

Инструкция по применению на

набор растворов **Цитоскрин** для транспортировки, хранения и приготовления цитологических микропрепаратов по ТУ 9398-071-56564447-2015

Дата утверждения инструкции: 01.08.2015.

Производитель: ООО «Хоспитекс Диагностикс», 121351 г. Москва, ул. Коцубинского, д.4, тел. +7 495 6460505, эл. почта: hospitex@hospitex.ru, web: hospitex.ru.

Рекламации направлять: эл. почта: hospitex@hospitex.ru, почтовый адрес: 121552, г. Москва, а/я 43.

Консультации по вопросам применения или заказа набора: тел. +7 495 6460505, эл. почта: hospitex@hospitex.ru

Содержание:

1. Назначение
2. Характеристики набора
3. Аналитические характеристики
4. Меры предосторожности при работе с набором
5. Оборудование и материалы, необходимые для работы с набором
6. Взятие биоматериала для анализа
7. Приготовление цитологического микропрепарата для анализа
8. Анализ микропрепарата
9. Представление результатов анализа
10. Условия хранения, транспортировки и применения набора, утилизация

1. Назначение.

Набор растворов **ЦИТОСКРИН** для транспортировки, хранения и приготовления цитологических микропрепаратов по ТУ 9398-071-56564447-2015 предназначен для консервации (с целью транспортировки и хранения), очищения (фильтрации), фиксации цервикальных цитологических микропрепаратов (клеток, отобранных из цервикального канала и со стенок влагалища для последующего цитологического исследования). Сокращённое наименование: «Цитоскрин».

Набор предназначен только для профессионального применения в «in vitro» диагностике при скрининге рака шейки матки (или других патологий матки) методом жидкостной цитологии.

Условия применения – клинико-диагностические лаборатории медицинских учреждений и лаборатории научно-исследовательских институтов.

Набор позволяет:

- Сохранять и транспортировать собранный для исследования материал до 24 месяцев при температуре 2/30°C;
- Очистить (при необходимости) клетки от крови, слизи и других компонентов, затрудняющих врачу-цитологу проводить цитологическое исследование;
- Приготовить и зафиксировать тонкослойный (монослойный) цитологический микропрепарат для последующих окраски по методу Папаниколау (или другому), заключения и микроскопирования.

2. Характеристики набора

В состав набора входит 3 раствора:

1. **консервант** - консервирующая жидкость (прозрачная бесцветная), используемая для транспортировки и хранения цервикальных цитологических микропрепаратов (клеток, отобранных из цервикального канала и со стенок влагалища для последующего цитологического исследования). Упаковка: картонная коробка, содержащая 6 флаконов по 20 мл. Состав: Вода деионизированная – 74...75%, Этанол высшей очистки – 24%, Формальдегид – 0,5...1%, Хлорид натрия - 0,5...1%.

2. **фильтр** - прозрачная бесцветная жидкость для очищения (фильтрации) целых клеток цервикального канала от эритроцитов, слизи, клеточных остатков и др.). Упаковка: пластиковая бутылка 0,5 л. Состав:

Вода деионизированная – 80%, Крахмал воднорастворимый - <19...19,5%, Азид натрия – 0,5...1%.

3. **фиксатор** - прозрачная бесцветная жидкость для фиксации полученного микропрепарата на покровном стекле. Упаковка: пластиковая бутылка 0,5 л. Состав:

Вода деионизированная – 74%, Этанол высшей очистки – 24%, Полиэтиленоксид - 2%.

Комплектация набора:

Консервант 6х20мл – 40 уп.

Фильтр 0,5л – 2 б.

Фиксатор 0,5л – 16.

Набор рассчитан на 240 тестов.

Набор предназначен для приготовления препаратов для микроскопирования методом жидкостной цитологии. Клетки цервикального канала, взятые у пациента специальным инструментом, помещаются во флакон с раствором консервант (одно исследование – один тест) и транспортируются в лабораторию. Далее клетки очищаются от крови, слизи, сгустков и пр. при помощи раствора фильтр (при необходимости), очищенные клетки укладываются на предметное стекло в монослой и фиксируются для последующей окраски (метод Папаниколау или другой), заключения и анализа под микроскопом.

3. Аналитические характеристики*

Чувствительность жидкостного цитологического метода в диагностике всех плоскоклеточных интраэпителиальных поражений (ПИП) составляет 74,4% (по другим источникам 71,4 – 95 % [2]), а в идентификации плоскоклеточных интраэпителиальных поражений высокой степени (В-ПИП) - 89,0%. Специфичность жидкостного теста в выявлении ПИП в целом - 65,0% (по другим источникам 58 – 76,2 % [2]) , В-ПИП - 86,0% (порог чувствительности - «атипичные плоские клетки неопределенного значения» - ASC-US по системе отчетности Бетесда, 2004 г.)[1]

Примечание:* Следует понимать, что приведенные данные по аналитическим характеристикам относятся не к самому набору Цитоскрин, а к методу «жидкостная цитология» в целом. Результат анализа является совокупностью действий врача-гинеколога на преаналитическом этапе (взятие материала), приготовлением микропрепарата и его анализом (субъективным) врачом – цитологом. В каждом конкретном случае цепочка взаимодействий «взятие-пробоподготовка-анализ» может приносить отличные от указанных значения чувствительности и специфичности метода. Для повышения этих характеристик лаборатории рекомендовано организовать внутренний контроль качества и участвовать во внешнем контроле качества (ФСВОК).

4. Меры предосторожности при работе с набором

При работе с набором персонал должен соблюдать требования «Правил устройства, техники безопасности, производственной санитарии, противоэпидемиологического режима и личной гигиены при работе в лабораториях (отделениях, отделах) санитарно-эпидемиологических учреждений системы Министерства здравоохранения СССР», Москва 1981 г. и ГОСТ Р 52905.

Набор Цитоскрин спроектирован таким образом, чтобы максимально обезопасить персонал лаборатории от вредных воздействий, тем не менее следует соблюдать необходимые меры предосторожности:

- все работы с работы с растворами и материалом должны вестись в хорошо проветриваемых помещениях, в защитной одежде и перчатках. Весь биоматериал и растворы с биоматериалом считаются потенциально биологически опасными;

- растворы *консервант* и *фиксатор* содержат в своём составе этанол, поэтому емкости с этими растворами необходимо держать по возможности плотно закрытыми во избежание выпаривания этанола;

- раствор *консервант* содержит в своём составе формальдегид (0,5-1%), раствор *фильтр* содержит в своём составе азид натрия (0,5-1%), пролитый раствор убирают с помощью песка или опилок, затем загрязненную поверхность промывают водой, при попадании средства на кожу смыть его большим количеством воды, при попадании средства в глаза немедленно промыть их под струей проточной воды в течение 10-15 минут, при появлении гиперемии закапать 30% раствор сульфацила натрия, при проглатывании – немедленно выпить большое количество воды и вызвать рвоту, при необходимости обратиться к врачу;

- все растворы, содержащие биоматериал, должны быть утилизированы как отходы класса Б по СанПиН 2.1.7.2790-10, места случайного пролития растворов должны быть продезинфицированы 1 %-ным раствором моноклорамина Х;

- все подготовительные работы с растворами, включая раскапывание, сушку и последующее окрашивание, желательно производить в вытяжных шкафах или боксах.

5. Оборудование и материалы, необходимые для работы с набором

Оборудование и расходные материалы, необходимые для приготовления и исследования цитологического микропрепарата.

Для работы с набором растворов Цитоскрин потребуется следующее оборудование*:

- миксер лабораторный Скринмикс

- центрифуга медицинская лабораторная 6/4000

- оборудование для окраски по методу Папаниколау (или другому)

- дозатор 0-5мл.

- микроскоп Микроскрин вер.002

Дополнительно требуются следующие расходные материалы:

- инструмент для взятия материала из цервикального канала: одноразовые стерильные щетки Cervix brush, Cyto brush или комбинированные;
 - тампон для удаления слизи из цервикального канала
 - набор для окраски мазков по Папаниколау (или другому методу)
 - дистиллированная вода
 - пробики с полукруглым или коническим дном 6 мл
 - одноразовые нестерильные пипетки Пастера 2 мл
 - предметное стекло 25х75х1,2 мм с покрытием поли-L-лизином
 - покровное стекло тонкое 20х20мм
 - водорастворимая среда для заключения гистологических и цитологических препаратов (Витрогель или аналог)
- *Примечание: возможно использование другого оборудования с аналогичными техническими характеристиками.

6. Взятие биоматериала для анализа

Материал из шейки матки для цитологического исследования берется в гинекологическом кабинете гинекологом или акушеркой.

Мазок не следует брать:

- ранее 48 часов после полового контакта;
- во время менструации;
- в период лечения генитальной инфекции;
- ранее 48 часов после использования свечей и других веществ, содержащих жир, раствора уксуса или Люголя, тампонов или спермицидов;
- после вагинального исследования или спринцевания.

Осмотр шейки матки производят в зеркалах, слизь осторожно убирают, после чего осуществляют забор материала.

Материал забирают цитощеткой (Cervex Brush или другой щеткой такого же типа) из цервикального канала, зоны трансформации и поверхности шейки матки или отдельно инструментами для получения материала из эктоцервикса и эндоцервикса. В цервикальном канале необходимо производить 4-5 вращательных движений цитощеткой. Цитошетка помещается во флакон с *консервантом*, ополаскивается в трех направлениях: вращательным движением, вверх вниз, и в горизонтальном направлении. Затем снимается наконечник цитощетки и оставляется во флаконе с *консервантом*. Флакон плотно закрывается, маркируется идентификатором пациента и отправляется в лабораторию.

Собранный материал может храниться в температуре +2÷+30°C в течении 24 месяцев.

7. Приготовление цитологического микропрепарата для анализа

7.1 Встряхивание

Флаконы с материалом разместите на ~~шейкере~~ миксере и включите режим встряхивания. Для качественного сброса взятых клеток со щётки необходимо встряхивать флакон 10-20 минут.

7.2. Фильтрация

Если после встряхивания в содержимом флакона видны остатки крови, сгустки, слизь, то взятый материал необходимо отфильтровать при помощи раствора *фильтр*.

Для этого в пробирку при помощи дозатора влейте 4мл раствора *фильтр*, пипеткой Пастера отберите из флакона 2 мл взятого материала и осторожно, по стенке пробирки, влейте его поверх *фильтра*. Важно: *консервант* с материалом и *фильтр* не должны перемешиваться, *консервант* находится поверх *фильтра*! Установите пробирку в центрифугу и отцентрифугируйте при скорости 1120 об./мин. (200g) в течении 2 минут. Осторожно выньте пробирку из центрифуги (старайтесь не взбалтывать), отберите пипеткой Пастера 2 мл очищенной взвеси клеток со дна пробирки и влейте их в подготовленную согласно инструкции на центрифугу цитокамеру.

4.3 Подготовка монослойного препарата

Внесите при помощи пипетки Пастера в собранную по инструкции к центрифуге цитокамеру 2 мл клеточной взвеси из флакона или пробирки. Добавьте 1 мл раствора *фиксатор* и 3 мл дистиллированной воды, перемешайте. Установите цитокамеру в сборе в центрифугу и центрифугируйте про скорости 2000 об./мин. (635g) в течении 2 минут. После центрифугирования достаньте цитокамеру, слейте жидкость из цитокамеры в ёмкость для биоотходов с дезинфицирующим раствором, перевернув её и стряхнув. Поставьте цитокамеру на салфетку в перевернутом виде. Дайте стечь остаткам жидкости в течении 1 минуты, затем осторожно разберите цитокамеру, выньте стекло с нанесёнными на него клетками и оставьте сушить на салфетке.

4.4 Окраска

Окрасьте полученный микропрепарат согласно инструкции к набору для окраски.

Заклучите окрашенный препарат под покровное стекло при помощи капли Витрогель.

Полученный микропрепарат готов к исследованию под микроскопом.

4.5 Неадекватный препарат*

В случае, если на стекле оказалось недостаточно клеток для постановки диагноза, после встряхивания дайте флакону с материалом остояться в течении 10 минут, затем повторите всю процедуру начиная с пункта 3.2, но взяв материал из флакона с *консервантом* со дна (там, где концентрация клеток больше).

Примечание: * для оценки адекватности полученного микропрепарата рекомендуется использовать контрольные материалы системы внешнего контроля качества ФСВОК. Стандартизация в цитологии остается на сегодняшний день важной и трудной проблемой. Лабораторные цитологические методы имеют свои особенности, являясь преимущественно морфологическими методами, которые в отличие от классических лабораторных методов носят описательный характер. Качество цитологического анализа зависит от многих факторов; в их числе способ получения материала, локализация патологического очага, особенности гистологического строения опухоли, метод исследования. Кроме того, установление цитологического диагноза зависит от субъективного фактора: квалификация и практический опыт цитолога, способность оценить различные цитологические признаки [3].

8. Анализ микропрепарата

Выполняют двухступенчатый просмотр микропрепаратов. Первый этап осуществляет цитотехнолог с помощью обычной световой микроскопии или с использованием специальных автоматизированных систем. При выявлении отклонений от нормы (обнаружении патологически измененных клеток) проводят второй этап – просмотр и анализ препарата врачом (цитологом, цитопатологом).

Микроскопическое изучение мазка.

Целью микроскопического исследования цитологических препаратов является: оценка качества цитологического материала, определение характера поражения шейки матки в соответствии с общепринятой системой отчетности, в том числе и по системе Бетесда («Системы отчетности Бетесда для цитологического исследования шейки матки. Определения, критерии и пояснительные примечания. 2004»).

1 этап – выполняется цитотехнологом оценка качества препарата. Неправильно взятый для исследования материал, недостатки его маркировки, неудовлетворительно приготовленные, плохо фиксированные и неправильно окрашенные мазки не дают объективной информации о нормальном состоянии или патологическом процессе в шейке матки. В таких случаях дается заключение о цитологическом препарате неудовлетворительного качества (с указанием причины: обилие клеток воспалительного ряда, недостаточное количество клеток в мазке, не маркированный материал и т.д.).

Цитологический препарат, отвечающий требованиям стандарта, принятого в соответствии с системой отчетности Бетесда (2004) для цитологического исследования материала из шейки матки, считается адекватным.

Для жидкостной цитологии адекватным считается мазок, содержащий 5 тыс. клеток многослойного плоского эпителия (включая клетки метаплазированного эпителия). Количество клеток эндоцервикального эпителия и/или метаплазированного эпителия (из «зоны трансформации») должно быть не менее 10 клеток (одиночных или в кластерах). Это правило не распространяется на препараты, по которым можно четко установить наличие HSIL или рака. Если более 75% клеток многослойного плоского эпителия покрыто эритроцитами, лейкоцитами и т.д., то качество мазка считается неудовлетворительным и цитопрепарат должен быть сделан заново (см. п.7)

Цитотехнолог дает заключение о норме, воспалении с описанием патогеной или условно-патогенной микрофлоры.

2 этап – оценка цитологической картины препаратов, отобранных цитотехнологом для диагностического исследования, а также у женщин в период постменопаузы, формирование стандартного (стандартизованного) заключения.[4]

9. Представление результатов анализа

Стандартизованное заключение включает следующие рубрики:

Метод приготовления мазка: жидкостная цитология

Источник: шейка матки

Качество материала: удовлетворительного качества или неудовлетворительного качества (указать причину).

Цитологический диагноз оформляется в соответствии с действующей классификацией. Результаты цитологического исследования гинекологического мазка отражаются в виде стандартных формализованных цитологических заключений или модифицированных для цитологического скрининга форм бланков (форма № 446у-02, утвержденная приказом МЗ России от 24.04.2003 №174)[4]

10. Условия хранения, транспортировки и применения набора, утилизация

Гарантийный срок годности растворов составляет 2 года при соблюдении условий хранения и транспортировки и указан на этикетке. После первого вскрытия упаковки растворы сохраняют свои свойства до окончания срока годности, указанного на упаковке при условии соблюдения условий хранения. Раствор-фильтр после вскрытия рекомендуется хранить в холодильнике при температуре 2/8°C плотно закрытым.

Взятый материал может сохраняться в консерванте в течение 24 месяцев при температуре +2÷+30°C, но не более срока годности консерванта. Оставшийся после подготовки микропрепарата материал может быть направлен на дальнейшее исследование на содержание и типирование ВПЧ методом ПЦР анализа и иммуноцитохимическое исследование на экспрессию белков p16ink4a и ki-67 или ProExC.[5]

Условия хранения: при температуре от 2°C до 30°C и относительной влажности воздуха от 50 до 80 % на расстоянии не менее 1 м от нагревательных приборов в условиях, исключающих действие агрессивных сред, а также легковоспламеняющихся и горючих жидкостей. Контакт с пищевыми продуктами не допускается. По истечении срока годности и при повреждении упаковки набор использованию не подлежит.

Условия транспортирования: при температуре от 0 до плюс 50 °C и относительной влажности воздуха до 98 % при 25 °C.

Дезинфекция и утилизация использованных растворов должны производиться в соответствии с действующими СанПиН 2.1.7.2790-10 по отношению к отходам класса Б. Неиспользованные до окончания срока годности растворы и упаковки, упаковка которых была повреждена во время транспортировки, должны быть уничтожены раздавливанием внутренней упаковки с последующим разведением водой 1:100, сливом раствора в канализацию и вывозом остатков упаковки как производственный или бытовой мусор.

Литература:

1. Ю.Ю.Чепурная «Клиническое значение жидкостной цитологии в диагностике заболеваний шейки матки», диссертация, 2004г.;
2. В.А.Амелюшкина «Новая технология для стандартизированного приготовления цитологических препаратов», «Лабораторная медицина» №6, 2003г.;
3. Качество клинических лабораторных исследований. (под редакцией Меньшикова В.В.) Москва 2002 г.;
4. Воробьев С.Л., Иванова Т.М., Костючек И.Н, Новик В.И., Славнова Е.Н., Трошин В.П., Шабалова И.П. «Цитологический скрининг рака шейки матки», Москва, 2013г.
5. Костючек И.Н. «Алгоритм морфологической диагностики заболеваний шейки матки», справочник заведующего КДЛ, №4, 2013