cancer Agency) <https://docplayer.net/21701182-Screening-for-cancer-of-the-cervix.html> (Ссылка проверена 19.03.2019)
- 15** Stormby N. ENDOCERVICAL SAMPLING BRUSH AND SMEAR METHOD United States Patent № 4,759,376 Jul. 26, 1988 <https://patents.google.com/patent/US4759376A/en?q=4%2c759%2c376> (Ссылка проверена 28.03.2019)
- 16** Безруков А.В., Кузнецов М.В. Протоколы окраски PAP-DIFF. https://www.papanicolaou.ru/methodics/protokoly-okraski-po-papanikolau-iii#blog_body (Ссылка проверена 19.03.2019)
- 17** Гилл Г. У. Клиническая цитология Теория и практика цитотехнологии, перевод с английского под ред. Безрукова А.В., Касоян К.Т. М., Практическая медицина, 2015.
- 18** Комплексная борьба с раком шейки матки Краткое практическое руководство, ВОЗ, 2010 г. <http://reprohealth.info/files/333.pdf> (Ссылка проверена 19.03.2019)

Консультирование [18] 73-76 (ПРИЛОЖЕНИЕ А)

Что такое консультирование?

Консультирование — это личное, конфиденциальное общение, цель которого — помочь женщине (или ее семье) принять информированные решения и затем претворять их в жизнь. Это двусторонний обмен точной информацией по обсуждаемому вопросу. Чтобы эффективно консультировать, Вы должны владеть современными знаниями, уметь говорить и слушать. Какие базовые знания о раке шейки матки необходимы больной? Консультирующий должен уверен, что все женщины, особенно относящиеся к целевой группе программ борьбы с раком шейки матки, овладели следующими базовыми знаниями:

анатомия шейки матки, ее положение в малом тазу, изменения, которые шейка матки претерпевает в зависимости от возраста, а также имеет представление о методах оценки ее состояния;

что такое рак шейки матки, каковы его причины и факторы риска;

каковы методы профилактики рака шейки матки, важное значение скрининга и лечения предраковых заболеваний шейки матки;

методы скрининга и лечения изменений, выявленных при обследованиях в рамках скрининга, применяемых в данной местности;

методы лечения, доступные для больных раком шейки матки, выявленных при обследованиях в рамках скрининга.

Что должен гарантировать консультирующий?

- Конфиденциальность — никто, за исключением лиц, участие которых в консультации разрешено женщиной, не должен видеть и слышать то, что происходит во время консультации.
- Соблюдение врачебной тайны — никто не должен узнать ничего из увиденного, услышанного или сделанного во время консультации и обследования, пока женщина не разрешит разгласить врачебную тайну.
- Взаимное доверие между медицинским работником и женщиной.
- Деликатность при обращении к личным вопросам, особенно касающимся половой жизни и поведения, и их обсуждении.

Рекомендации касательно консультирования по проблемам рака шейки матки

1. Тепло приветствуйте женщину, обратившись к ней по имени, представьтесь.
2. Сядьте достаточно близко друг к другу, чтобы разговаривать спокойно и конфиденциально.

3. Смотрите женщине в глаза, смотрите на нее, когда она говорит.
4. Заверьте женщину, что никто не узнает содержание вашей беседы.
5. Говорите понятным языком и предоставляйте информацию по обсуждаемому вопросу.
6. Адаптируйте предоставляемую информацию и беседу к причине обращения женщины за медицинской помощью.
7. Внимательно слушайте, следите за позой, жестами, выражением лица и глаз женщины.
8. Постарайтесь понять ее чувства и точку зрения.
9. Чтобы пригласить женщину к дискуссии, а не слышать в ответ только «да» или «нет», задавайте вопросы открытого типа.
10. Ободрите собеседницу. Кивните или скажите: «Расскажите мне об этом».
11. Постарайтесь понять, что ее по-настоящему беспокоит.
12. Расскажите обо всех возможных методах обследования или лечения и уважайте ее выбор.
13. Всегда уточняйте, что Ваша собеседница поняла то, о чем Вы с ней говорили. Для этого попросите ее повторить наиболее важную информацию или инструкции.
14. Скажите, что, если она хочет, она может прийти вновь, когда пожелает.

Хорошо

- Обеспечить конфиденциальность.
- Приветствовать женщину, обратившись к ней по имени, представиться.
- Смотреть собеседнице в лицо, если это не противоречит местным обычаям.
- Вести себя просто и понятно.
- Сопереживать: поставить себя на место женщины.
- Выражать одобрение позой и жестами: кивать, улыбаться и т. д. (если это уместно).
- Говорить простым языком, понятным собеседнице.
- Честно отвечать на вопросы.
- Отвести на консультацию достаточно времени.
- Если у женщины остались сомнения, пригласить ее прийти позже, чтобы рассказать о ее решении или, возможно, решении ее семьи.

Плохо

- Отвлекаться (смотреть на часы, отвечать по телефону).
- Говорить строгим тоном, раздражаться.

- Позволять прерывать консультацию.
- Перебивать женщину.
- Критиковать, осуждать, оскорблять.
- Забрасывать женщину деталями или информацией, не имеющей отношения к делу.
- Использовать медицинские термины, которые женщина не понимает.
- Навязывать решение. Если у женщины остались сомнения, следует пригласить ее прийти позже, чтобы рассказать о ее решении или, возможно, решении ее семьи.

СТАНДАРТНЫЕ ЭТАПЫ КОНСУЛЬТИРОВАНИЯ ПО ПОВОДУ ИССЛЕДОВАНИЯ, ПРОЦЕДУРЫ ИЛИ ЛЕЧЕНИЯ

До процедуры

- Повторно объясните, почему для женщины важно обследоваться в рамках скрининга или пройти рекомендованное вмешательство или лечение.
- Объясните суть исследования или вмешательства:
что вы будете делать, что могут означать полученные результаты, нужны ли будут обследование или лечение в дальнейшем.
- Попросите задать вопросы и ответьте на них, получите информированное согласие, в том числе разрешение при необходимости связаться с женщиной дома или на работе.

Во время процедуры

На каждом этапе исследования или вмешательства рассказывайте о том, что вы делаете. Если то, что вы собираетесь сделать, может вызвать боль или дискомфорт, заранее предупредите женщину. Это поможет ей чувствовать себя спокойнее.

После процедуры

- Расскажите о том, что вы сделали.
- Опишите все замеченные изменения и заверьте женщину, что вы не увидели ничего необычного.
- Согласуйте дату следующей консультации.
- Объясните важность повторного посещения клиники в назначенное время.

Если вы выявили патологию, по поводу которой хотите направить женщину на обследование в медицинское учреждение более высокого уровня системы здравоохранения:

- объясните причины направления, куда и когда она должна пойти, к кому обратиться;
- подчеркните важность этой консультации;
- ответьте на все вопросы женщины, если вы сами не знаете ответа, найдите того, кто сможет ответить;
- пригласите женщину прийти позже, если у нее остались вопросы или сомнения по поводу консультации, ответьте на эти вопросы или найдите ответы у тех, кто их знает.

ЧТО ТАКОЕ ИНФОРМИРОВАННОЕ СОГЛАСИЕ?

Перед обследованием в рамках скрининга рака шейки матки женщина должна дать информированное согласие. Это означает, что она должна понимать, что будет происходить во время обследования, в том числе риск и осложнения, связанные как с его проведением, так и с непроведением, и дать разрешение на его проведение. Женщина должна осознавать, что если она откажется от обследования, за этим не последует никаких карательных мер.

При получении информированного согласия необходимо сделать следующее.

Предоставьте женщине всю необходимую информацию

- о том, что Вы собираетесь делать и попросите ее согласие до начала любого исследования или вмешательства. Неэтично просить дать информированное согласие задним числом.
- Если потребуется связаться с женщиной дома или на работе (например, чтобы передать результаты обследования или напомнить ей о повторной консультации), получите на это ее согласие.
- Члены семьи могут участвовать в беседе только в том случае, если женщина дает однозначное разрешение на это.
- Сводите использование медицинских терминов к минимуму. Объясните все термины, не имеющие общеупотребительных синонимов.
- Полезно проиллюстрировать объяснения собственными или готовыми рисунками.
- Говорите понятно и недвусмысленно, не используйте непонятных и неясных слов, например «рост» или «новообразование».
- Не запутывайте женщину, говоря слишком много, но обязательно затроньте все важные вопросы.
- Отведите некоторое время на то, чтобы женщина поняла Ваши слова. Затем позвольте ей задать вопросы. После того как обсуждены все вопросы, попросите женщину дать официальное согласие.
- Для соблюдения нравов, обычаев и культур некоторых народностей и сообществ необходимо привлекать к принятию решения других лиц, например партнера женщины. Однако в первую очередь Вы должны уважать желания самой женщины.

ОБЪЯСНЕНИЕ ИССЛЕДОВАНИЙ И ВМЕШАТЕЛЬСТВ

Объяснения отдельных исследований и вмешательств Вы найдете в главах этого руководства и практических рекомендациях. Вы можете индивидуально адаптировать их, чтобы понятным языком объяснить процедуру женщине и членам ее семьи.

ЭТАПЫ ПОЛУЧЕНИЯ ИНФОРМИРОВАННОГО СОГЛАСИЯ

Подготовка к получению информированного согласия

1. Обеспечьте конфиденциальность и объясните, что в медицинском учреждении, где Вы работаете, всегда соблюдается врачебная тайна.
2. Следуйте правилам Вашего медицинского учреждения по получению информированного согласия.
3. Следуйте общим правилам консультирования и общения врача и больной. Тщательно слушайте и затрагивайте вопросы, которые беспокоят женщину. Дайте ей время, чтобы понять сказанное и принять решение.
4. Спросите женщину, желает ли она, чтобы присутствовали члены семьи, или хочет обсудить с ними решение дома. Не заставляйте ее принять решение, прежде чем она будет готова.

Процесс получения информированного согласия

5. Предоставьте всю необходимую информацию об исследовании или вмешательстве, которое Вы рекомендуете, а также о любых имеющихся альтернативах.

. Предоставьте информацию о следующем:

- цель исследования или вмешательства;
- возможная польза;
- риск проведения и непроведения предлагаемого исследования или вмешательства;
- необходимость анестезии и госпитализации;
- возможные осложнения и действия при возникновении любого из них;
- сроки выздоровления;
- стоимость;
- вероятность успешного и неудачного исхода.

Консультирование

6. Попросите женщину задать вопросы и ответьте на них.
7. Проверьте, что поняла женщина. Для этого Вы можете попросить ее повторить наиболее важное или трудное для понимания. Можно также повторить наиболее важное другими словами, например: «Вы поняли, что Вы не должны вступать в

половые сношения в течение 4 недель после процедуры? Как, по Вашему мнению, к этому отнесется Ваш муж?»

8. Исправьте то, что женщина поняла неправильно.

9. Сделайте запись в форме информированного согласия, амбулаторной карте или истории болезни (в зависимости от требований медицинского учреждения, где Вы работаете) о том, что:

- Вы подтверждаете то, что женщина поняла информацию;
- ее решение пройти обследование или лечение (или отказаться от них) было добровольным

Сбор анамнеза и проведение гинекологического исследования [18]118-122 (ПРИЛОЖЕНИЕ В)

Обследование в рамках скрининга рака шейки матки включает сбор анамнеза, оценку факторов риска и выявление симптомов, которые могут быть обусловлены раком шейки матки. Большинство методов скрининга включают осмотр шейки матки в зеркалах. Необходимы следующие материалы и оборудование:

- амбулаторная карта или история болезни и ручка;
- изображение женских половых органов (по возможности);
- мыло и вода для мытья рук;
- источник света для осмотра шейки матки;
- гинекологическое кресло, накрытое чистой бумажной или полотняной простыней;
- одноразовые или дезинфицированные (дезинфекция высокого уровня) многоразовые перчатки;
- дезинфицированные (дезинфекция высокого уровня) влагалищные зеркала разных размеров (могут быть нестерильными);
- небольшая емкость с теплой водой, чтобы смочить и согреть зеркало;
- 0,5% раствор хлорной извести для дезинфекции инструментов и перчаток.

СБОР АНАМНЕЗА

Спросите женщину о следующем:

- возраст, образование, число беременностей, родов и живых детей, дата последней менструации, особенности менструального цикла, методы контрацепции, используемые сейчас и в прошлом;
- предыдущие обследования в рамках скрининга рака шейки матки, их сроки и результаты;
- сопутствующие заболевания, принимаемые лекарственные средства, аллергические реакции в анамнезе;
- социальное и семейное положение, факторы риска рака шейки матки;
- половой анамнез, в том числе возраст начала половой жизни и первой беременности, число половых партнеров, ЗППП в анамнезе, поведение, которое может повышать риск рака шейки матки;
- любые симптомы рака шейки матки или других заболеваний.

ПРОВЕДЕНИЕ ГИНЕКОЛОГИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ

После сбора анамнеза проводят гинекологическое исследование. Оно состоит из трех частей:

- исследование наружных половых органов;
- осмотр шейки матки в зеркалах;
- бимануальное исследование.

Перед исследованием

1. Приготовьте все необходимые материалы и оборудование. Убедитесь, что влагалищное зеркало комфортной температуры.
2. Если планируется исследование или вмешательство (например, получение мазков с шейки матки для цитологического исследования), скажите женщине, в чем оно заключается, какова его цель и когда Вы ожидаете получить результаты.
3. Спросите женщину, нет ли у нее вопросов, и если они есть, честно ответьте на них.
4. Объясните, в чем состоит гинекологическое исследование, покажите женщине влагалищное зеркало.
5. Попросите женщину опорожнить мочевой пузырь (помочиться) и раздеться ниже пояса. Будьте особенно внимательны к чувствам женщины, когда ей приходится обнажать части тела, обычно закрытые одеждой, и если исследование будет болезненным.
6. Уложите женщину на гинекологическое кресло.

Исследование наружных половых органов

7. Осторожно коснитесь бедра женщины рукой, одетой в перчатку. Осмотрите наружные половые органы, складки вульвы и окружающую кожу. Обращайте внимание на гиперемию, объемные образования, отечность, необычные выделения, раны, язвы, эрозии и рубцы. Все это может указывать на ЗППП.

Осмотр шейки матки в зеркалах

8. Введите сомкнутые створки зеркала во влагалище, держа ручку зеркала в сторону. Избегайте надавливания на мочеиспускательный канал и клитор, поскольку эти области очень чувствительны. Когда зеркало будет введено во влагалище наполовину, поверните его так, чтобы ручка переместилась вниз. Осторожно откройте створки зеркала, чтобы увидеть шейку матки. Аккуратно смещая зеркало, осмотрите ее полностью. Закрепите створки в открытом положении, и зеркало не будет двигаться.

9. Осмотрите шейку матки. Она должна быть круглой, розовой и гладкой. Небольшие желтоватые кисты, незначительная гиперемия вокруг наружного маточного зева и прозрачные слизистые выделения являются нормой.

10. Обращайте внимание на любые патологические изменения:

а) выделения из влагалища и гиперемия слизистой влагалища — частые симптомы вагинита; если выделения белые и творожистые, у женщины, возможно, грибковая инфекция (молочница);

б) язвы, эрозии, пузыри; язвы на половых органах возможны при сифилисе, мягком шанкре, герпесе половых органов и иногда при злокачественных опухолях, эрозии и пузыри — при герпесе половых органов;

в) легкая кровоточивость при дотрагивании до шейки матки тампоном или слизистогнойные выделения указывают на цервицит;

г) объемное образование, или опухоль, может свидетельствовать о раке шейки матки.

11. Слегка потяните зеркало на себя до тех пор, пока створки не будут касаться шейки матки, закройте створки и извлеките зеркало.

...

После исследования

17. Положите использованные инструменты и перчатки в дезинфицирующий раствор.

18. Вымойте руки водой с мылом.

19. Запишите все полученные данные в амбулаторную карту или историю болезни.

20. Сообщите женщине результаты исследования (норма, патология) и объясните, что могут означать выявленные изменения.

21. Если Вы обнаружили любые проявления, которые могут быть вызваны ЗППП, сразу назначьте женщине и ее партнеру лечение в соответствии с национальными рекомендациями или рекомендациями ВОЗ10. Дайте женщине презервативы и объясните, как их использовать. Если Вы выявили острый цервицит или ВЗМП, назначьте лечение в соответствии с рекомендациями в Приложении 8.

22. Если Вы обнаружили патологию, требующую неотложного лечения или патологию, которую невозможно лечить в Вашем медицинском учреждении (например, внематочную беременность, выпадение половых органов, опухоль шейки матки), направьте женщину в медицинское учреждение более высокого уровня системы здравоохранения.

23. При необходимости назначьте дату повторного посещения

Вариант бланка направления на обследование (ПРИЛОЖЕНИЕ Г)

	PATIENT INFORMATION - Please print.
	Patient name: _____ (Last) (First) (MI)
	Patient ID#: _____
	Date of birth: _____ Sex: _____
	Room #: _____ Laboratory reference: _____
	Health care provider name: _____
	Health care provider telephone #: _____
PATIENT HISTORY	
Age: _____ Previous Pap Date: _____ Last menstrual period: _____ () Normal () Abnormal	
Check if patient is at increased risk for cervical cancer. ()	
CLINICAL INFORMATION - Check all that apply.	
() Pregnant () Oral contraceptives () Cauterization () Abnormal bleeding () Postpartum () DES () Cryosurgery () Carcinoma () Postabortion () IUD () Laser surgery () Chemotherapy () Exogenous hormone therapy () Hysterectomy () Radiotherapy () Perimenopausal () Loop electro-surgical excision procedure (LEEP) () HPV () Postmenopausal	
() Other _____	
() Appearance of the cervix:	
() Normal () Abnormal	
Additional clinical information (ie, pertinent clinical history, physical findings, gynecological surgery, and colposcopic findings): _____ _____ _____	
Source of Specimen – Check all that apply.	
() Cervix () Vagina/cervix/endocervix () Endocervix () Lateral vaginal wall sample for hormonal evaluation () Vagina () Other () Vulva	
Collection date: _____ # Slides: _____ or Liquid-based _____	

Бланк направления, рекомендованный [6]

ЛПУ																	
Адрес																	
Направление на обследование (тест по Папаниколау)																	
Для размещения кодированных данных				Идентификационные сведения о пациенте													
				Ф.И.О.													
				Дата рождения				д	д	м	м	г	г	г	г	Пол: М ☐ Ж ☐	
				№ (СНИЛС):													
				Страховая компания													
				№ полиса ОМС													
				Телефон:				E-mail:									
				Сведения о месте проведения обследования													
				Адрес				Комната:									
				Сведения о медицинском работнике													
				Ф.И.О.													
				Телефон:				E-mail:									
История обследований																	
Возраст: 00		Дата предыдущего теста				Норм. ☐		Аном. ☐									
Последний менструальный период						Риск РШМ повышен ☐											
Клиническая информация – отметьте, что соответствует																	
☐	Беременность	☐	Орал. контрацепт.	☐	Каутеризация	☐	Кровотечения										
☐	После родов	☐	DES	☐	Криохирurgia	☐	Карцинома										
☐	После аборта	☐	BMC	☐	Лазер хирургия	☐	Химиотерапия										
☐		☐	Экзо горм. терап.	☐	Гистерэктомия	☐	Радиотерапия										
☐	Перименопауза			☐	Петлевая эксц.	☐	ВИЧ										
☐	Постменопауза																
☐	Другое																
☐	Внешний вид ШМ																
☐	Нормальный	☐	Аномальный														
Дополнительная клиническая информация																	
Место происхождения клеточного материала – отметьте, что соответствует																	
☐	Цервикс	☐	Влагалище/цервикс/эндоцервикс														
☐	Эндоцервикс	☐	Образец боковой стенки влагалища для гормональной оценки														
☐	Влагалище	☐	Другое														
☐	Вульва	☐															
Дата обследования Количество препаратов: Количество виал:																	

Протоколы окраски для автоматов АФОМК (ПРИЛОЖЕНИЕ Д)

Автоматизированная окраска позволяет реализовать трудно выполнимые вручную методики и получить качественные однотипно окрашенные препараты. Для автоматизированной окраски по Папаниколау наиболее подходит прогрессивный вариант окрашивания, при котором не происходит переокрашивания гематоксилином ядер и цитоплазмы клеток, не требуется дифференцировать препараты в растворе кислоты и осуществлять визуальный контроль в процессе проведения методики.

Окраску по Папаниколау можно реализовать на следующих автоматах:

Автоматы окраски первого поколения: АФОМК-13-ПАП.

Автоматы окраски второго поколения:

- АФОМК-16-ПРО (АФОМК 16-12)
- АФОМК-16-25
- АФОМК-12-25 (проходит технические испытания, заменит АФОМК-13-ПАП).

У модифицированной методики окраски на автоматах АФОМК есть ряд особенностей:

1. Удаление плёнки полиэтиленгликоля с фиксированных срезов препаратов и гидратация перед окрашиванием в гематоксилине проводится в водопроводной воде. Попадание водопроводной воды в гематоксин изменяет его pH и ухудшает его качество. Использование дополнительной промывки в 0,5% растворе уксусной кислоты (или дистиллированной воды) перед окраской в гематоксилине позволит сохранить его красящие свойства.

2. Отсинивание проводится в водопроводной воде [11], специальные растворы для этого требуются только в редких случаях².

3. Для уменьшения переноса реагентов между ваннами и соответствующего увеличения срока службы реагентов в протоколах используется промокание нижней части штатива и торцов стекол с помощью салфетки или фильтровальной бумаги.

- В АФОМК-13-ПАП сложенная фильтровальная бумага кладется на дно пустой ванны (реагент САЛФЕТКА) и параметры обработки вводятся вручную;

² Водопроводная вода обычно подходит для целей промывки и отсинивания при окраске по Папаниколау. Нет необходимости использовать дистиллированную воду. К тому же, дистиллированная вода кислая, потребуется поднять ее pH.

Для достижения наилучших результатов окраски проточная вода должна быть немного щелочной. Кислая проточная вода вызовет потускнение ядра. Проверьте pH проточной воды при помощи лакмусовой бумажки.

Избыточный уровень хлора в проточной воде выбелит гематоксин. В этом случае может потребоваться использование деионизированной воды.

- В АФОМК-16-ПРО и АФОМК-16-25 сложенная фильтровальная бумага кладется на дно пустой ванны, параметры обработки устанавливаются автоматически при выборе реагента ТАМПОН;
- В АФОМК-12-25 сложенная фильтровальная бумага устанавливается в специальный держатель, параметры обработки устанавливаются автоматически при выборе реагента ТАМПОН.

4. Краткая промывка в воде (дифференцирование) после окрашивания в ЕА позволяет удалить излишки красителей и получить прозрачный препарат с однородным окрашиванием и чистым фоном, а также снизить расход спиртов.

5. Замену спиртовых растворов для промывки необходимо производить до того, как они будут содержать слишком много красителей и воды. Растворы следует ротировать после появления окраски жидкости в ванне, предшествующей просветлителю. Рекомендуется замена спиртов по схеме:

АФОМК-13-ПАП: ИЗОПРОПАНОЛ-3 – замена на свежий; ИЗОПРОПАНОЛ-3 – вместо ИЗОПРОПАНОЛ-2; ИЗОПРОПАНОЛ-2 – вместо ИЗОПРОПАНОЛ-1.

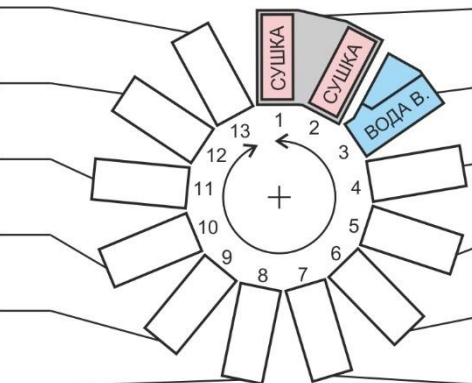
АФОМК-12-25: СПИРТ-100% – замена на свежий; СПИРТ-100%-вместо СПИРТ-3; СПИРТ-3 – вместо СПИРТ-2; СПИРТ-2 – вместо СПИРТ-1.

АФОМК-16-12 и АФОМК-16-25: СПИРТ-100% – замена на свежий; СПИРТ-100% – вместо СПИРТ 4; СПИРТ-4 – вместо СПИРТ-3; СПИРТ-3 – вместо СПИРТ-2; СПИРТ-2 – вместо СПИРТ-1.

6. На автоматах второго поколения после окончания обработки на станции КСИЛОЛ-К штатив остается в ванне с просветлителем до тех пор, пока пользователь не нажмет на кнопку выгрузки готового штатива. Это позволяет сохранять препараты влажными до заключения в бальзам и предотвращает появление артефактов, связанных с высыханием.

Ниже приведены рекомендуемые протоколы окрашивания на автоматах АФОМК. Времена в протоколах даны для набора реагентов для окраски гинекологических мазков по Папаниколау «МЛТ-ПАП-ДИФФ». Для реагентов других производителей и других препаратов необходимо подобрать оптимальные режимы окрашивания.

АФОМК-13-ПАП	МЕТОДИКА: EMCO-PAP-DIF	ДАТА:
--------------	------------------------	-------

№	СРЕДА	КОНФИГУРАЦИЯ	№	СРЕДА
13	ПАРКОВКА		1,2	СУШКА
12	ПРОСВЕТИТЕЛЬ		3	ВОДА ВОДОПР.
11	ИЗОПРОПАНОЛ-3		4	УКСУСНАЯ К-ТА 0,5%
10	ИЗОПРОПАНОЛ-2		5	ГЕМАТОКСИЛИН
9	ЕА-50		6	САЛФЕТКА
8	ОГ-6		7	ИЗОПРОПАНОЛ-1

№	СРЕДА	ВРЕМЯ ММ:СС	РЕЖИМ (В, ОК, А)	АКТИВАЦИЯ СС	ЗАДЕРЖКА (1 ед. ~ 2 с)	РЕСУРС 000
1	ВОДА ВОДОПР.	0030	А	15	5	
2	УКСУСНАЯ К-ТА 0,5%	0005	В	-	5	
3	ГЕМАТОКСИЛИН	0300	В	-	5	
4	ВОДА ВОДОПР.	0200	А	15	5	
5	САЛФЕТКА	0000	В	-	0	
6	ОГ-6	0015	В	-	5	
7	САЛФЕТКА	0000	В	-	0	
8	ИЗОПРОПАНОЛ-1	0010	В	-	5	
9	САЛФЕТКА	0000	В	-	0	
10	ЕА50	0300	В	-	5	
12	ВОДА ВОДОПР.	0002	А	15	5	
12	САЛФЕТКА	0000	В	-	0	
13	ИЗОПРОПАНОЛ-1	0010	В	-	5	
14	САЛФЕТКА	0000	В	-	0	
15	ИЗОПРОПАНОЛ-2	0015	В	-	5	
16	ИЗОПРОПАНОЛ-3	0015	В	-	5	
17	ПРОСВЕТИТЕЛЬ	0015	В	-	5	

Суммарная длительность операций ММ:СС ~ 10:00
Длительность выполнения методики ММ:СС ~ 13:35
Производительность: ~ 100 ст./час

АФОМК-12-25	МЕТОДИКА: ПАП ДИФ	ДАТА:
-------------	-------------------	-------

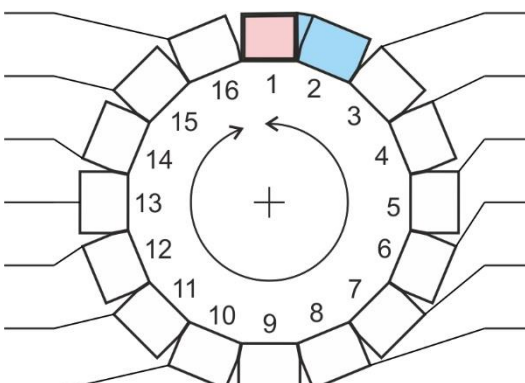
Методика рассчитана на загрузку и обработку 1 штатива.

N	СРЕДА	КОНФИГУРАЦИЯ	N	СРЕДА
12	ПАРКОВКА		1	СУШКА
11	КСИЛОЛ-К		2	ВОДА ВОДОПР.
10	СПИРТ-100%		3	УКСУСНАЯ К-ТА 0,5%
9	СПИРТ-3		4	ГЕМАТОКСИЛИН
8	СПИРТ-2		5	ПАП-2 (ОГ)
7	ПАП-3 (ЕА)		6	СПИРТ-1

№	СРЕДА	РЕЖИМ (В, ОК)	АКТИВАЦИЯ СС	ВРЕМЯ ММ:СС	ЗАДЕРЖКА СС	РЕСУРС 000
1	ВОДА ВОДОПР.	В	15	0030	10	
2	УКСУСН. К-ТА	В	0	0005	10	
3	ГЕМАТОКСИЛИН	В	0	0300	10	
4	ВОДА ВОДОПР.	В	15	0200	10	
5	ТАМПОН	В	0	0000	0	
6	ПАП-2 (ОГ)	В	0	0015	10	
7	ТАМПОН	В	0	0000	0	
8	СПИРТ-1	В	0	0010	10	
9	ТАМПОН	В	0	0000	0	
10	ПАП-3 (ЕА)	В	0	0300	10	
11	ВОДА ВОДОПР.	В	0	0002	10	
12	ТАМПОН	В	0	0000	0	
13	СПИРТ-2	В	0	0010	10	
14	СПИРТ-3	В	0	0010	10	
15	СПИРТ-100%	В	0	0010	10	
16	КСИЛОЛ-К *	В	0	0010	10	

Суммарная длительность операций ММ:СС ~ 10:00
Длительность выполнения методики ММ:СС ~ 13:35
Производительность: ~ 100 ст./час

АФОМК-16-12	МЕТОДИКА: ПАП ДИФ	ДАТА:
-------------	-------------------	-------

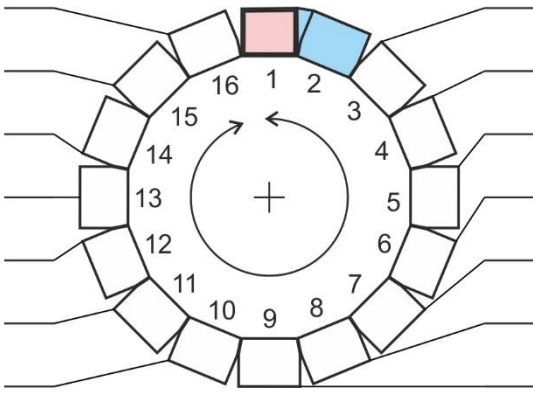
№	СРЕДА	КОНФИГУРАЦИЯ	№	СРЕДА
16	ПАРКОВКА		3	УКСУСН. К-ТА 0,5%
15	ПАРКОВКА		4	ГЕМАТОКСИЛИН
14	ПАРКОВКА		5	ТАМПОН
13	КСИЛОЛ-К		6	ПАП-2 (ОГ)
12	СПИРТ-100%		7	СПИРТ-1
11	СПИРТ-4		8	ПАП-3 (ЕА)
10	СПИРТ-3		9	СПИРТ-2

№	СРЕДА	РЕЖИМ (В, ОК)	АКТИВАЦИЯ СС	ВРЕМЯ ММ:СС	ЗАДЕРЖКА СС	РЕСУРС 000
1	ВОДА ВОДОПР.	В	15	0030	5	
2	УКСУСН. К-ТА	В	0	0005	5	
3	ГЕМАТОКСИЛИН	В	0	0300	5	
4	ВОДА В	В	15	0200	5	
5	ТАМПОН	В	0	0000	0	
6	ПАП-2 (ОГ)	В	0	0015	5	
7	ТАМПОН	В	0	0000	0	
8	СПИРТ-1	В	0	0010	5	
9	ПАП-3 (ЕА)	В	0	0300	5	
10	ВОДА ВОДОПР.	В	0	0002	5	
12	СПИРТ-2	В	0	0010	5	
12	СПИРТ-3	В	0	0010	5	
13	СПИРТ-4	В	0	0010	5	
14	СПИРТ-100%	В	0	0010	5	
15	КСИЛОЛ-К *	В	0	0010	5	

Суммарная длительность операций ММ:СС ~ 10:00
Длительность выполнения методики ММ:СС ~ 13:35
Производительность ~ 48 ст./час

АФОМК-16-12	МЕТОДИКА: ПАП ДИФ 2	ДАТА:
-------------	---------------------	-------

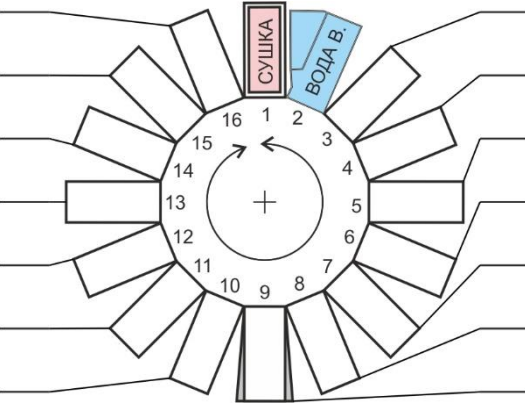
Методика рассчитана на загрузку и обработку 2 штативов

№	СРЕДА	КОНФИГУРАЦИЯ	№	СРЕДА
16	ПАРКОВКА		3	УКСУСН. К-ТА 0,5%
15	ПАРКОВКА		4	ГЕМАТОКСИЛИН
14	КСИЛОЛ-К		5	ТАМПОН
13	КСИЛОЛ-К		6	ПАП-2 (ОГ)
12	СПИРТ-100%		7	СПИРТ-1
11	СПИРТ-4		8	ПАП-3 (ЕА)
10	СПИРТ-3		9	СПИРТ-2

№	СРЕДА	РЕЖИМ (В, ОК)	АКТИВАЦИЯ СС	ВРЕМЯ ММ:СС	ЗАДЕРЖКА СС	РЕСУРС 000
1	ВОДА ВОДОПР.	В	15	0030	5	
2	УКСУСН. К-ТА	В	0	0005	5	
3	ГЕМАТОКСИЛИН	В	0	0300	5	
4	ВОДА ВОДОПР.	В	15	0200	5	
5	ТАМПОН	В	0	0000	0	
6	ПАП-2 (ОГ)	В	0	0015	5	
7	ТАМПОН	В	0	0000	0	
8	СПИРТ-1	В	0	0010	5	
9	ПАП-3 (ЕА)	В	0	0300	5	
10	ВОДА ВОДОПР.	В	0	0002	5	
12	СПИРТ-2	В	0	0010	5	
12	СПИРТ-3	В	0	0010	5	
13	СПИРТ-4	В	0	0010	5	
14	СПИРТ-100%	В	0	0010	5	
15	КСИЛОЛ-К *	В	0	0010	5	

Суммарная длительность операций ММ:СС ~ 10:00
Длительность выполнения методики ММ:СС ~ 13:35
Производительность ~ 48 ст./час

АФОМК-16-25	МЕТОДИКА: ПАП ДИФ	ДАТА:
-------------	-------------------	-------

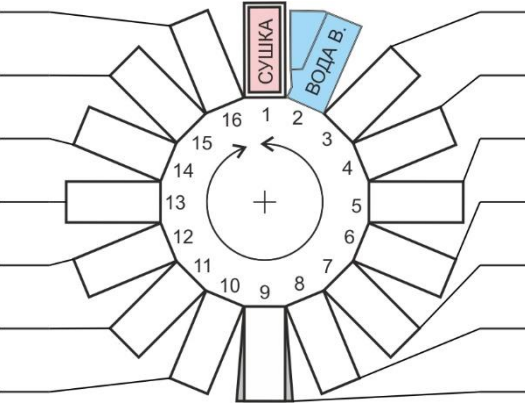
№	СРЕДА	КОНФИГУРАЦИЯ	№	СРЕДА
16	ПАРКОВКА		3	УКСУСН. К-ТА 0,5%
15	ПАРКОВКА		4	ГЕМАТОКСИЛИН
14	КСИЛОЛ-К		5	ТАМПОН
13	СПИРТ-100%		6	ПАП-2 (ОГ)
12	СПИРТ-4		7	СПИРТ-1
11	СПИРТ-3		8	ПАП-3 (ЕА)
10	СПИРТ-2		9	ПАРКОВКА

№	СРЕДА	РЕЖИМ (В, ОК)	АКТИВАЦИЯ СС	ВРЕМЯ ММ:СС	ЗАДЕРЖКА СС	РЕСУРС 000
1	ВОДА ВОДОПР.	В	15	0030	10	
2	УКСУСН. К-ТА	В	0	0005	10	
3	ГЕМАТОКСИЛИН	В	0	0300	10	
4	ВОДА ВОДОПР.	В	15	0200	10	
5	ТАМПОН	В	0	0000	10	
6	ПАП-2 (ОГ)	В	0	0015	10	
7	ТАМПОН	В	0	0000	10	
8	СПИРТ-1	В	0	0010	10	
9	ПАП-3 (ЕА)	В	0	0300	10	
10	ВОДА ВОДОПР.	В	0	0002	10	
12	СПИРТ-2	В	0	0010	10	
12	СПИРТ-3	В	0	0010	10	
13	СПИРТ-4	В	0	0010	10	
14	СПИРТ-100%	В	0	0010	10	
15	КСИЛОЛ-К *	В	0	0010	10	

Суммарная длительность операций ММ:СС ~ 10:00
Длительность выполнения методики ММ:СС ~ 13:35
Производительность: ~ 100 ст./час

АФОМК-16-25	МЕТОДИКА: ПАП ДИФ 2	ДАТА:
-------------	---------------------	-------

Методика рассчитана на загрузку и обработку 2 штативов

№	СРЕДА	КОНФИГУРАЦИЯ	№	СРЕДА
16	ПАРКОВКА		3	УКСУСН. К-ТА 0,5%
15	КСИЛОЛ-К		4	ГЕМАТОКСИЛИН
14	КСИЛОЛ-К		5	ТАМПОН
13	СПИРТ-100%		6	ПАП-2 (ОГ)
12	СПИРТ-4		7	СПИРТ-1
11	СПИРТ-3		8	ПАП-3 (ЕА)
10	СПИРТ-2		9	ПАРКОВКА

№	СРЕДА	РЕЖИМ (В, ОК)	АКТИВАЦИЯ СС	ВРЕМЯ ММ:СС	ЗАДЕРЖКА СС	РЕСУРС 000
1	ВОДА ВОДОПР.	В	15	0030	10	
2	УКСУСН. К-ТА	В	0	0005	10	
3	ГЕМАТОКСИЛИН	В	0	0300	10	
4	ВОДА ВОДОПР.	В	15	0200	10	
5	ТАМПОН	В	0	0000	10	
6	ПАП-2 (ОГ)	В	0	0015	10	
7	ТАМПОН	В	0	0000	10	
8	СПИРТ-1	В	0	0010	10	
9	ПАП-3 (ЕА)	В	0	0300	10	
10	ВОДА ВОДОПР.	В	0	0002	10	
12	СПИРТ-2	В	0	0010	10	
12	СПИРТ-3	В	0	0010	10	
13	СПИРТ-4	В	0	0010	10	
14	СПИРТ-100%	В	0	0010	10	
15	КСИЛОЛ-К *	В	0	0010	10	

Суммарная длительность операций ММ:СС ~ 10:00
Длительность выполнения методики ММ:СС ~ 13:35
Производительность: ~ 100 ст./час

Основные проблемы, возникающие при окрашивании, их возможные причины и способы решения (на основе рекомендаций [17]) (ПРИЛОЖЕНИЕ Е)

Проблема	Возможные причины	Способ устранения
Ядра бледные	Недостаточное время окрашивания	Увеличьте время окрашивания в гематоксилине
	Высокое содержание хлора в проточной воде	Используйте дистиллированную воду
	Пленка от фиксатора-спрея плохо смыта в воде	Увеличьте время промывки в воде перед гематоксилином
	Отсинивание в кислой проточной воде	Проверьте pH, используйте воду с pH 5,0–11,0
	Ресурс гематоксилина израсходован	Замените на свежий раствор
	Низкая температура рабочего раствора гематоксилина	Используйте рабочие растворы комнатной температуры, поддерживайте в лаборатории рабочую температуру 18 – 25°C
	Дегенеративные изменения клеток	Возьмите новый свежий образец
Ядра темные	Слишком длительное время окрашивания в гематоксилине	Уменьшите время окрашивания в гематоксилине
	Концентрированный гематоксиксин	Замените на другой тип
	Слишком длительное время окрашивания в ЕА	Уменьшите время окрашивания в ЕА
Цитоплазма синяя	Пленка от фиксатора-спрея плохо смыта в воде	Увеличьте время промывки в воде перед гематоксилином
	Слишком длительное время окрашивания в гематоксилине	Уменьшите время окрашивания в гематоксилине
	Концентрированный гематоксиксин (>4г./л.)	Замените гематоксиксин на другой тип (<4г./л.)
	Недостаточное время окрашивания в ЕА	Увеличьте время окрашивания в ЕА
	Особенности конкретной краски ЕА	Замените на другую
Отсутствует оранжевое окрашивание	Недостаточное время окрашивания в ОГ	Увеличьте время окрашивания в ОГ
	Ресурс ОГ израсходован	Замените на свежий раствор
	Слишком длительное время окрашивания в ЕА	Уменьшите время окрашивания в ЕА
	Длительное дифференцирование в воде после ЕА	Уменьшите время промывки в воде после ЕА
	Длительная промывка в спирте после ОГ	Уменьшите время промывки в спирте после ОГ
	Низкая температура рабочего раствора ОГ	Используйте рабочие растворы комнатной температуры, поддерживайте в лаборатории рабочую температуру 18 – 25°C
	Отсутствие ороговевающих клеток	Не требуется

Цитоплазма неороговевших клеток оранжевая	Слишком длительное время окрашивания в OG	Уменьшите время окрашивания в OG
	Недостаточное время окрашивания в EA	Увеличьте время окрашивания в EA
	Недостаточная промывка в спирте после OG	Увеличьте время промывки в спирте после OG
Цитоплазма окрашена бледно	Недостаточное время окрашивания в EA	Увеличьте время окрашивания в EA
	Ресурс EA израсходован	Замените на свежий раствор
	Длительное дифференцирование в воде после EA	Уменьшите время промывки в воде после EA
	Длительная промывка в спирте	Уменьшите время промывки в спиртах после EA
	Низкая температура рабочего раствора EA	Используйте рабочие растворы комнатной температуры, поддерживайте в лаборатории рабочую температуру 18 – 25°C
Цитоплазма большинства неороговевших клеток розовая	Недостаточное время окрашивания в EA	Увеличьте время окрашивания в EA
	Ресурс EA израсходован	Замените на свежий раствор
Цитоплазма большинства неороговевших клеток зеленая	Слишком длительное время окрашивания в EA	Уменьшите время окрашивания в EA
	Ресурс EA израсходован	Замените на свежий раствор