ФЕДЕРАЛЬНОЕ АГЕНТСТВО

ПО ТЕХНИЧЕСКОМУ РЕГУЛИРОВАНИЮ И МЕТРОЛОГИИ

НАЦИОНАЛЬНЫЙ СТАНДАРТ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

ГОСТ Р 57003— 2016

Диагностика в онкологии

АЛГОРИТМ ДИАГНОСТИКИ

Солидные опухоли внутригрудной локализации. Лабораторный этап

Издание официальное

Москва
Стандартинформ
2020

gost.e-ecolog.ru

Предисловие

1 РАЗРАБОТАН Автономной некоммерческой организацией «Центр инновационных технологий в онкологии» (АНО «ЦИТО»)

2 ВНЕСЕН Техническим комитетом по стандартизации ТК 216 «Диагностика в онкологии»

3 УТВЕРЖДЕН И ВВЕДЕН В ДЕЙСТВИЕ Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 1 июля 2016 г. № 794-ст

4 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

5 ПЕРЕИЗДАНИЕ. Февраль 2020 г.

Правила применения настоящего стандарта установлены в статье 26 Федерального закона от 29 июня 2015 г. № 162-ФЗ «О стандартизации в Российской Федерации». Информация об изменениях к настоящему стандарту публикуется в ежегодном (по состоянию на 1 января текущего года) информационном указателе «Национальные стандарты», а официальный текст изменений и поправок — в ежемесячном информационном указателе «Национальные стандарты». В случае пересмотра (замены) или отмены настоящего стандарта соответствующее уведомление будет опубликовано в ближайшем выпуске ежемесячного информационного указателя «Национальные стандарты». Соответствующая информация, уведомление и тексты размещаются также в информационной системе общего пользования — на официальном сайте Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии в сети Интернет (www.gost.ru)

© Стандартинформ, оформление, 2016, 2020

Настоящий стандарт не может быть полностью или частично воспроизведен, тиражирован и распространен в качестве официального издания без разрешения Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии

Содержание

1 Область применения . . . 1
2 Нормативные ссылки . . . 1
3 Термины, определения и сокращения . . . 2
4 Материал для исследования . . . 3
5 Подготовка и оформление материала . . . 4
6 Пробоподготовка . . . 4
7 Отправка и транспортирование материала в лабораторию . . . 5
8 Лабораторный этап . . . 5
9 Дополнительные исследования . . . 8
Приложение А (рекомендуемое) Правила выполнения трансторакальной пункции . . . 11
Приложение Б (рекомендуемое) Способы получения и обработки материала для цитологического исследования . . . 12
Приложение В (рекомендуемое) Требования к оборудованию и реактивам, используемым для проведения цитологических исследований, в том числе автоматизированных . . . 13
Приложение Г (рекомендуемое) Оценка информативности цитологического препарата . . . 14
Библиография . . . 15

Введение

В настоящем стандарте реализованы основные нормативные положения документов [1], [2].

Стандарт разработан для внедрения в практику здравоохранения унифицированных алгоритмов и методов диагностики опухолей человека с целью оптимизации и систематизации деятельности лечебно-профилактических учреждений и специалистов в области диагностики онкологических заболеваний; для эффективной и своевременной диагностики и индивидуализации лечебной тактики, что повлечет за собой увеличение выживаемости, снижение смертности, повышение качества жизни, будет способствовать масштабной борьбе против рака на глобальном, региональном и национальном уровнях, укреплению системы здравоохранения на всех уровнях; для улучшения доступности диагностики и лечения пациентов, страдающих онкологическими заболеваниями.

Настоящий стандарт может быть использован учреждениями здравоохранения и органами государственной власти при создании нормативных правовых актов.

Лечение опухолей легких является одной из важнейших проблем клинической онкологии. Решающее значение в выборе адекватной лечебной тактики имеет уточнение гистологической формы опухоли и распространенности опухолевого процесса. Морфологический метод является основным методом диагностики онкологических заболеваний, и именно он несет на себе груз ответственности за окончательный диагноз. Цитологический метод[1)] широко используется в диагностике заболеваний различных локализаций.

Введение в повседневную практику современных методов дифференциальной диагностики, таких как иммуноцитохимическое и иммуногистохимическое исследования, флуоресцентная, молекулярно-цитогенетическая диагностика, значительно расширит возможности морфологической диагностики и позволит еще на дооперационном этапе подобрать адекватную тактику лечения. Иммуноцитохимическое исследование в ряде случаев может быть предложено в качестве альтернативы иммуногистохимическому методу, например в тех случаях, когда затруднено или невозможно дооперационное получение материала для гистологического исследования.

Сопоставление результатов определения экспрессии молекулярных маркеров при иммуноцитохимии и иммуногистохимии демонстрирует хорошую корреляцию (совпадение до 96 %).

С появлением жидкостной цитологии, возможности приготовления качественных монослойных препаратов, их стандартизации иммуноцитохимия выходит на совершенно новый уровень. Сведения об использовании жидкостной цитологии в иммуноцитохимическом исследовании в изученной отечественной литературе единичны. Жидкостная цитология по праву занимает важное место среди методов, нацеленных на улучшение качества цитологических препаратов, повышение эффективности цитологической диагностики. Тонкослойные препараты позволяют использовать современные методы автоматизированного скрининга и компьютерные технологии, а также дают возможность проводить молекулярно-биологические исследования.

Для адекватного выполнения диагностических и лечебных мероприятий, правильной интерпретации исследований, а также эффективной синхронизации при взаимодействии с медицинскими работниками любых уровней, лечебных учреждений, специализаций и стран необходимо знание и единое понимание целей, задач, возможностей диагностики, правил организации и алгоритмов ее проведения на всех этапах, единое знание и понимание анатомических, топографических и других медицинских терминов и классификаций, строгая отчетность и систематический контроль качества.

[1)] По данным литературы, чувствительность цитологического исследования (процент выявленных злокачественных новообразований) колеблется в пределах 92,7 % — 97,3 %. Специфичность, которая показывает процент совпадения результатов гистологического и цитологического исследований при различных локализациях и гистологических формах опухолей, — 79,0 % — 99,2 %.

НАЦИОНАЛЬНЫЙ СТАНДАРТ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

Диагностика в онкологии

АЛГОРИТМ ДИАГНОСТИКИ

Солидные опухоли внутригрудной локализации. Лабораторный этап

Diagnostics in oncology. Diagnostics algorithm. Solid intrathoracic tumours. Laboratory stage

Дата введения — 2017—02—01

1 Область применения

Настоящий стандарт разработан как руководство по организации лабораторного этапа диагностики опухолей внутригрудной локализации, в том числе рака легкого, для специалистов в области организации здравоохранения, руководителей лечебно-профилактических учреждений, лабораторий, а также сотрудников гистологических, цитологических, молекулярно-генетических и клинико-диагностических лабораторий, своевременного выявления и постановки полноценного развернутого диагноза, в целях снижения заболеваемости раком и смертности от него, в целях оптимизации и повышения экономической эффективности профилактической работы.

Настоящий стандарт распространяется на процедуры организации онкологической помощи населению, в том числе:

- получение материала для исследования;
- подготовку, доставку материала в лабораторию;
- документальное оформление на всех этапах;
- дополнительные лабораторные исследования, осуществляемые в целях уточнения диагноза, определения чувствительности опухоли к тому или иному виду лечения, гетерогенности опухоли, наличия и степени лечебного патоморфоза и т. д.

Всемирная организация здравоохранения настоятельно рекомендует обратить особое внимание:

- на организацию материально-технического обеспечения и укомплектованность кадрами;
- обеспечение соответствующего профессионального уровня сотрудников путем организации регулярного повышения квалификации для них и контроля качества диагностических мероприятий;
- обеспечение тесного контакта в рамках служебных взаимоотношений между сотрудниками путем организации регулярных встреч для обсуждения профессиональных вопросов и совместного обучения для членов команды вне зависимости от их специализации.

2 Нормативные ссылки

В настоящем стандарте использованы нормативные ссылки на следующие стандарты:

ГОСТ Р 57004 Диагностика в онкологии. Алгоритм диагностики. Шейка матки. Лабораторный этап

ГОСТ Р 57005 Диагностика в онкологии. Скрининг. Рак шейки матки

Примечание — При пользовании настоящим стандартом целесообразно проверить действие ссылочных стандартов в информационной системе общего пользования — на официальном сайте Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии в сети Интернет или по ежегодному информационному указателю «Национальные стандарты», который опубликован по состоянию на 1 января текущего года, и по выпускам ежемесячного информационного указателя «Национальные стандарты» за текущий год. Если заменен ссылочный стандарт, на который дана недатированная ссылка, то рекомендуется использовать действующую

Издание официальное

версию этого стандарта с учетом всех внесенных в данную версию изменений. Если заменен ссылочный стандарт, на который дана датированная ссылка, то рекомендуется использовать версию этого стандарта с указанным выше годом утверждения (принятия). Если после утверждения настоящего стандарта в ссылочный стандарт, на который дана датированная ссылка, внесено изменение, затрагивающее положение, на которое дана ссылка, то это положение рекомендуется применять без учета данного изменения. Если ссылочный стандарт отменен без замены, то положение, в котором дана ссылка на него, рекомендуется применять в части, не затрагивающей эту ссылку.

3 Термины, определения и сокращения

3.1 Термины и определения

В настоящем стандарте применены термины по ГОСТ Р 57004, ГОСТ Р 57005, а также следующие термины с соответствующими определениями:

3.1.1 **биопсия:** Прижизненное иссечение кусочка ткани или органа для микроскопического исследования в диагностических целях.

3.1.2

виала: Контейнер с герметичной крышкой, содержащий транспортную жидкость, предназначенный для хранения и транспортирования клеточного материала.

[ГОСТ Р 57004, статья 2.1.2]

3.1.3

жидкостная цитология: Способ пробоподготовки материала для цитологического исследования, имеющий определенные преимущества по сравнению с классическим методом и предоставляющий более широкие возможности для диагностики.

[ГОСТ Р 57005, статья 3.1.4]

3.1.4

мазок: Препарат, приготавливаемый путем нанесения и равномерного распределения (размазывания) биологического материала.

[ГОСТ Р 57004, статья 2.1.3]

3.1.5

цитологический препарат: Клеточный материал, полученный любым способом, нанесенный на предметное стекло для микроскопического исследования.

[ГОСТ Р 57005, статья 3.1.6]

3.1.6

транспортная жидкость: Специальная жидкость, использующаяся в жидкостной цитологии для сохранения и/или транспортирования материала. Как правило, представляет собой изотонический раствор с консервантами, фиксирующий и предохраняющий клетки от быстрого распада.

[ГОСТ Р 57004, статья 2.1.5]

3.1.7

лаборант цитологической лаборатории; фельдшер-лаборант; цитотехник; цитотехнолог: Специалист со средним специальным медицинским образованием, имеющий соответствующую квалификацию.

[ГОСТ Р 57005, статья 3.1.11]

3.1.8

цитопатолог; цитолог: Специалист, работающий в системе здравоохранения, получивший высшее профессиональное образование, имеющий подготовку или переподготовку по специальности «клиническая лабораторная диагностика», прошедший подготовку по клинической цитологии. Главной функциональной обязанностью является проведение диагностического исследования цитологического материала, результатом которого является цитологическое заключение.

[ГОСТ Р 57005, статья 3.1.12]

3.1.9

ID (identification): Уникальный идентификатор, который присваивается системой каждой отдельной записи или каждому пациенту.
[ГОСТ Р 57004, статья 2.1.8]

3.2 Сокращения

В настоящем стандарте использованы следующие сокращения:
АД — артериальное давление;
ВОЗ — Всемирная организация здравоохранения;
ДНК — дезоксирибонуклеиновая кислота;
ЖЦ — жидкостная цитология;
ИС — информационная система;
ИГХ — иммуногистохимия;
ИМИ — иммуноморфологическое исследование;
ИЦХ — иммуноцитохимия;
КТ — компьютерная томография;
ЛИМС — лабораторная информационная менеджмент-система;
ЛИС — лабораторная информационная система;
ЛПУ — лечебно-профилактическое учреждение;
МКАТ — моноклональные антитела;
МКБ-10 — Международная классификация болезней 10-го пересмотра;
ПЦР — полимеразная цепная реакция;
РЛ — рак легкого;
РНК — рибонуклеиновая кислота;
ТТП — трансторакальная пункция;
УЗИ — ультразвуковое исследование;
ФИО — фамилия имя отчество;
ХОБЛ — хроническая обструктивная болезнь легких;
ЭКГ — электрокардиограмма.

4 Материал для исследования

Для исследования может быть использован материал, полученный любым доступным способом из патологического очага.

4.1 Биопсийный материал

Биопсийный материал используется для гистологического исследования и является наиболее достоверным методом установления диагноза в онкологии, получается путем иссечения кусочка ткани или органа для микроскопического исследования в диагностических целях.

4.2 Цитологический материал

В качестве цитологического материала могут быть использованы:
- отпечаток с биопсийного материала, полученного любым из способов;
- соскоб с биопсийного материала, полученного любым из способов с дальнейшим перенесением материала на предметное стекло в случае использования классических методов пробоподготовки или в транспортную жидкость в случае использования метода ЖЦ;
- смывы, аспираты;
- материал, полученный посредством брашбиопсии;
- пунктаты, в том числе материал, полученный при трансторакальной пункции.

4.2.1 Материал, полученный при бронхоскопии

Сбор материала при бронхоскопии осуществляется различными способами.

4.2.2 Материал, полученный при трансторакальной пункции

Правила сбора материала при трансторакальной пункции для проведения цитологического исследования приведены в приложении А.

4.2.3 Мокрота

Правила сбора мокроты для проведения цитологического исследования приведены в приложении Б.

5 Подготовка и оформление материала

Полученный материал переносится на предметное стекло в случае использования классических методов пробоподготовки или в транспортную жидкость в случае использования метода ЖЦ.

Методы приготовления препаратов, которые будут использоваться в каждом конкретном случае, должны быть заранее четко согласованы между лабораторией и всеми отделениями и прикрепленными ЛПУ, что должно быть отражено в соответствующем документе (приказе по ЛПУ или на уровне органа управления здравоохранением, когда речь идет о централизации исследований и/или прикреплении к лаборатории другого ЛПУ).

Абсолютно недопустимым является:

- использование загрязненных, поврежденных предметных стекол;
- использование для маркировки препаратов стеклографов-карандашей старого образца, маркеров на водяной основе;
- отправка для исследования немаркированного материала;
- отправка материала без сопровождающих документов;
- отсутствие в ЛПУ документально оформленного «прикрепления» к конкретной лаборатории с указанием согласованных взаимных правил и требований, касающихся получения материала, приготовления препаратов, оформления, доставки материала для исследования, сроков доставки, повторных исследований, сроков проведения исследования и предоставления заключений и отчетов, порядка направления пациентов с выявленной патологией для дальнейшего обследования и лечения.

6 Пробоподготовка

6.1 Традиционный (классический) метод

6.1.1 Если лаборатория, в которую отправляется материал, использует методы окраски материала по Паппенгейму, по Лейшману, по Романовскому, то материал необходимо нанести на предметное стекло, стараясь равномерно распределить его по препарату для получения максимально равномерного тонкого слоя (монослоя), воздерживаясь при этом от сильного давления на препарат во избежание раздавливания и/или деформации клеток. Оставить препарат «открытым» для подсушивания.

6.1.2 Маркировать (подписать) препарат, используя простой карандаш (если стекло имеет специально обработанный край), тушь или перманентный маркер.

При маркировке указывается ФИО пациента и/или его ID (в случае, если сотрудник, проводящий забор материала для исследования, и цитологическая лаборатория используют единую информационную систему). Возможно использование штрихкодов и номеров, присваиваемых исследованию информационной системой, если используется штрихкодирование.

В любом случае маркировка должна быть четкой, читаемой, надежно закрепленной на стекле, не смываемой водой.

6.1.3 Обязательно подсушивание во избежание повреждения и/или склеивания при перевозке.

6.2 Метод жидкостной цитологии

6.2.1 Непосредственно после получения материал с каждой отдельной точки забора необходимо поместить в отдельную виалу с транспортной жидкостью и герметично закрыть крышку с целью исключения возможности проливания и испарения содержимого.

6.2.2 Маркировка виал проводится в процедурном кабинете непосредственно после забора биоматериала.

Для маркировки виал необходимо использовать простой карандаш, ручку (при наличии у виалы бумажной этикетки) или перманентный маркер. При маркировке указывается ФИО пациента и/или его ID (в случае, если сотрудник, получающий материал для исследования у пациента, и лаборатория используют единую информационную систему). Возможно использование штрихкодов и номеров, присваиваемых исследованию информационной системой, если используется штрихкодирование. В любом случае маркировка должна быть четкой, читаемой, надежно закрепленной на виале, не смываемой водой.

7 Отправка и транспортирование материала в лабораторию

7.1 Материал, направляемый в лабораторию, сопровождается заполненным направлением на исследование.

7.2 В направлении, прилагаемом к материалу, должна содержаться как минимум следующая информация:

- фамилия, имя, отчество пациента;
- дата рождения;
- номер истории болезни/амбулаторной карты/другой номер, идентифицирующий пациента;
- наименование запрашиваемого исследования (например, «цитологическое исследование мокроты»);
- причина обследования или диагноз;
- количество препаратов или виал с материалом и данные, какой и откуда конкретно (из каких участков) материал в них содержится, в случае штрихкодирования препаратов/виал эта информация указывается в направлении напротив каждого штрихкода;
- дата и время сбора материала;
- фамилия и координаты направившего материал на исследование.

7.3 Направление может быть оформлено в электронном виде при наличии ЛИС и должно давать доступ к указанной информации в рамках прав доступа к информации каждого конкретного медицинского работника.

7.4 Прием материала должен осуществляться ответственным сотрудником лаборатории под расписку с указанием даты и времени доставки. Порядок доставки и приема также должен быть согласован между ЛПУ и лабораторией, что должно быть оформлено документально.

8 Лабораторный этап

8.1 Требования к медицинскому персоналу

8.1.1 Медицинской персонал, осуществляющий диагностику по цитологическим препаратам, должен быть предварительно подготовлен и обучен диагностированию по препаратам, окрашенным по используемой в лаборатории методике.

8.1.2 Сотрудники ЛПУ, отправляющие материал для исследования в конкретную лабораторию, должны знать, какой метод пробоподготовки и окрашивания используется в лаборатории, так как это влияет на выбор способа забора, хранения и транспортирования материала. Это должно быть предварительно согласовано и оговорено в приказе о прикрепленности ЛПУ к конкретной лаборатории. Материал для исследования должен готовиться и транспортироваться в лабораторию с учетом требований метода, используемого лабораторией.

8.1.3 В рамках проведения исследования цитологическая лаборатория осуществляет:

- прием материала;
- регистрацию;
- пробоподготовку;
- проведение исследования;
- оценку результатов исследования;
- формирование заключения или протокола[1)] исследования и рекомендаций;
- решение о необходимости проведения дополнительных методов;
- исследования, а также молекулярно-генетический анализ;
- систематический контроль качества исследований.

В рамках исследования цитологическая лаборатория несет ответственность:

- за ведение документации, в том числе отчетной;
- своевременность и четкость исполнения протоколов исследований;

[1)] Протокол исследования содержит описание макропрепарата, способа пробоподготовки, окраски, оценки информативности (с разъяснениями в случае малоинформативного или неинформативного материала); диагноз или описание цитологической картины (если невозможна постановка конкретного диагноза); время и дату проведенного исследования; должности, фамилии и подписи сотрудников лаборатории, участвовавших в проведении данного исследования.

- соблюдение сроков проведения исследований и выдачи заключений;
- соблюдение сотрудниками норм медицинской этики[1] и деонтологии[2].

8.1.4 Руководитель лаборатории имеет право требовать от вышестоящих руководителей и курирующих организаций содействия в осуществлении действий и мероприятий, производимых и проводимых в рамках диагностики.

8.2 Прием материала в лаборатории

Прием материала в лаборатории осуществляется непосредственно после его доставки.

Сотрудник, отвечающий за этот раздел работ, должен проверить соответствие представленного материала записи о нем в сопровождающем документе.

8.2.1 Лаборатория может отказаться от приема материала в случае, если:

- отсутствует или не оформлена надлежащим образом сопровождающая документация;
- не маркирован материал;
- констатируется нарушение сохранности (целостности, герметичности в случае, если доставляется жидкость) упаковки или предметного стекла;
- очевидно нарушение условий сбора, хранения и/или транспортирования.

8.2.2 Отказ в приеме материала с указанием причины фиксируется в отдельном журнале и заверяется подписями обеих сторон.

8.2.3 Регистрация осуществляется в журнале регистрации материала: в ЛИМС или, при отсутствии ИС, в бумажном журнале регистрации материала.

8.3 Пробоподготовка

8.3.1 Традиционно приготовленные препараты окрашиваются аппаратом для автоматической окраски препаратов с четким соблюдением протокола окрашивания (времени экспозиции в фиксаторах и красителях, срока годности приготовленных реагентов и т. д.). Надлежит использовать один из следующих общепринятых методов: окрашивание по Паппенгейму, по Лейшману, по Романовскому, по Папаниколау.

8.3.2 В случае использования метода ЖЦ препараты окрашиваются по протоколу, установленному производителем для используемого оборудования. Следует обратить внимание на перечень требований к используемому оборудованию и реагентам для жидкостной цитологии (см. приложение В).

8.3.3 Для исследования методом ЖЦ могут быть использованы цитоцентрифуги, однако следует учитывать, что они не обеспечивают ожидаемую от метода ЖЦ автоматизацию и стандартизацию на всех этапах пробоподготовки. Подготовленные соответствующим образом препараты с направлением на исследование передаются сотрудникам, осуществляющим просмотр и оценку материала.

8.4 Микроскопия

8.4.1 Препараты при проведении цитологического исследования традиционно изучаются с использованием световой микроскопии в проходящем свете.

---

[1] Международный кодекс медицинской этики принят 3-й Генеральной ассамблеей Всемирной медицинской ассоциации (Лондон, Великобритания, октябрь 1949 г.), дополнен 22-й Всемирной медицинской ассамблеей (Сидней, Австралия, август 1968 г.) и 35-й Всемирной медицинской ассамблеей (Венеция, Италия, октябрь 1983 г.).

[2] Медицинской деонтологией называется учение о должном поведении медицинских работников, способствующем созданию наиболее благоприятной обстановки для выздоровления больного. Для замены понятия «врачебная этика» хирург Н.Н. Петров в 1944 г. ввел в русский язык термин «медицинская деонтология» (др.-греч. δέον — должное, надлежащее; λόγος — учение), распространив ее принципы на деятельность медицинских сестер.

Медицинская деонтология включает в себя:

- вопросы соблюдения врачебной тайны;
- меры ответственности за жизнь и здоровье больных;
- проблемы взаимоотношений в медицинском сообществе;
- проблемы взаимоотношений с больными и их родственниками;
- правила относительно интимных связей между врачом и пациентом, разработанные Комитетом по этическим и правовым вопросам при Американской медицинской ассоциации.

8.4.2 В зависимости от сделанных после оценки материала выводов, степени детализации цитологического диагноза, информативности материала, при необходимости после согласования с лечащим врачом пациента назначаются ИЦХ-исследования с определенными МКАТ.

8.5 Оценка результатов

8.5.1 Цитологические препараты, приготовленные классическим способом, могут оценивать прошедшие специальную подготовку сотрудники цитологической лаборатории.

8.5.2 Сотрудник допускается к работе по оценке цитологических препаратов только по распоряжению руководителя лаборатории.

8.5.3 Сроки хранения препаратов[1)] с выявленной онкопатологией должны составлять не менее 10 лет (для лабораторий учреждений неонкологического профиля), не менее 25 лет — для учреждений онкологического профиля. Сроки хранения препаратов без патологии (для контроля качества) — не менее 10 рабочих дней.

8.6 Качество исследования

8.6.1 Основные методы контроля качества

8.6.1.1 Периодический быстрый просмотр всех препаратов, в которых не найдено патологических изменений за выбранный период времени.

8.6.1.2 Тщательное изучение 10 % случайно отобранных препаратов, в которых не было выявлено изменений.

8.6.2 Контроль периодически проводит другой цитопатолог или руководитель лаборатории. Данная процедура устанавливается соответствующим документом (приказом или распоряжением) по лаборатории.

8.6.3 Контроль качества обязателен к проведению во всех лабораториях.

8.7 Формирование заключения

8.7.1 После оценки препаратов сотрудник, осуществлявший исследование, формулирует заключение, которое должно содержать:

- оценку информативности препарата;
- собственно заключение;
- рекомендации, если таковые имеются, в том числе по проведению дополнительных исследований.

8.7.2 Заключение должно быть оформлено разборчиво, с заполнением всех граф и должно содержать информацию:

- о лаборатории, в которой проводилось исследование;
- методе исследования;
- использованных методиках пробоподготовки;
- должности исследователя;
- ФИО исследователя.

8.7.3 При наличии полноценно функционирующей ЛИМС в лаборатории формирование заполненного заключения производится автоматически после «подписания» исследователем внесенной в ИС информации.

[1)] Для архивирования препаратов на предметных стеклах в цитологических лабораториях должны быть выделены запирающиеся помещения, обеспеченные достаточным количеством стеллажей (для хранения препаратов в ящиках) или специальных архивных шкафов. Сортировка препаратов в архиве — по датам регистрации материала в лаборатории. Порядок доступа в помещение архива, список сотрудников, которым этот доступ разрешен, а также порядок хранения, учета, выдачи (при наличии письменного запроса), уничтожения по истечении сроков хранения оговариваются в письменном распоряжении зав. лабораторией. При наличии в лаборатории надежно запирающихся металлических архивных шкафов возможно их размещение на территории лаборатории вне отдельно запирающихся помещений.

9 Дополнительные исследования

9.1 Метод иммуноморфологии (иммуногистохимии, иммуноцитохимии)

Врач, выполняющий исследование, должен быть в равной степени компетентен как в традиционной диагностике, так и в ИГХ(ИЦХ)-исследовании.

Решение о проведении ИМИ, равно как и выбор алгоритма исследования, принимается только после выполнения морфологического (цитологического или гистологического) исследования и постановки морфологического диагноза. Это решение морфолог (цитолог/гистолог) должен принимать совместно с клиницистом, определив целесообразность выполнения ИМИ. То есть, если он предполагает возможность различных вариантов ведения пациента, в зависимости от определенного результата ИМИ.

Таким образом, врач должен иметь конкретный и последовательный план не только обследования больного, но и вероятные варианты его лечения в случае получения того или иного морфологического или иммуноморфологического заключения.

Целесообразно в большинстве случаев использовать поэтапный алгоритм ИМИ в зависимости от степени детализации диагноза, полученного при цитологическом или гистологическом исследовании[1)].

ИМИ, выполненное ручным методом, — трудно стандартизируемый процесс[2)], решение об использовании которого должно быть четко согласовано с администрацией ЛПУ.

9.1.1 Основой ИЦХ-метода является иммунологическая реакция антигена и антитела.

9.1.2 Для ИЦХ-исследования, направленного на уточнение диагноза, определение химиорезистентности опухоли или проводимого с другой целью в интересах пациента или в рамках научного исследования, может быть использован нативный цитологический материал только в том случае, когда заранее известно, что в препарате имеется достаточное количество сохранного материала, причем именно того, который является предметом исследования, при условии, что имеющегося информативного материала должно хватить (по мнению ответственного врача) для проведения полноценного исследования с заранее определенным алгоритмом.

Этим требованиям в полной мере могут соответствовать только препараты, приготовленные методом ЖЦ на оборудовании, обеспечивающем хорошее качество и идентичность серии монослойных препаратов.

9.1.3 Принципиальная методика ИЦХ-исследования при отсутствии в лаборатории иммуностейнера следующая:

- фиксация;
- маркированные препараты, приготовленные любым из способов, после замораживания или сразу после приготовления и подсушивания необходимо фиксировать в охлажденном в морозильной камере ацетоне в течение 30 с;
- после фиксации подсушивать в течение 5 с.

В случае если используется препарат, приготовленный классическим (ручным) способом следует обвести исследуемое мини-поле препарата специальным иммуноцитохимическим карандашом для ограничения и визуализации «рабочего поля» препарата и предохранения от растекания реактивов. Процедура ИЦХ-окрашивания выполняется по методике, предлагаемой компанией — производителем реактивов.

Стекла после маркировки и фиксации следует активно промыть в буферном растворе (например, DAKO TBS, pH 7,2—7,6) в течение 10 мин (если иное не установлено производителем реактивов).

[1)] Так, при отсутствии уверенности (по результатам морфологического исследования) в гистогенезе опухоли и одновременно при значимости этой характеристики для дальнейшего ведения пациента целесообразно выполнить исследования, которые позволят получить ответ на этот вопрос. Наличие экспрессии СК 7 и/или СК 20 позволит высказаться о том, что исследуемая опухоль является аденокарциномой. При этом в клетках аденокарциномы легкого экспрессия СК 7 чаще выражена, чем СК 20, а экспрессия СК 20 при отсутствии экспрессии СК 7 с наибольшей вероятностью укажет на метастатический характер аденокарциномы. Чтобы уточнить органную принадлежность этой опухоли, если это существенная информация в конкретной ситуации для определения тактики ведения пациента, может оказаться достаточным проведение исследования с МКАТ TTF-1. TTF-1 положительная экспрессия может наблюдаться в клетках большинства аденокарцином легкого и в клетках опухоли щитовидной железы. Если морфолог не может уверенно исключить принадлежность исследуемой опухоли к щитовидной железе, целесообразно выполнить исследование с МКАТ тиреоглобулином. Положительная экспрессия тиреоглобулина в этом случае укажет на принадлежность опухоли к щитовидной железе. Отрицательная экспрессия — к легкому.

[2)] Иммуноморфологическое исследование — дорогостоящий, длительный, многоэтапный процесс, требующий постоянного присутствия специалиста, со своей спецификой на каждом этапе исследования. Любая неточность в исполнении протокола исследования влечет за собой искажение результатов исследования и делает его бессмысленным.

Для блокирования эндогенной пероксидазы возможно использование свежеприготовленного 3%-ного раствора перекиси водорода в течение 5—10 мин.

Образцы следует активно четырехкратно промыть в буферном растворе в течение 10 мин.

Затем нанести разведенные в соответствии с указаниями фирмы-производителя первичные антитела в объеме 50 мкл на одно мини-поле препарата. Инкубация проводится при комнатной температуре в течение 30—60 мин в герметичной влажной камере (во избежание высыхания реактива), если производителем МКАТ не указано иное. Параллельно ставится один негативный и один позитивный «контроль». Затем препараты активно промываются по 5 мин в четырех сменах буферного раствора.

Систему визуализации необходимо применять согласно прилагаемой к ней инструкции.

Выявление пероксидазной активности следует проводить с использованием специальных реагентов (например, с DAB Chromogen) или иного аналогичного реактива другого производителя. Необходимо трижды промыть препараты в дистиллированной воде. Окрасить гематоксилином Майера в течение 20—30 с. Препараты подсушить, покрыть покровным стеклом (пленкой), после чего они могут быть исследованы.

9.1.4 Оценка ИЦХ реакции проводится на участках препарата с максимальным окрашиванием в среднем на 200 опухолевых клетках, но не менее чем при 100 клетках в препарате.

Необходимо принимать во внимание, что:

- ядерная реакция проявляется интенсивным окрашиванием ядра;
- цитоплазменная реакция — диффузным окрашиванием цитоплазмы или отложением гранул в виде грубых пятен и зерен[1)];
- мембранная реакция — диффузным окрашиванием мембраны.

Реакция считается:

- отрицательной — при полном отсутствии или экспрессии антигена менее чем в 5 % опухолевых клеток;
- слабо положительной — при наличии реакции в 5 % — 25 % клеток;
- положительной — более чем в 26 %;
- выраженной — более чем в 60 % клеток.

При оценке следует принимать во внимание интенсивность и полноту окрашивания клеток.

9.2 Методика иммуноцитохимического исследования при наличии в лаборатории иммуностейнера

ИЦХ при наличии в лаборатории иммуностейнера выполняется по методике, предложенной производителем данного оборудования для ИГХ, но с этапа «демаскировка», если использовалась транспортная или консервирующая жидкость, содержащая формалин, или со следующего за «демаскировкой» этапа, если для сохранения материала формалин или формалинсодержащий консервант не использовался.

9.3 Методика иммуногистохимического исследования

Проведение ИГХ исследования осуществляется в соответствии с инструкцией к оборудованию и используемым реактивам.

Трактовка результатов исследования осуществляется непосредственно врачом, выполнявшим морфологическую (цитологическую или гистологическую) диагностику, или с его участием.

Крайне важно учитывать, что основными остаются традиционные цитологическое и гистологическое исследования и выбор того или иного алгоритма диагностики зависит от результата именно этого исследования.

9.4 Молекулярно-генетические исследования

Под молекулярно-генетическими методами диагностики рака легкого подразумеваются методы выявления качественных и/или количественных изменений на уровне ДНК и РНК с целью предоставления лечащему врачу необходимой для лечения пациента информации.

[1)] Цитоплазменную реакцию дают белок S-100, виментин, десмин, тиреоглобулин, кальцитонин, цитокератины, CD-45, PSA и HBME-1. Отложение гранул в виде грубых пятен и зерен в цитоплазме более характерно для хромогранина А, синаптофизина и HMB-45. Мембранное окрашивание наблюдается при проведении реакции с онкопротеином C-erb, B-2 и ЭМА.

Примерами молекулярно-генетических исследований являются выявление активирующих мутаций гена EGFR, транслокаций с участием гена ALK в образцах опухолевой ткани.

9.4.1 Целесообразно располагать лабораторию, проводящую молекулярно-генетические исследования (ПЦР, методы «in situ» гибридизации, секвенирование нуклеиновых кислот), в составе цитологической (морфологической) лаборатории.

9.4.2 Лаборатория, работающая с выделением и анализом нуклеиновых кислот, должна руководствоваться правилами [3] с учетом специфики используемых методов, оборудования и реагентов.

9.4.3 В качестве источника материала для выделения ДНК для молекулярно-генетического анализа могут быть использованы:

- гистологические препараты (материал на предметном стекле);
- блоки;
- цитологические препараты (материал на предметном стекле);
- цитоблоки;
- цитологический материал в транспортной (консервирующей) жидкости с клеточной взвесью из виалы, оставшейся после приготовления цитологических препаратов.

9.4.4 При направлении на молекулярно-генетическое исследование специалист-морфолог (цитолог/гистолог) в заключении должен указать количество опухолевых клеток в препарате в среднем и предпочтительный для исследования препарат. На препарате при необходимости рекомендуется обвести исследуемое мини-поле препарата маркером (на обратной стороне предметного стекла).

При наличии выбора (если имеется несколько идентичных препаратов) следует отдавать предпочтение препаратам, содержащим большее количество опухолевых клеток. Рекомендуется официально запрашивать эту информацию у специалиста-морфолога.

9.4.5 Покровное стекло или пленку (при наличии таковых) перед забором материала для молекулярно-генетического исследования следует удалить[1)]. Каждое стекло должно быть отдельно промаркировано, а при необходимости отправки в другое ЛПУ помещено в отдельную одноразовую упаковку (фольга, крафт-бумага, полиэтиленовый пакет).

9.5 Формирование итогового заключения

При наличии разногласий в трактовке результатов проведенных исследований итоговое заключение должно обсуждаться и формулироваться коллегиально всеми специалистами, принимавшими участие в исследовании.

При невозможности формирования единого мнения в заключении указывается дифференциальный диагноз с описанием особенностей препарата.

В заключении также указываются методы, методики, оборудование и материалы, использовавшиеся при исследовании.

В заключении может быть указано «особое»[2)] мнение, если таковое имеется.

9.6 Контроль качества

В лаборатории должен проводиться текущий контроль качества проводимых исследований с использованием контрольных образцов и внутреннего контроля, в том числе предусмотренных тест-системами. В случае выявления молекулярно-генетических нарушений оставшийся после исследования биоматериал (стекла с микропрепаратами, суспензия клеток, биоптаты, выделенная ДНК) сохраняется в архиве.

Желательно прохождение внешнего контроля качества (отечественные или зарубежные программы внешней оценки качества).

[1)] Для этого препарат замачивается в ксилоле до полного отделения пленки или покровного стекла (обычно это занимает до 48 ч). Затем на 5 мин стекла с препаратом погружаются в свежий ксилол для удаления остатков клеящего вещества, после чего стекла погружаются на 5 мин в 95%-ный этанол для удаления ксилола. Далее стекла следует высушить на воздухе. Работы с ксилолом должны проводиться под вытяжкой.

[2)] Мнение одного специалиста, не согласного с решением, принятым большинством.

Приложение А
(рекомендуемое)

Правила выполнения трансторакальной пункции

А.1 Общие положения

Трансторакальная пункция обладает большими диагностическими возможностями. Информативность метода достигает 70,0 % — 95,0 %[1)] и применяется при периферическом раке легкого[2)].

А.1.1 Существуют два варианта трансторакальной игловой биопсии: один из них предусматривает производство процедуры тонкой иглой с мандреном и получение материала из опухоли путем аспирации. Эта методика трансторакальной аспирационной цитобиопсии дает материал для цитологического исследования. Трансторакальная пункционная биопсия, при которой применяются иглы различной конструкции, позволяющие извлечь из патологического очага кусочек ткани, используется при получении материала для гистологического исследования.

А.1.2 Прежде всего необходимо оценить степень оснащенности рабочего места для проведения хирургом ТТП и возможность выполнения срочных реанимационных мероприятий в случае развития осложнений, а также возможность экстренного дренирования и рентгенологического контроля.

А.1.3 Лечащий врач/торакальный хирург в соответствии с результатами проведенного обследования определяет целесообразность выполнения ТТП и возможность морфологической верификации диагноза по материалу, полученному с помощью ТТП. Исследование проводится в случае, если предполагается проведение того или иного вида лечения (в зависимости от полученного морфологического заключения) или с исследовательской целью.

Таким образом, врач должен иметь конкретный и последовательный план не только обследования больного, но и вероятные варианты его лечения в случае получения того или иного морфологического заключения, а также определить показания и противопоказания для выбора метода диагностики и степени риска развития возможных осложнений.

А.1.4 Алгоритм подготовки к трансторакальной пункции:

- определение показаний;
- сбор аллергоанамнеза;
- назначение ЭКГ за 1—2 дня до процедуры;
- в случае приема пациентом кардиотропных и гипотензивных препаратов — назначение обязательного их приема в день пункции;
- отмена антикоагулянтов (при их приеме) за 2—3 дня до процедуры;
- измерение АД непосредственно перед манипуляцией.

А.2 Методика выполнения трансторакальной пункции

А.2.1 Выполнить навигацию на опухолевый очаг в легком. Произвести маркировку операционного поля.

А.2.2 Обработать кожу раствором 70%-ного спирта.

А.2.3 Осуществить местную проводниковую анестезию раствором лидокаина 2 % или раствора новокаина 5 %. Количество анестетика определяется в каждом случае индивидуально.

А.2.4 Произвести манипуляцию специальными иглами (пункционными или биопсийными) под контролем навигационного оборудования. Убедившись в том, что игла находится в опухоли, необходимо зафиксировать ограничитель иглы над поверхностью кожи (это не допускает более глубокого прохождения иглы вглубь, таким образом уменьшая риск развития осложнений).

А.2.5 Произвести забор материала с использованием шприца объемом 20 мл (для аспирации) или биопсийного аппарата для получения гистологического материала.

А.2.6 Извлечь иглу аккуратно по траектории введения.

А.2.7 Выполнить рентген-контроль на месте.

А.2.8 Обработать кожу раствором антисептика, наложить асептическую повязку.

А.2.9 Направить в лабораторию полученный материал с описанием подробного анамнеза и клинико-рентгенологической картины пациента, а также указанием предварительного диагноза. Материал для цитологического исследования должен быть помещен в транспортную жидкость с учетом обязательного применения ЖЦ- и ИЦХ-исследования.

А.2.10 Определить тактику лечения пациента в соответствии с полученными результатами морфологического исследования и информации о степени распространенности опухолевого процесса.

[1)] Первые сведения о применении диагностической трансторакальной пункции относятся к 1901 г., когда Е.А. Сегалова указала, что пункция тонкой иглой патологического образования может быть использована в качестве диагностического приема.

[2)] Периферический рак легкого — опухоль, развивающаяся из эпителия бронхов IV–VI порядка. Наиболее часто локализацией в легком является верхняя доля (70 %), нередко с полостью распада в центре. Эта анатомическая форма рака легкого сложна для морфологической верификации диагноза, так как чаще всего недостижима для бронхоскопического аппарата. В таких случаях применяется малоинвазивный хирургический метод — трансторакальная пункция.

Приложение Б
(рекомендуемое)

Способы получения и обработки материала для цитологического исследования

Б.1 Одним из необходимых условий успеха в проведении анализа мокроты для выявления в ней клеток опухоли является своевременная ее обработка. От момента получения до исследования должно пройти не более 4 ч. Гнойную мокроту необходимо исследовать немедленно.

Б.2 Мокроту собирают утром, сразу после пробуждения, до еды, приема препаратов и чистки зубов, предварительно аккуратно прополоскав полость рта чистой водой.

Б.3 В соответствии с клиническими данными врач должен объяснить больному технику и цель сбора мокроты. Пациент должен надсадно откашляться и собрать полученную мокроту в специально выданную ему закрывающуюся крышкой емкость.

В отдельных случаях, согласно клиническим данным, врач должен заставить больного покашлять и собрать мокроту спустя некоторое время после специально приданного ему положения на постели. Иногда это будет положение сидя с соответствующим наклоном, иногда лежа на здоровом боку. Это мероприятие имеет целью обеспечить сток мокроты из подозреваемого участка бронхиального дерева.

Б.4 В случае отрицательного результата анализа требуется направлять мокроту на исследование повторно не менее пяти раз. Если и пятикратное исследование не принесет подтверждения диагноза рака легкого, исследование нужно повторять в зависимости от степени уверенности врача в этом диагнозе, создавшейся на основе остальных данных клинического наблюдения.

Б.5 Полученный материал направляется в лабораторию в сопровождении заполненного направления.

Б.6 Мокрота после обычного осмотра и описания ее физических свойств помещается в чашки Петри, устанавливаемые последовательно на белый и черный фон (клеенка, бумага) для лучшей визуализации различных включений.

Системный просмотр мокроты в тонком слое позволяет выбрать для приготовления цитологических препаратов участки, с наибольшей вероятностью содержащие элементы опухоли, и поместить их на предметные стекла с помощью препаровальных игл или других инструментов. На одно стекло переносится до 10 подозрительных участков мокроты. Отбор и перенос на стекло следует проводить без промедлений во избежание подсыхания материала. На стекле мокрота распределяется растягиванием слизи до тонкого слоя (иглами и шпателем)[1)].

Б.7 Далее препараты готовятся по общей методике. Из одной порции мокроты готовится, как правило, не более пяти препаратов. Возможно приготовление большего количества препаратов, если лаборатория окрашивает часть из них по Цилю — Нильсону (с целью выявления бацилл Коха).

При использовании лабораторией метода ЖЦ полученная мокрота помещается в виалу с транспортной жидкостью. Далее препараты готовятся по общей методике для ЖЦ.

[1)] Наиболее ценными в этом смысле являются: беловато-серая уплотненная и сформированная в виде тонких, коротких ниточек слизь, беловато-сероватые участки слизи, примыкающие или лежащие поблизости от кровяных прожилок, а также непрозрачные сероватые округлой или овальной формы частицы, выделяющиеся на черном фоне и не меняющие своей формы при растягивании окружающей их слизи (гноя). В случае затруднений разбора при компактной гнойной мокроте следует в чашку Петри добавить небольшое количество (2—3 мл) физиологического раствора; этим выбор материала облегчается.

Приложение В
(рекомендуемое)

Требования к оборудованию и реактивам, используемым для проведения цитологических исследований, в том числе автоматизированных

В.1 Общие требования

В.1.1 На все аппаратные средства, принадлежности, реагенты и расходные материалы комплекса для изготовления и окраски цитологических препаратов должны иметься регистрационные удостоверения Федеральной службы по надзору в сфере здравоохранения и социального развития.

В.1.2 К оборудованию в обязательном порядке должны прилагаться инструкция на русском языке и подробное руководство пользователя.

В.1.3 Все компоненты оборудования должны быть совместимы.

В.2 Технология взятия и доставки биологического материала должна предоставлять возможность использования без потерь всего биологического материала, взятого у пациента.

В.3 Технология приготовления препаратов должна обеспечивать получение монослоя клеток и идентичность препаратов в серии.

В.4 Технология окрашивания должна обеспечивать устойчивый результат при соблюдении требований инструкций к оборудованию и реактивам.

В.5 Предпочтения отдаются оборудованию, позволяющему максимально автоматизировать процесс, минимизировать влияние человеческого фактора на результат и оптимизировать деятельность лаборатории.

Приложение Г
(рекомендуемое)

Оценка информативности цитологического препарата

Г.1 Информативным можно считать препарат, в котором имеется не менее 100 сохранившихся и хорошо визуализируемых клеток.

Г.1.1 Информативность препаратов — это соответствие требованиям к необходимому количеству визуализируемых сохранных клеток для надежной оценки при цитологическом исследовании. От информативности зависят возможность и надежность выявления патологических изменений, чувствительность, специфичность и точность исследования.

Г.1.2 В классической цитологии информативность препарата зависит в том числе от качества получения материала, приготовления препарата врачом, получившим материал, содержащихся в препарате крови масс клеточного детрита и прочих элементов, затрудняющих визуализацию. Минимальные требования к количеству хорошо сохранившихся и хорошо визуализирущихся опухолевых клеток — не менее 100 в препарате.

Г.1.2.1 Минимальные требования к количеству хорошо сохранившихся и хорошо визуализирущихся опухолевых клеток методом ЖЦ со временем могут быть изменены в сторону снижения.

Г.1.3 В некоторых случаях и скудного образца может быть достаточно для того, чтобы уверенно предположить наличие конкретного патологического процесса, но его может быть недостаточно для того, чтобы получить безапелляционное заключение.

Г.1.4 Скудные препараты и препараты, в которых не выявлена патология, не должны направляться на дополнительные исследования.

Г.2 Информативность материала

Г.2.1 Неинформативный материал

Образец должен считаться неинформативным, если:

- материал был взят ненадлежащим образом;
- отсутствует маркировка или она не соответствует информации в сопровождающей документации;
- нарушены правила оформления, транспортирования и/или доставки материала.

Материал не может быть представлен как неинформативный, если он содержит какие-либо доказательства наличия пограничных или опухолевых изменений.

Г.2.2 Малоинформативный материал

Образец должен считаться малоинформативным, если:

- препарат содержит менее 100 четко визуализируемых эпителиальных клеток;
- препарат содержит крайне малое количество клеток, однако в имеющемся материале присутствуют все же какие-либо доказательства наличия пограничных либо опухолевых изменений или, несмотря на малое количество материала, у исследователя возникает предположение о наличии опухоли;
- визуализация диагностически ценных клеток затруднена из-за значительной примеси крови, масс клеточного детрита и прочих элементов.

Библиография

[1] Патология и генетика опухолей легкого, плевры, тимуса и сердца (Международная классификация опухолей) [Pathology and Genetics of Tumours of the Lung, Pleura, Thymus and Heart (IARC WHO Classification of Tumours)]

[2] Международная статистическая классификация болезней и проблем, связанных со здоровьем

[3] МУ 1.3.2569—09 Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I—IV групп патогенности

УДК 616-006-072/-079:618.146(083.74) ОКС 03.040, 11.040.01, 11.100.01

Ключевые слова: диагностика в онкологии, алгоритм диагностики, солидные опухоли внутригрудной локализации, рак легкого, лабораторный этап, трансторакальная пункция

Редактор переиздания *О.В. Рябиничева*
Технические редакторы *В.Н. Прусакова, И.Е. Черепкова*
Корректор *Е.Р. Ароян*
Компьютерная верстка *Ю.В. Поповой*

Сдано в набор 20.02.2020. Подписано в печать 06.04.2020. Формат 60 × 84 1/8. Гарнитура Ариал.
Усл. печ. л. 2,33. Уч.-изд. л. 2,11.

Подготовлено на основе электронной версии, предоставленной разработчиком стандарта

ИД «Юриспруденция», 115419, Москва, ул. Орджоникидзе, 11.
gost.e-ecolog.ru gost.e-ecolog.ru

Создано в единичном исполнении во ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ»
для комплектования Федерального информационного фонда стандартов,
117418 Москва, Нахимовский пр-т, д. 31, к. 2.
gost.e-ecolog.ru gost.e-ecolog.ru

gost.e-ecolog.ru