



Конференция «Онкоурология» 1 октября 2021 года

Сравнение традиционной и жидкостной цитологии при патологии уринарной системы

† М. В. Савостикова¹, Е. С. Федосеева¹,

А. Г. Кудайбергенова², А. В. Хачатурян³

¹ФГБУ «Центральная клиническая больница с поликлиникой» УДП РФ, Москва

²ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России, Санкт-Петербург

³ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва



Понимание преаналитики
цитологической диагностики позволяет
оптимизировать и стандартизировать
сбор, обработку и наиболее точную интерпретацию
получаемого материала

Преаналитический этап учитывает:

- ✓ способ получения материала,
- ✓ технологию приготовления цитопрепаратов,
- ✓ методику окраски,
- ✓ экономическую составляющую



СПОСОБЫ ПОЛУЧЕНИЯ МАТЕРИАЛА

Клеточность цитологических препаратов напрямую зависит от **инвазивности** клинической процедуры



1. *Промывные воды* (смыв с мочевого пузыря)
2. *Катетеризованная моча*
3. *Свободно выпущенная моча*



Образец	Преимущества (+)	Недостатки (-)
Моча	Простота получения образца	Скучная клеточность
	Неинвазивность	Плохая сохранность
	Отсутствие инструментальных артефактов	Контаминация из аногенитальной зоны
Катетеризованная моча	Выше клеточность	Инвазивная, некомфортная процедура, есть риск инфицирования
	Лучше сохранность клеток	
	Отсутствие контаминации	Инструментальные артефакты, не представлена уретра
Смыв с мочевого пузыря	Высокая клеточность	Инвазивная процедура
	Хорошая сохранность клеток	Дорогостоящая процедура
	Отсутствие контаминации	Не представлены верхние отделы уринарного тракта

Правила сбора мочи для цитологического исследования

- **Первая утренняя порция мочи не пригодна** для цитологического исследования из-за выраженных дегенеративных изменений клеток
- Для цитологического исследования моча должна быть собрана отдельно, **через 3-4 часа после первого утреннего мочеиспускания**, в объеме не менее 100 мл
- По возможности **образцы мочи должны быть обработаны в течение 4 часов** с момента поступления в лабораторию
- Без существенных изменений качества хранения мочи в холодильнике допустимо **до 12 часов**
- Если приготовление цитологических препаратов откладывается более, чем на 24 часа, рекомендуется фиксация образца в равном объеме 50-70% этанола, предпочтительнее – с 2% этиленгликолем (Carbowax)

[Rosenthal D.L., Wojcik E.M., Kurtycz D.F.I. The Paris System for reporting urinary cytology. Springer, 2016].



- ❑ Оптимальное число исследований мочи для определения опухоли – 3 (в течение 3-х дней, либо трехкратно в течение дня).
- ❑ По данным собственных исследований (ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» МЗ РФ, 2014-2015 гг.), **двукратное** исследование осадка мочи повышает вероятность обнаружения опухолевых клеток **на 8,4%**, **трехкратное** – **на 22,1%**.

Категория	 Парижская классификация уринарной цитопатологии 2016 г.
I.	Неудовлетворительный/ недиагностический материал
II.	Отсутствие уротелиальной карциномы высокой степени злокачественности (NHGUC)
III.	Атипичные уротелиальные клетки (AUC)
IV.	Подозрение на уротелиальную карциному высокой степени злокачественности (AUCH/ SHGUC)
V.	Уротелиальная карцинома высокой степени злокачественности (HGUC)
VI.	Уротелиальная неоплазия низкой степени злокачественности (LGUN)
VII.	Другие злокачественные опухоли, первичные и вторичные

 Какая технология обработки осадка мочи является предпочтительной в вашей лаборатории?		
ВАРИАНТЫ ОТВЕТОВ	КОЛИЧЕСТВО	%
Приготовление препарата с помощью центрифугирования/ осаждения и удаления надосадочной жидкости, с последующим переносом клеточного осадка на стекло	10	6
Цитоцентрифугирование (Cytospin)	27	16
Мембранная фильтрация	0	0
Жидкостные технологии (BD SurePath, Hologic ThinPrep)	115	70
Клеточные парафиновые блоки	0	0
Другое	13	8
Всего	165	100

Методы приготовления препаратов

Традиционная цитология

Жидкостная цитология

Son S.M., Koo J.H., Choi S.Y. et al. Korean J Pathol. 2012 Feb;46(1):68-74.

Сравнение эффективности жидкостной и традиционной цитологии в диагностике уротелиального рака.

713 образцов мочи были подготовлены для цитологического исследования методами ТЦ и ЖЦ (CellprepPlus®). Образцы, приготовленные методом ЖЦ, оказались более клеточными, с более чистым фоном и более четко различимой морфологией клеток.

Для 88 случаев уротелиальной карциномы, подтвержденных гистологически, была рассчитана специфичность (100%, оба метода) и чувствительность (50% для ЖЦ и 37.5% для ТЦ) обоих методов.

Luo Y., She D.L., Xiong H., Yang L., Fu S.J. PLoS One. 2015 Aug 4;10(8):e0134940.

Диагностическая значимость ЖЦ в выявлении уротелиального рака (метаанализ)

Данный метаанализ объединил 19 публикаций, посвященных оценке 8293 цитологических образцов мочи. **Совокупные чувствительность и специфичность ЖЦ** в выявлении уротелиальной карциномы **составили 58% и 96% соответственно**, и в сравнении с ТЦ (Cytospin) достоверно не отличались.

Методы приготовления препаратов

Мембранная
фильтрация
(Millipore)



Цитоцентрифугирование:
• Cytospin (Thermo Scientific
Shandon)



Жидкостная
цитология:
• SurePath (BD)
• ThinPrep (Hologic)



Практика показывает, что **любой метод** позволяет приготовить препараты удовлетворительного качества:

- мембранная фильтрация (Millipore)
- цитоцентрифугирование (Cytospin)
- жидкостные технологии (BD SurePath, Hologic ThinPrep)

Gill GW. Cytopreparation: principles & practice. In: Rosenthal DL, series editor. Essentials in cytopathology, Vol. 12. New York: Springer; 2013

Цитоцентрифугирование – особенности метода

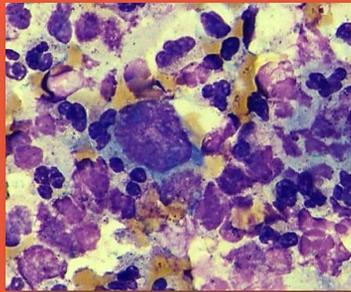


- можно использовать небольшой объем жидкости, содержащей небольшое число клеток,
- быстрое приготовление препарата (45 минут-98 мазков),
- можно использовать любой метод окрашивания,
- быстрый и удобный просмотр: препарат тонкослойный, занимает небольшую площадь ($d=5$ мм).

Незначительная потеря клеток за счет абсорбции на фильтре.



Метод непригоден для материала, содержащего большое количество слизи.



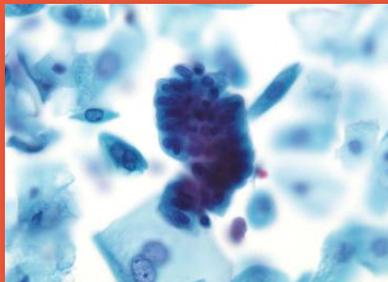
Жидкостная цитология – особенности метода



- метод позволяет лизировать эритроциты, очистить материал от слизи,
- за 45 минут готовится 48 монослойных препаратов высокого качества, за 8-ми часовой рабочий день – 288,
- d мазка=13мм, автоматическая окраска по Паппаниколау, можно программировать количество окрашенных и неокрашенных препаратов.



Метод требует длительной предподготовки.



Собственные данные
(ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина»)

Дизайн исследования:

- **Ретроспективная оценка образцов 2011 года:**
350 исследований мочи 127 пациентам,
концентрированной стандартным способом **(1:10)**
- **Оценка образцов за 2014-2015 гг:**
503 исследования мочи и смывов с мочевого пузыря
110 пациентам, с применением метода максимальной
концентрации мочевого осадка **(1:100)**, методом:
 - цитоцентрифугирования
 - жидкостной цитологии
 - нанесением капли осадка на стекло

Стандартная микроскопия мочи

**Стандартизованная технология клинического
лабораторного анализа мочи.
Микроскопическое исследование мочи.**



- В центрифужную пробирку помещают 10 мл из полученной порции мочи после тщательного ее перемешивания
- Центрифугируют 10 мин на скорости 1500 об/мин (или 400 G)
- Отбирают верхний слой, оставляя вместе с осадком 1 мл жидкости
- **Таким образом моча концентрируется в 10 раз**
- Затем каплю осадка помещают на предметное стекло

[Стандартизация аналитических технологий лабораторной медицины. Выпуск 1. Под редакцией В.В. Меньшикова. – М.: Лабора, 2012. – С. 109–129].

Традиционное цитологическое исследование мочи
(стандартный метод, концентрация 1:10)

- ✓ Проведено 350 исследований мочи 127 пациентам (40 жен., 87 муж.)
- ✓ С целью диагностики – у 28 пациентов, с целью мониторинга – у 99 пациентов

Клинический диагноз	Количество пациентов
Рак мочевого пузыря	76
Рак почки	4
Рак лоханки	5
Рак простаты	1
Рак мочеточника	5
Опухоль мочевого пузыря (БДУ)	36
Всего	127

Традиционное цитологическое исследование мочи
(стандартный метод, концентрация 1:10)

В анамнезе: **HGUC мочевого пузыря (N=41)**

Диагностика

(последующая гистология – HGUC)

Цитология	N
HGUC	4
LGUN	1
AUC-H	3
AUC	3
NHGUC	3
Всего	14

Чувствительность 50%

Мониторинг

(гистологически после лечения
– без опухолевого роста)

Цитология	N
HGUC	0
LGUN	0
AUC-H	1
AUC	2
NHGUC	24
Всего	27

Специфичность 89%

Традиционное цитологическое исследование мочи
(стандартный метод, концентрация 1:10)

В анамнезе: **LGUN мочевого пузыря (N=86)**

Диагностика

(последующая гистология – LGUN)

Цитология	N
HGUC	0
LGUN	3
AUC-H	0
AUC	4
NHGUC	7
Всего	14

Чувствительность 50%

Мониторинг

(гистологически после лечения
– без опухолевого роста)

Цитология	N
HGUC	0
LGUN	0
AUC-H	0
AUC	0
NHGUC	72
Всего	72

Специфичность 100%

Собственные данные

(ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина»)

Дизайн исследования:

- **Ретроспективная оценка образцов 2011 года:**
350 исследований мочи 127 пациентам,
концентрированной стандартным способом **(1:10)**
- **Оценка образцов за 2014-2015 гг:**
503 исследования мочи и смывов с мочевого пузыря
110 пациентам, с применением метода максимальной
концентрации мочевого осадка **(1:100)**, методом:
 - цитоцентрифугирования
 - жидкостной цитологии
 - нанесением капли осадка на стекло

Метод максимальной концентрации осадка мочи



Цитологическое исследование мочи и смывов с мочевого пузыря (максимальная концентрация мочевого осадка, 1:100)

- ✓ Проведено 503 исследования (314 образцов мочи и 189 – смывов с мочевого пузыря) 110 пациентам (33 жен., 77 муж.)
- ✓ С целью диагностики – у 21 пациента, с целью мониторинга – у 89 пациентов

Гистологический диагноз	Количество пациентов
Рак мочевого пузыря	91
Рак лоханки почки	2
Рак мочеточника	5
Опухоль мочевого пузыря низкого злокачественного потенциала	3
Без опухолевого роста (цистит)	9
Всего	110

**Цитологическое исследование мочи и смывов с мочевого пузыря
(максимальная концентрация мочевого осадка, 1:100)**

Материал для исследования	Количество исследований (N)
Смыв с поверхности мочевого пузыря (Cytospin-3)	113
Смыв с поверхности мочевого пузыря (BD SurePath)	76
Моча (Cytospin-3)	111
Моча (BD SurePath)	40
Моча: прямое нанесение мочевого осадка на стекло	163
Всего	503

**Смывы с поверхности мочевого пузыря
(Cytospin-3, BD SurePath)**

Гистологическое заключение	Количество исследований (N)
HGUC	59
LGUN	27
Без опухолевого роста	103
Всего	189



Смыв с мочевого пузыря
Гистология: HGUC (N=59)

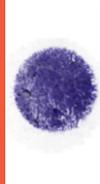


BD SurePath N=22	Цитология	Cytospin-3 N=37
15	HGUC	31
0	LGUN	0
3	AUCH/SHGUC	6
0	AUC	0
4	NHGUC	0
82%	Чувствительность	100%



BD SurePath

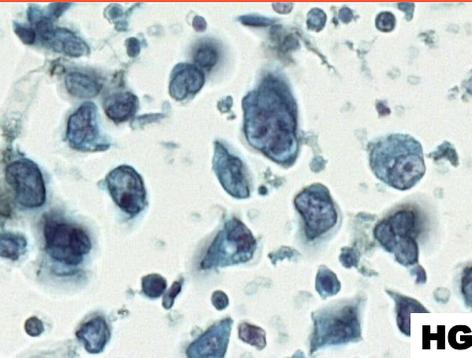




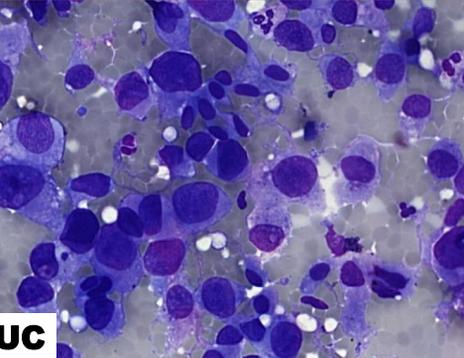


Cytospin-3

Смыв с мочевого пузыря



HGUC



Смывы с поверхности мочевого пузыря (Cytospin-3, BD SurePath)

Гистологическое заключение	Количество исследований (N)
HGUC	59
LGUN	27
Без опухолевого роста	103
Всего	189



Смыв с мочевого пузыря Гистология: LGUN (N=27)



BD SurePath N=12	Цитология	Cytospin-3 N=15
0	HGUC	0
10	LGUN	14
0	AUCH/SHGUC	0
0	AUC	0
2	NHGUC	1
83%	Чувствительность	93%



Смывы с поверхности мочевого пузыря (Cytospin-3, BD SurePath)

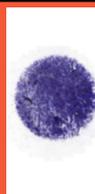
Гистологическое заключение	Количество исследований (N)
HGUC	59
LGUN	27
Без опухолевого роста	103
Всего	189



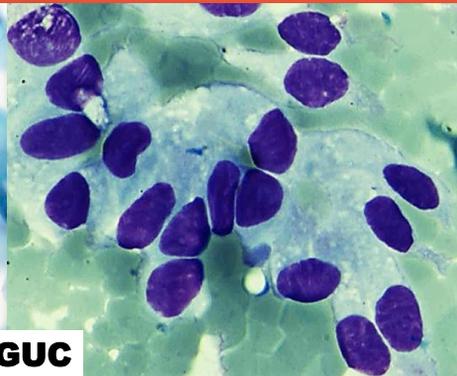
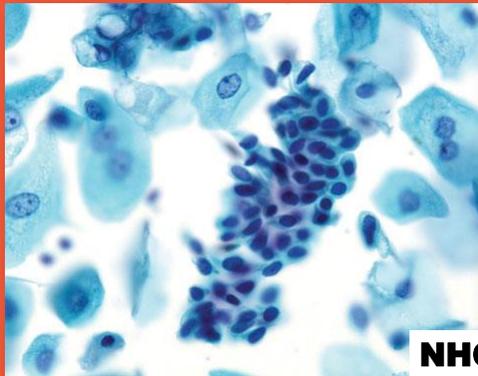
Смыв с мочевого пузыря
Гистология: без опухолевого роста (N=103)



BD SurePath N=42	Цитология	Cytospin-3 N=61
0	HGUC	0
2	LGUN	3
0	AUCH/SHGUC	0
1	AUC	3
39	NHGUC	55
93%	Специфичность	90%



Смыв с мочевого пузыря



NHGUC

Цитологическое исследование мочи и смывов с мочевого пузыря
(максимальная концентрация мочевого осадка, 1:100)

Материал для исследования	Количество исследований (N)
Смыв с поверхности мочевого пузыря (Cytospin-3)	113
Смыв с поверхности мочевого пузыря (BD SurePath)	76
Моча (Cytospin-3)	111
Моча (BD SurePath)	40
Моча: прямое нанесение мочевого осадка на стекло	163
Всего	503

Моча (Cytospin-3, BD SurePath)
(максимальная концентрация мочевого осадка, 1:100)

Гистологическое заключение	Количество исследований (N)
HGUC	24
LGUN	36
Без опухолевого роста	91
Всего	151



Моча

Гистология: HGUC (N=24)



BD SurePath N=6	Цитология	Cytospin-3 N=18
3	HGUC	14
0	LGUN	0
1	AUCH/SHGUC	2
0	AUC	0
2	NHGUC	2
67%	Чувствительность	89%



Моча

Гистология: LGUN (N=36)



BD SurePath N=10	Цитология	Cytospin-3 N=26
0	HGUC	0
4	LGUN	17
2	AUCH/SHGUC	2
2	AUC	2
2	NHGUC	5
80%	Чувствительность	81%



Моча

Гистология: без опухолевого роста (N=91)



BD SurePath N=24	Цитология	Cytospin-3 N=67
0	HGUC	0
0	LGUN	0
1	AUCH/SHGUC	5
0	AUC	0
23	NHGUC	62
96%	Специфичность	93%

Цитологическое исследование мочи и смывов с мочевого пузыря (максимальная концентрация мочевого осадка, 1:100)

Материал для исследования	Количество исследований (N)
Смыв с поверхности мочевого пузыря (Cytospin-3)	113
Смыв с поверхности мочевого пузыря (BD SurePath)	76
Моча (Cytospin-3)	111
Моча (BD SurePath)	40
Моча: прямое нанесение мочевого осадка на стекло	163
Всего	503

Моча: прямое нанесение мочевого осадка на стекло
(максимальная концентрация мочевого осадка, 1:100)

Гистологическое заключение	Количество исследований (N)
HGUC	46
LGUN	24
Без опухолевого роста	93
Всего	163

Моча: прямое нанесение мочевого осадка на стекло
(максимальная концентрация мочевого осадка, 1:100)

Гистология: HGUC

Цитология	N=46
HGUC	39
LGUN	0
AUCH /SHGUC	2
AUC	0
NHGUC	5

Гистология: LGUN

Цитология	N=24
HGUC	0
LGUN	5
AUCH /SHGUC	1
AUC	0
NHGUC	18

Гистология: без опухолевого роста

Цитология	N=93
HGUC	0
LGUN	1
AUCH /SHGUC	1
AUC	4
NHGUC	87

Чувствительность 89%

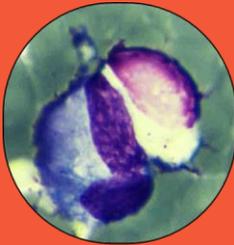
Чувствительность 25%

Специфичность 93,5%

РЕЗУЛЬТАТЫ

Вид материала и метод исследования	Цитология		
	HGUC	LGUN	NHGUC
	Чувствительность, %	Чувствительность, %	Специфичность, %
Моча – традиционный метод x10 (2011 г)	50	50	97
Моча – BD SurePath	67	80	96
Моча – Cytospin	89	81	93
Смыв – BD SurePath	82	83	93
Смыв – Cytospin	100	93	90
Моча – традиционный метод x100 (2014-2015 гг)	89	25	93,5

Cytospin? BD SurePath?



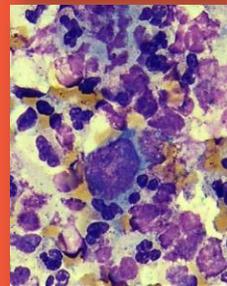
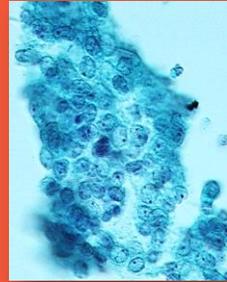
Морфология клеток в препаратах **Cytospin** аналогична таковой в традиционных мазках. Цитоцентрифугирование позволяет готовить любое количество стандартных препаратов, проводить дополнительные методы исследования.

В препаратах **BD SurePath** хорошо видны нуклеолы, структура хроматина, отмечается усиление архитектоники и трехмерность скоплений. Просмотр таких препаратов требует дополнительного обучения.



ВЫВОДЫ

- ❑ Эффективность уринарной цитологии определяется не столько методом приготовления препаратов, сколько методом концентрации мочевого осадка
- ❑ Неинвазивность процедуры получения материала, а также возможность мониторинга пациентов с онкологическим анамнезом делает цитологическое исследование незаменимым для диагностики
- ❑ Даже при относительно невысокой средней диагностической чувствительности высокая специфичность метода практически исключает возможность ложноположительного заключения о наличии НГУС



Благодарим за внимание!!!