

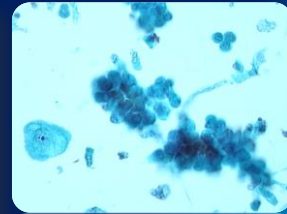
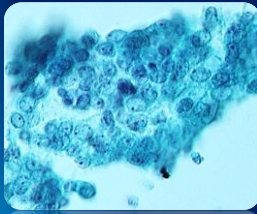


Научно-практическая конференция
«Онкоцитология»
Москва 9-10 ноября 2018 г.

**Цитоморфологическая
диагностика уринарной патологии с применением
жидкостной технологии **BD SurePath****

М.В.Савостикова, Е.С.Федосеева

ФГБУ «Центральная клиническая больница с поликлиникой» УДП РФ



Разработка методов приготовления
цитопрепаратов призвана оптимизировать и
стандартизировать сбор, обработку и наиболее
точную интерпретацию получаемого материала.

**Преаналитический этап приготовления цитопрепаратов
включает:**

- ✓ способ получения материала,
- ✓ метод (технология) приготовления цитопрепаратов,
- ✓ методику окраски,
- ✓ экономическую составляющую каждого этапа.



Существуют три основных типа препаратов при исследовании уринарной системы:

- ✓ Моча;
- ✓ Катетеризированная моча;
- ✓ Промывные воды.



В уринарной цитологии клеточность препаратов напрямую зависит от инвазивности клинической процедуры. На первом месте по клеточности - смывы с мочевого пузыря, на втором – катетеризированная моча, на третьем – свободно выпущенные образцы.

| Образец | Преимущества | Недостатки |
|------------------------------|--|---|
| Моча | Легкость сбора | Малое количество клеток |
| | Неинвазивность Отсутствие инструментальных артефактов | Плохая сохранность Контаминация из генитального тракта |
| Катетеризованная моча | Больше клеток | Инвазивная процедура |
| | Лучшее сохранение Нет контаминации | Некомфортная, риск инфицирования Инструментальные артефакты, непредставленная уретра |
| Промывные воды | Высокая клеточность | Аналогично катетеризованной моче |
| | Хорошая сохранность клеток | Дорогостоящая процедура |
| | Отсутствие контаминации | Не представлен верхний мочевой тракт Распространение опухоли |

Правила сбора мочи при исследовании уринарной патологии:

- Первая утренняя порция мочи теоретически более клеточная, но не подходит для исследования из-за выраженных дегенеративных изменений. Соответственно **моча, собранная для общего анализа мочи не пригодна для цитологического исследования.**



- Для цитологического исследования моча должна быть собрана отдельно за 3-4 часа после последнего мочеиспускания в объеме не менее 100-300 мл. Разделение на порции, начальная, средняя, последняя, не принципиальна для улучшения клеточности.

- **Оптимальное число порций мочи для определения опухоли – 3 (в течение дня). Относительное распределение диагностической ценности: 80% диагностируется в первой порции, около 15% во второй, остальные в третьей.**

Методы приготовления препаратов

Традиционная цитология

Жидкостные технологии

Son SM1, Koo JH, Choi SY et al. Korean J Pathol. 2012 Feb;46(1):68-74.

Сравнение методов жидкостной и традиционной цитологии в диагностике уротелиального рака.

713 препаратов мочи были приготовлены двумя способами (ТЦ и ЖЦ-CellprepPlus®). Образцы, приготовленные методом ЖЦ оказались более клеточными, с более чистым фоном и более четкой морфологией клеток. 88 случаев были подтверждены гистологически, была рассчитана специфичность (100% - оба метода) и чувствительность (50% ЖЦ и 37.5% ТЦ) обоих методов.

Luo Y1, She DL1, Xiong H1, Yang L1, Fu SJ1. PLoS One. 2015 Aug 4;10(8):e0134940.

Диагностическая значимость ЖЦ в выявлении уротелиального рака (метаанализ).

По данным метаанализа 19 исследований на 8293 пациентах: средняя чувствительность и специфичность метода ТЦ и ЖЦ в отношении HGUC (уротелиальная карцинома high-grade) соответственно равна 58% (0.51-0.65) и 96% (0.93-0.98).

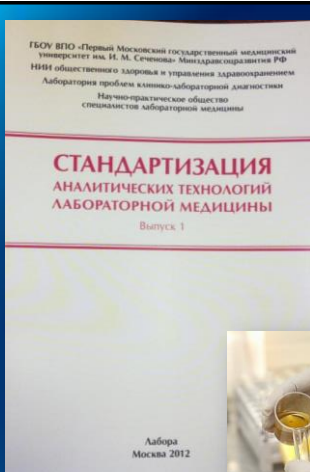


Какая технология приготовления препарата мочи является предпочтительной в вашей лаборатории?

| Варианты ответов | ответ | % |
|---|-------|-----|
| Концентрация с помощью обычного центрифугирования, осаждения и сливания надосадочной жидкости, затем перенос клеток на стекло | 10 | 6 |
| Цитоцентрифугирование | 27 | 16 |
| Мембранный фильтр | 0 | 0 |
| Жидкостные технологии (осаждение, [BD SurePath] , фильтрация вверх дном [Hologic ThinPrep]) | 115 | 70% |
| Клеточные парафиновые блоки | 0 | 0 |
| Другое | 13 | 8 |
| Всего | 165 | |



- ✓ При использовании метода на основе фильтрации, препараты требуют затрат времени и вызывают определенные трудности при приготовлении.
- ✓ **Препараты на основе жидкостной цитологии наиболее приемлемы!**
- ✓ Обычные неконцентрированные мазки мочи не пригодны для исследования!!!



Место приклеивания
Микроскопическое исследование

Эпител.: эпителий _____
 лейкоцитный _____
 уретральный _____
 почечный _____

Лейкоциты _____
 Эритроциты: неизменные _____
 измененные _____

Цилиндры: гиалиновые _____
 зернистые _____
 восковидные _____
 эпителиальные _____
 цилиндры _____

Слизь _____
 Бактерии _____
 Соли _____
 Грибки _____

Подпись _____
 Исследование мочи _____ 19__ г.
 Дата _____ 19__ г.
 Тел. АЛБС, заказ 1455, серия 100 000, 1984 год.

Место приклеивания
 СССР Учен. ф. № 45 ин-т
 Министерство Углеродное Министерство
 здравоохранения здравоохранения СССР
 10 февраля 1989 г.

Лаборатория _____ (учреждение)
 Гр. _____ (ф. и. н.)
 Отделение _____
 № _____ (по регистрационному журналу)

Количество _____
 Цвет _____ Прозрачность _____
 Уд. вес _____ Реакция _____
 Белок _____
 Сахар _____
 Ацетон _____
 Желчные пигменты _____
 Уробилин _____
 Индикан _____
 Исследование мочи _____
 Дата _____ 19__ г. См. на обороте.



**Анализ мочи по Нечипоренко.
 Нормальные показатели**

| Форменные элементы | Нормальные показатели количества |
|--------------------|----------------------------------|
| Эритроциты | Не более 1000 |
| Лейкоциты | Не более 2000 |
| Цилиндры | Не более 20 |



Результаты исследования уринарной патологии с использованием традиционной цитологии.

Данные РОНЦ 2011года.

- ✓ Проведено 700 исследований мочи 254 пациентам (80 – женщины, 174– мужчин).
- ✓ С целью диагностики – 126 наблюдения, мониторинга - 128.



| Диагноз | Количество исследований |
|-------------------------|-------------------------|
| Рак мочевого пузыря | 76 |
| Рак почки | 4 |
| Рак лоханки | 5 |
| Рак простаты | 1 |
| Рак мочеточника | 5 |
| Опухоль мочевого пузыря | 36 |

| категория |  Парижская система оценки цитологии уринарного тракта (2016г.) |
|-------------|---|
| I. | Неудовлетворительный/ недиагностический |
| II. | Негативная по уротелиальной карциноме высокой степени злокачественности (NHGUC) |
| III. | Атипическая уротелиальная клетка AUS |
| IV. | Подозрение на HGUC (SHGUC) |
| V. | Уротелиальная карцинома низкой степени злокачественности (LGUC) |
| VI. | Уротелиальная карцинома высокой степени злокачественности (HGUC) |
| VII. | другие опухоли, первичные и вторичные |

Традиционный цитологический метод исследования мочи

Гистология: HGUC МП

• **Диагностика / n=28**

| Цитология | n/% |
|---------------|-------|
| HGUC | 8/29% |
| LGUC | 2/7% |
| AUC-H | 6/21% |
| AUC | 6/21% |
| Без патологии | 6/21% |

Чувствительность 57%

• **Мониторинг/ n=54**

(гистологически HGUC не выявлено)

| Цитология | % |
|---------------|--------|
| AUC-H | 2/4% |
| AUC | 4/7% |
| Без патологии | 48/89% |

Специфичность 96%

ВСЕГО: 82 исследование

Традиционный цитологический метод исследования мочи

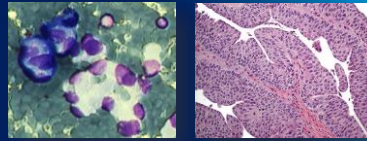
Гистология: **LGUC МП**

- Диагностика / n=14

| Цитология | % |
|---------------|------------|
| LGUC | 20% |
| AUC | 25% |
| Без патологии | 55% |

Чувствительность 20%

ВСЕГО: 86 исследования



- Мониторинг/ n=72

(гистологически **LGUC** не выявлено)

| Цитология | % |
|-----------------|-----|
| Не информативно | 1% |
| Без патологии | 99% |

Специфичность 100%



Традиционный цитологический метод исследования мочи

Гистология: - папиллома,
- опухоль не ясного злокачественного потенциала,
- без опухолевой патологии (циститы)

- Диагностика / n=60

| Цитология | % |
|----------------------------|-------------|
| Не информативно | 4,3% |
| Без патологии | 78,4% |
| Наличие эритроцитов | 7,2% |
| AUC-Н | 4,3% |
| AUC | 5,8% |

Чувствительность 96%

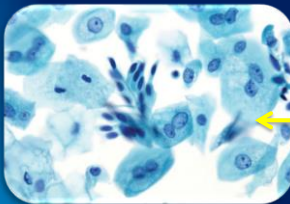
Специфичность 92%



Метод максимальной концентрации клеток осадка мочи и жидкостной технологии **BD SurePath**



Prep Stein BD



Результаты исследования уринарной патологии с использованием метода максимальной концентрации клеток осадка мочи и жидкостной технологии **BD SurePath**. Данные РОНЦ 2014-2015 гг.

- ✓ Проведено 628 исследований мочи, 378 смывов с МП 220 пациентам (66 – женщин, 154 – мужчин).
- ✓ С целью диагностики – 42 наблюдения, мониторинга - 178!

| Диагноз | Количество исследований | | |
|--|-------------------------|-----------|-------|
| | T1NoM0 | T2-3,NxMo | T4NxM |
| Рак мочевого пузыря (91) | 138 | 44 | 0 |
| Рак лоханки (2) | 4 | | |
| Рак мочеточника (5) | 4 | 2 | 4 |
| Опухоль мочевого пузыря Папиллома, PUNLMP (3) | | 6 | |
| Без опухолевого роста (цистит) (9) | | 18 | |

Результаты исследования уринарной патологии с использованием метода максимальной концентрации клеток осадка мочи и жидкостной технологии **BD SurePath.**

Данные РОНЦ 2014-2015 гг.

| Материал для исследования | Количество исследований (n) |
|--|-----------------------------|
| Смыв с поверхности мочевого пузыря (BD Prep Stain Slide Processor) | 152 |
| Моча (BD Prep Stain Slide Processor) | 80 |
| Моча, приготовленная традиционным способом | 326 |



Смыв с МП

Гистология: **HGUC МП**

- Диагностика / n=54
- Мониторинг/ n=64

} n= 118

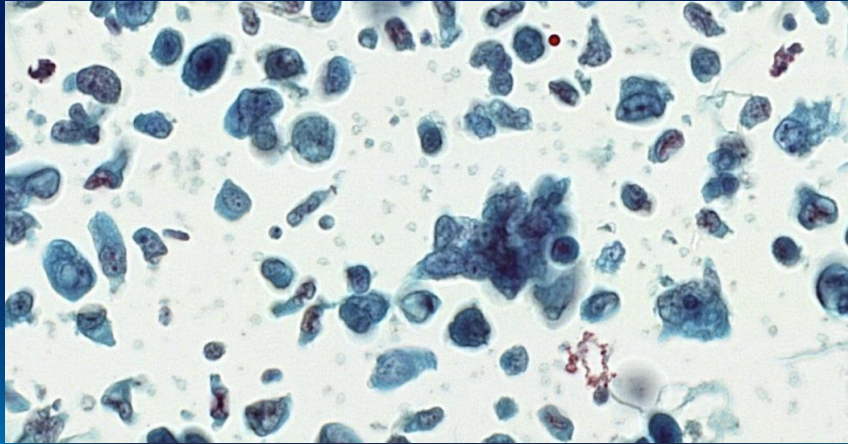


| Prep Stein BD N=118 | Цитология |
|------------------------|---------------------------------|
| 68% | HGUC |
| 0 | LGUC |
| 14% | AUC-H |
| 0 | AUC |
| 14% | Без опухолевой патологии |
| 4% | Не информативен |
| 86% | Чувствительность, % |



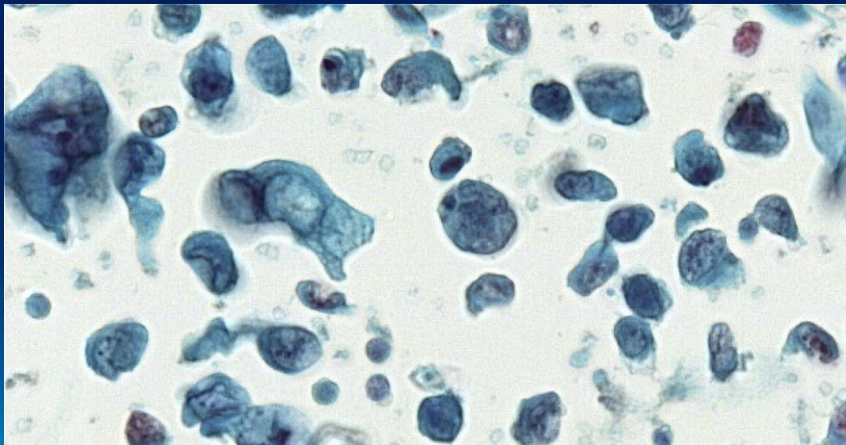
Смыв с
мочевого пузыря

HGUC МП



Смыв с
мочевого пузыря

HGUC МП

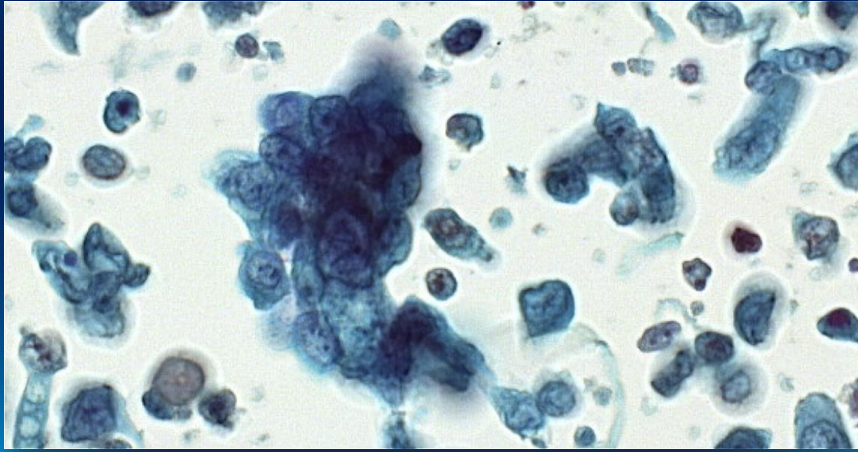




СМЫВ С
МОЧЕВОГО ПУЗЫРЯ



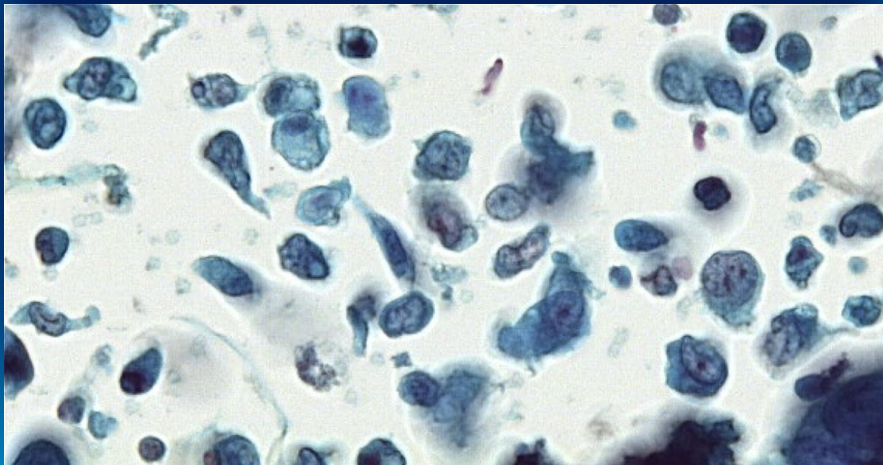
HGUC МП



СМЫВ С МП



HGUC





Смыв с МП

HGUC





Смыв с МП

Гистология: LGUC МП

- Диагностика / n=18
- Мониторинг/ n=36

n= 54

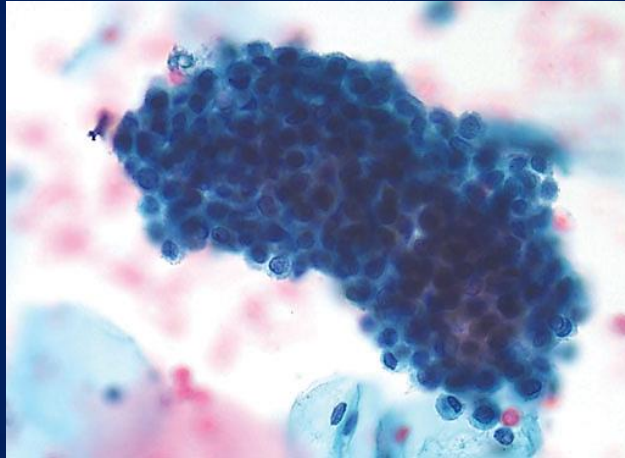
| Prep Stein BD N=27 | Цитология |
|-------------------------------|---------------------------------|
| 0 | HGUC |
| 84% | LGUC |
| 0 | AUC-H |
| 0 | AUC |
| 8% | Без опухолевой патологии |
| 8% | Не информативен |
| 91% | Чувствительность, % |





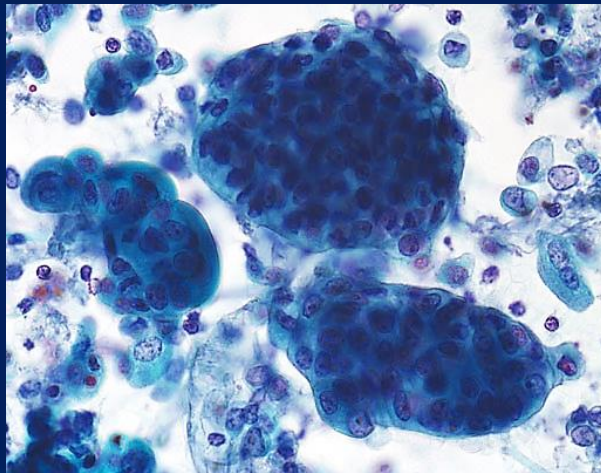
Смыв с мочевого
пузыря

LGUC МП



Смыв с мочевого
пузыря

LGUC МП

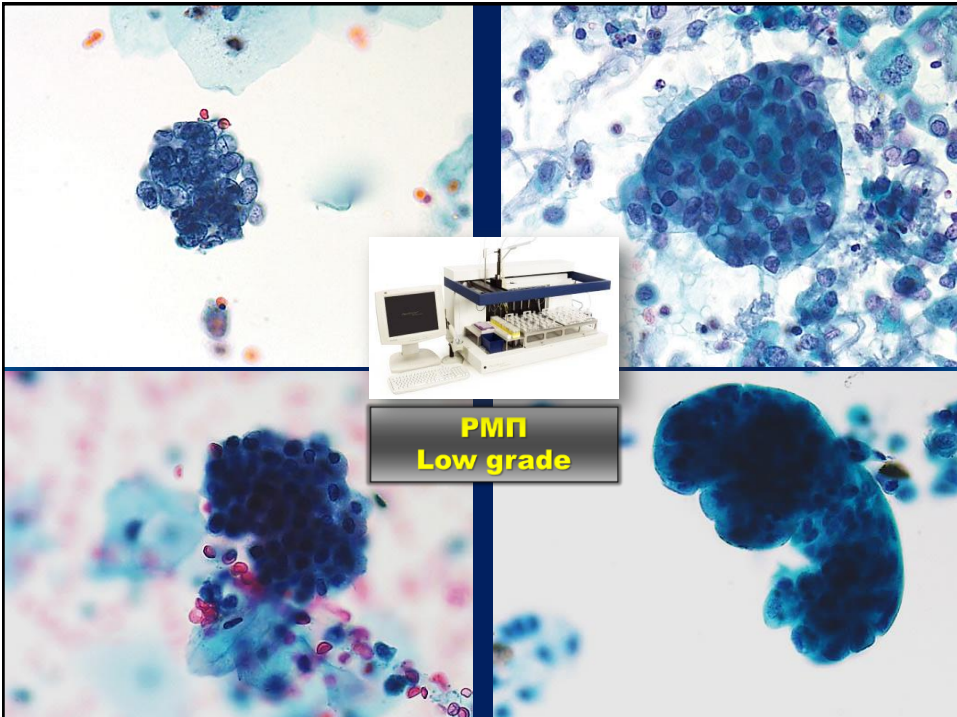
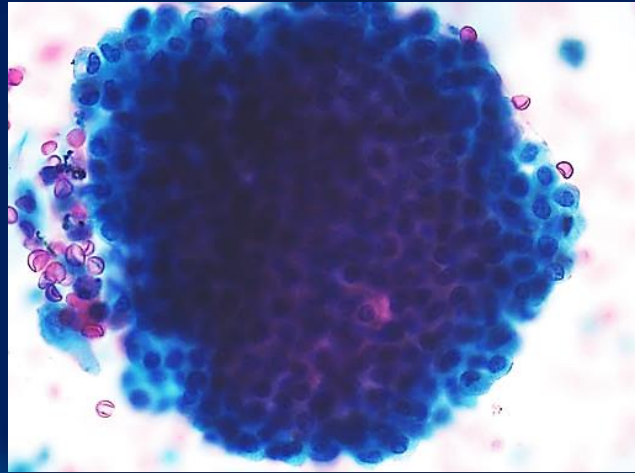


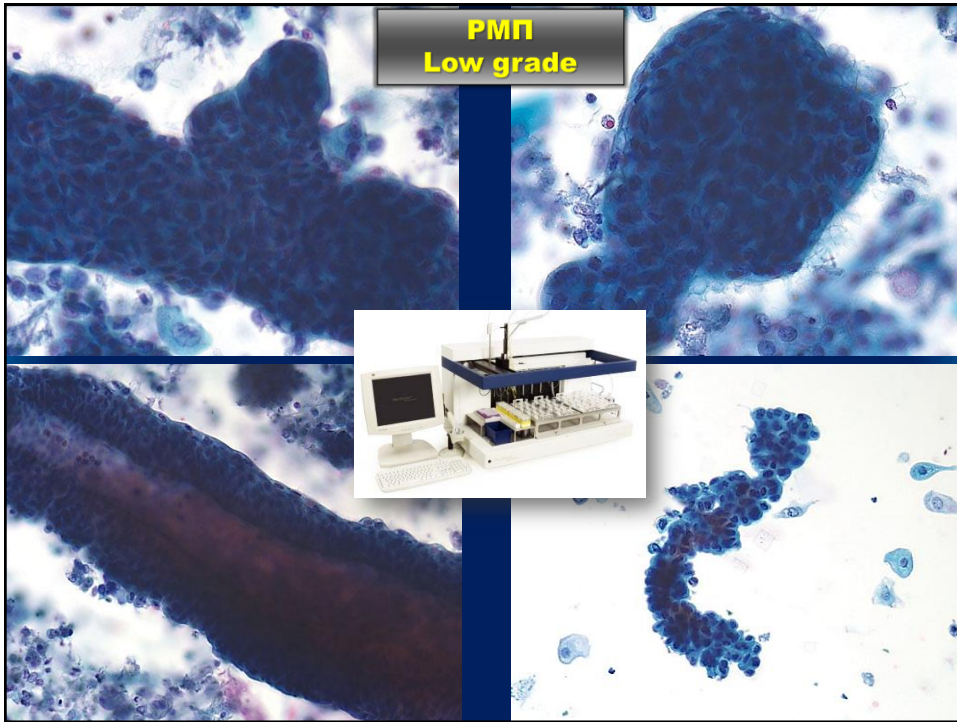


Смыв с мочевого пузыря



LGUC МП







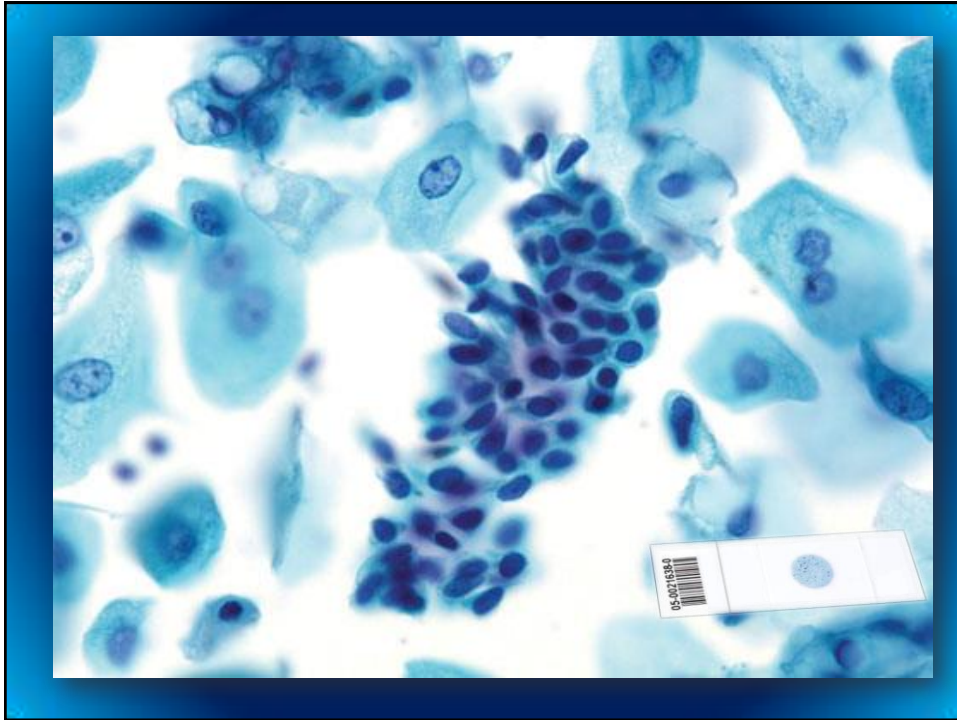
Смыв с мочевого пузыря

Гистология: **без онкопатологии**

- Мониторинг/n=176
- Диагностика/n=30

} n= 206

| Prep Stein BD N=103 | Цитология |
|------------------------|--------------------------|
| 0 | HGUC |
| 5% | LGUC |
| 0 | AUC-H |
| 2,5% | AUC |
| 90% | Без опухолевой патологии |
| 2,5% | Не информативен |
| 95% | Специфичность, % |



Моча

Гистология: **HGUC МП**

n= 48

| Prep Stein BD N=24 | Цитология |
|-----------------------|----------------------------|
| 50% | HGUC |
| 0 | LGUC |
| 17% | AUC-H |
| 0 | AUC |
| 33% | Без опухолевой патологии |
| 0 | Не информативен |
| 67% | Чувствительность, % |



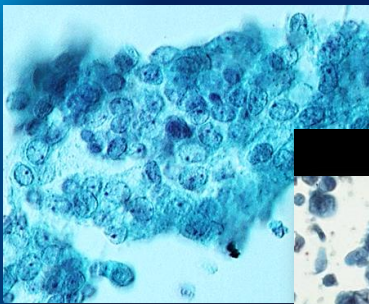
Моча

Гистология: **LGUC МП**

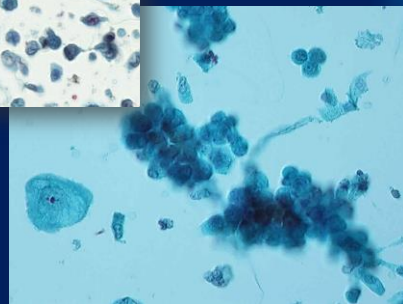
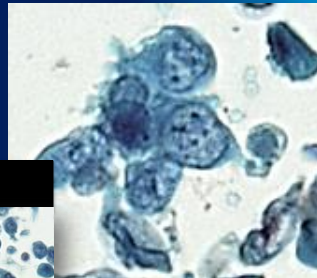
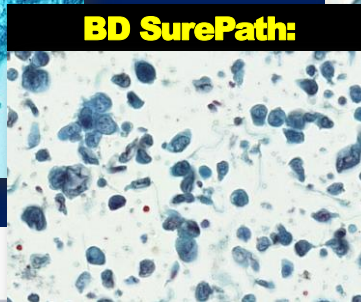
n= 36

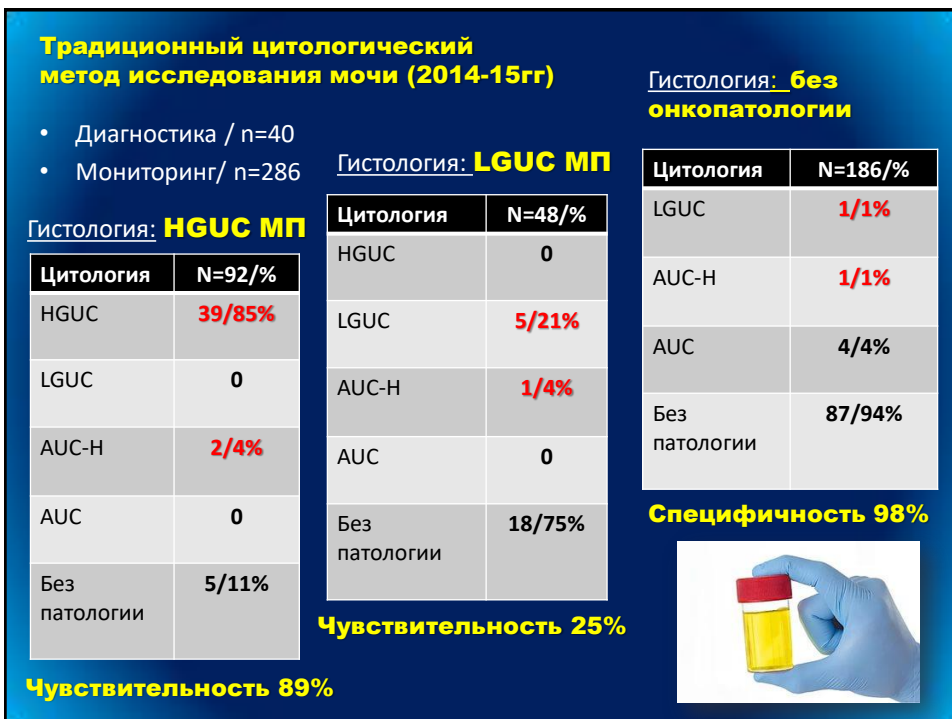
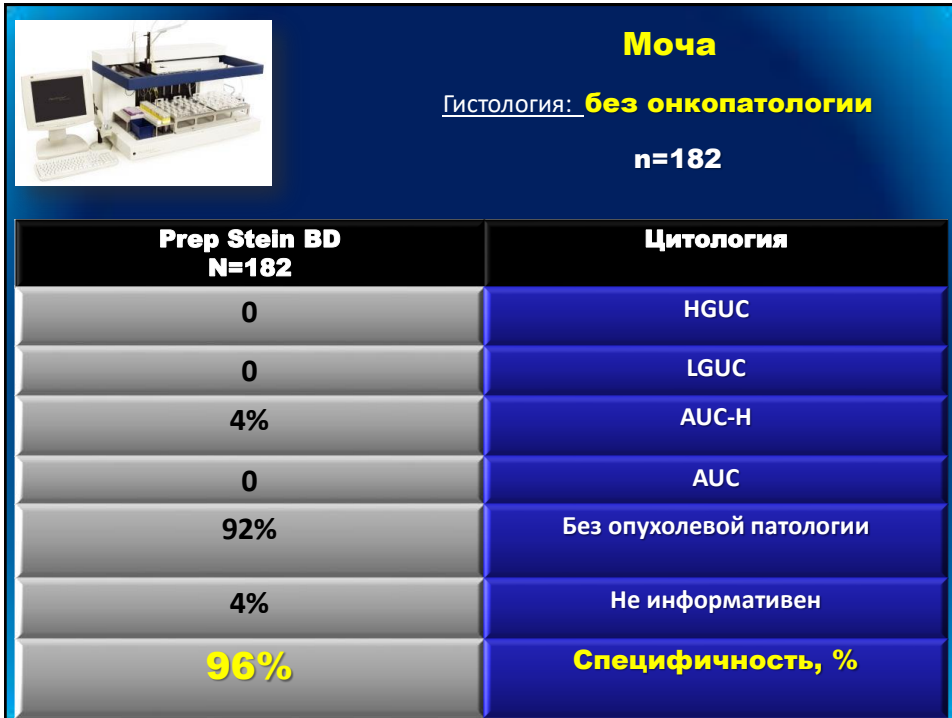
| Prep Stein BD N=36 | Цитология |
|-----------------------|----------------------------|
| 0 | HGUC |
| 40% | LGUC |
| 20% | AUC-H |
| 20% | AUC |
| 20% | Без опухолевой патологии |
| 0 | Не информативен |
| 60% | Чувствительность, % |

(Окраска по Папаниколау)



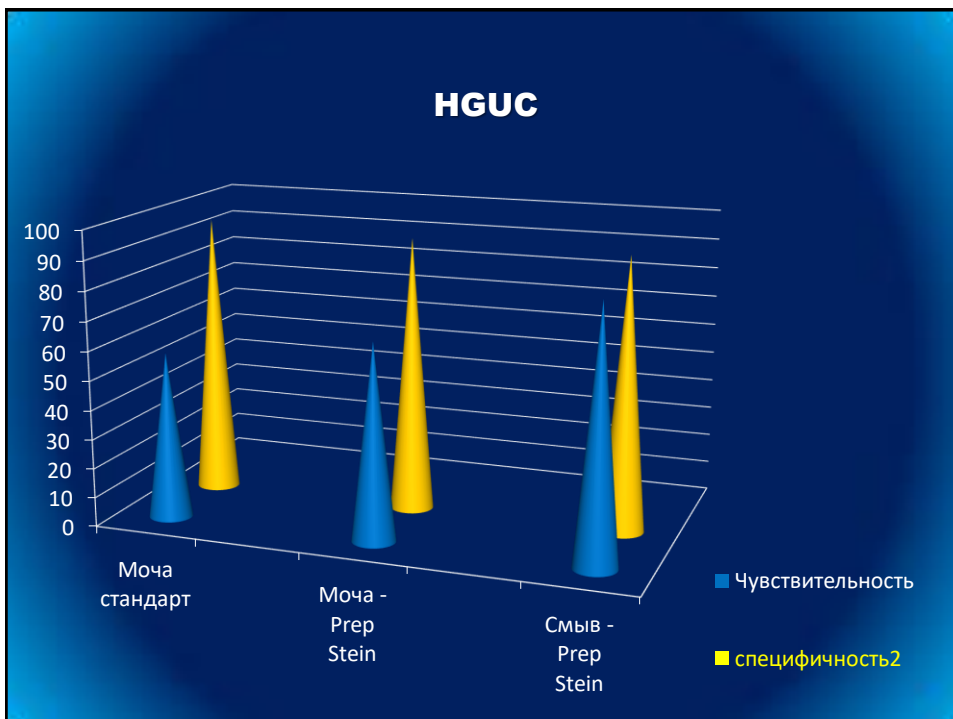
BD SurePath:

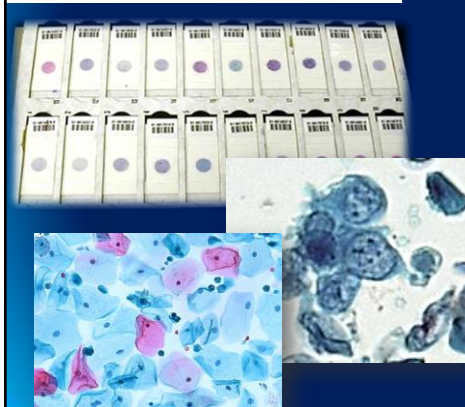
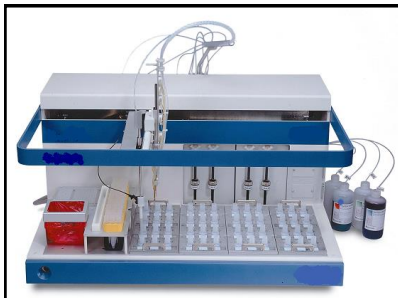
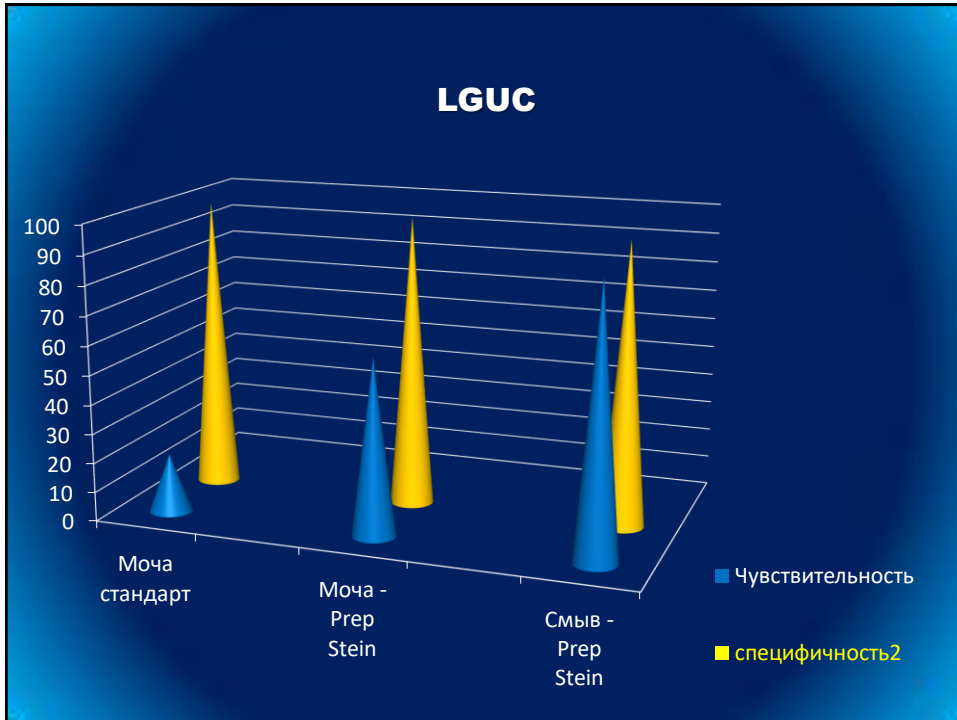




Результаты:

| Метод и исследуемый материал | HGUC | | LGUC | | Без онкопатологии | |
|-----------------------------------|---------------------|------------------|---------------------|------------------|---------------------|------------------|
| | Чувствительность, % | Специфичность, % | Чувствительность, % | Специфичность, % | Чувствительность, % | Специфичность, % |
| Моча – традиционный метод (2011г) | 57 | 96 | 20 | 100 | 96 | 92 |
| Моча – Prep Stein | 67 | 94 | 60 | 99 | 98 | 96 |
| Смыв – Prep Stein | 86 | 93 | 91 | 96 | 92 | 95 |

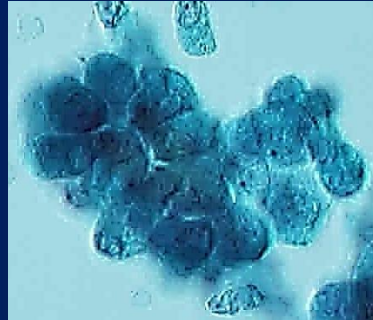
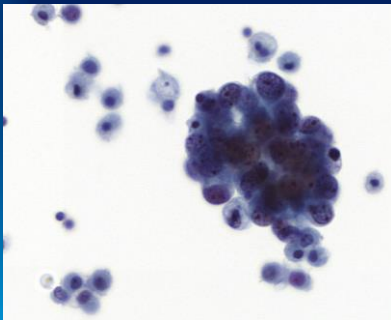
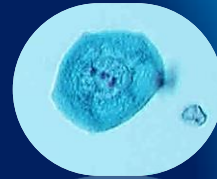




BD SurePath:

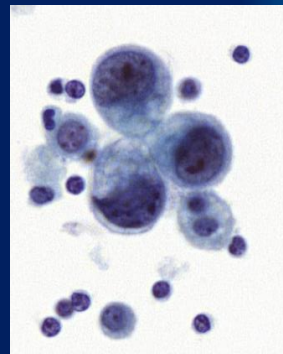
- метод приготовления цитологических монослойных препаратов на предметных стеклах BD
- с использованием аппарата BD PrepStain™ и фиксирующего раствора BD **CytoRich Red**, позволяющего не только фиксировать клеточный материал, но и лизировать эритроциты.
- За 45 минут готовится 48 монослойных препаратов высокого качества,
- За 8-ми часовой рабочий день=288. d мазка=13мм,
- окраска только по Паппаниколау, производится автоматически.
- Можно программировать количество окрашенных и не окрашенных мазков.
- Препараты очищены от слизи и крови.

В препаратах **BD SurePath** особенно хорошо визуализируются нуклеолы ядер, структуры скоплений сохранены, слегка усилены и отмечается их трехмерность. Время просмотра стандартных **BD SurePath** препаратов уменьшается в 10 раз, появляется возможность проведения дополнительных ИЦХ исследований.



Вывод

Цитологическое исследование при уринарной патологии остается значимым методом диагностики, позволяя выработать оптимальную тактику ведения больных с уротелиальным раком. Неинвазивность процедуры получения материала, а также возможность мониторинга пациентов с онкологическим анамнезом дает цитологическому методу неоспоримые преимущества в сравнении с гистологическим. Даже при относительно невысокой диагностической чувствительности практически стопроцентная специфичность цитологического исследования исключает наличие HGUC.





*Благодарю за
внимание!!!*