

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ



МЕТОД ДИАГНОСТИКИ ХРОНИЧЕСКОГО ЭНДОМЕТРИТА

инструкция по применению

УЧРЕЖДЕНИЕ-РАЗРАБОТЧИК:

Учреждение образования

«Гомельский государственный медицинский университет»

АВТОРЫ: к.м.н., доцент Лызикова Ю.А., к.м.н., доцент Воропаев Е.В.,
к.м.н. Рублевская Е.И., Осипкина О.В., Зиновкин Д.А., Бонда Н.А.

Гомель, 2018

В настоящей инструкции по применению (далее – инструкция) изложен метод диагностики хронического эндометрита. Метод основан на определении маркеров воспаления, возбудителя, локального гормонального статуса.

1. Область применения. Метод диагностики хронического эндометрита может быть использован в комплексе медицинских услуг, направленных на установление диагноза хронический эндометрит. Инструкция предназначена для врачей акушеров-гинекологов организаций здравоохранения, оказывающих медицинскую помощь в стационарных и амбулаторных условиях пациенткам репродуктивного возраста.

2. Показания к применению: Заболевания и патологические состояния, характеризующиеся нарушением репродуктивной функции: воспалительная болезнь матки неуточненная (N71.9), хроническая воспалительная болезнь матки (N71.1), привычный выкидыш (N96), дефект имплантации эмбрионов (N97.2), женское бесплодие неуточненное (N97.9), инфекция, связанная с искусственным оплодотворением (N98.0).

3. Противопоказания к применению: Нарушение свертывающей системы крови, беременность, вагинит.

4. Перечень необходимых изделий медицинской техники и изделий медицинского назначения

<i>Проведение аспирационной биопсии эндометрия</i>
Набор хирургических инструментов для аспирационной биопсии эндометрия
Аспирационный зонд
10% раствор забуференного формалина
<i>Проведение иммуногистохимического исследования</i>

Первичные антитела к антигену CD56
Первичные антитела к антигену FoxP3
Первичные антитела к антигену Progesterone Receptor
Система визуализации включающая вторичные антитела и хромоген
Буферные растворы для промывки стекол
Буферный раствор для демаскировки антигенов
Микроскоп
Микротом
Предметные стекла с силанизированным покрытием.
Покровные стекла
Ксилол
Спирт этиловый 70%, 80%, 90%, 96%, спирт этиловый абсолютизированный.
Парафин
<i>Проведение бактериологического исследования</i>
Автоматический анализатор для идентификации микроорганизмов и определения их чувствительности к антибактериальным лекарственным средствам
Тест карты для выполнения микробиологических исследований
Тест-карты для определения чувствительности к антибактериальным лекарственным средствам
Транспортная система со средой (консервантом) и зонд-тампоном

Также необходимы следующие изделия медицинского назначения: пробирки с питательной средой, халаты, резиновые перчатки, штативы для пробирок и др.

5. Технология осуществления метода

Проведение аспирационной биопсии эндометрия осуществляется на 20-21 день менструального цикла, либо на 7-8 день после овуляции. После извлечения аспирационного зонда из матки полученный материал помещается во флакон с 10% забуференным формалином. Флакон маркируется и направляется для проведения иммуногистохимического исследования.

Зонд-тампон вводится в полость матки, после извлечения помещается в пробирку с транспортной средой. Пробирка маркируется и направляется для бактериологического исследования.

Полученный для иммуногистохимического исследования материал фиксируется в 10% забуференном формалине в течение 24 часов, затем проводится гистологическая вырезка и помещение в гистологические кассеты. Иммуногистохимическая реакция проводится с использованием первичных моноклональных мышинных антител к CD 56, FoxP3, рецептору прогестерона. Исследование экспрессии изучаемых иммуногистохимических маркеров проводится в пяти неперекрывающихся полях зрения, при увеличении $\times 400$. Поля зрения выбираются в участках максимальной экспрессии изучаемых антител. При выявлении CD56-позитивных NK-лимфоцитов и FoxP3-позитивных T-лимфоцитов производится их подсчет в пяти выше описанных неперекрывающихся полях зрения и расчет среднего арифметического значения. Экспрессия рецепторов прогестерона определяется отдельно в поверхностном эпителии, железах и строме эндометрия как процент позитивных клеток ко всем клеткам и выражается в среднем арифметическом значении для пяти неперекрывающихся полях зрения.

Видовую идентификацию возбудителя в материале и чувствительность к антибактериальным лекарственным средствам

проводят с помощью автоматического микробиологического анализатора с использованием диагностических карт для обнаружения грамположительных и грамотрицательных бактерий, анаэробных и микроаэробных бактерий. При обнаружении клинически значимых бактерий в результате исследования указывается характер роста на первичных питательных средах (на среде обогащения), вид выделенных микроорганизмов и результаты полученной антибиотикограммы. Интерпретация полученных результатов проводится с учетом всех определённых показателей (Таблица 1).

Таблица 1. Интерпретация результатов

Иммуногистохимический маркер	Результат микробиологического исследования	Интерпретация результата
CD56 и(или) FoxP3 более 10 в поле зрения, экспрессия рецептора прогестерона более 75%	Отрицательный	Хронический эндометрит есть, нарушений рецепции прогестерона нет
CD56 и(или) FoxP3 более 10 в поле зрения, экспрессия рецептора прогестерона более 75%	Положительный	Хронический эндометрит есть, определён возбудитель, нарушений рецепции прогестерона нет
CD56 и(или)FoxP3 менее 10 в поле зрения, экспрессия рецептора прогестерона более 75%	Отрицательный	Хронического эндометрита нет
CD56 и(или)FoxP3 более 10 в поле зрения, экспрессия рецептора прогестерона менее 75%	Положительный	Хронический эндометрит есть, определён возбудитель, есть нарушения рецепции прогестерона
CD56 и(или) FoxP3 более 10 в поле зрения, экспрессия рецептора прогестерона менее 75%	Отрицательный	Хронический эндометрит есть, есть нарушения рецепции прогестерона

Выбор тактики ведения пациентки, в зависимости от результатов иммуногистохимического и бактериологического исследований, представлен на рисунке 1.



Рисунок 1 – Выбор тактики ведения пациентки

6. Заключение

Метод диагностики хронического эндометрита может быть использован в комплексе медицинских услуг, направленных на установление диагноза хронический эндометрит, например: воспалительная болезнь матки неуточненная (N71.9), хроническая воспалительная болезнь матки (N71.1), привычный выкидыш (N96), дефект имплантации эмбрионов (N97.2), женское бесплодие неуточненное (N97.9), инфекция, связанная с искусственным оплодотворением (N98.0). Референтный диапазон экспрессии CD56-позитивных NK-лимфоцитов и FoxP3-позитивных T-лимфоцитов составляет 0-10 в поле зрения. Референтный диапазон экспрессии рецептора прогестерона в секреторную фазу составляет 75%-100%.

7. Перечень возможных осложнений или ошибок при выполнении и пути их устранения

Для правильной организации высококачественного исследования необходимо строгое соблюдение правил на всех этапах работы: взятие биоматериала, транспортировка, хранение и пробоподготовка. Нарушение этих правил – причина неверной интерпретации полученных результатов и диагностики.

В первую очередь, на ход исследования влияет техника взятия материала. На дальнейший анализ влияет техника окрашивания биопсийного материала, ошибки на этом этапе приведут к неверной интерпретации результатов окрашивания. Для предотвращения ошибок для окрашивания применяются стандартные растворы и протоколы фиксации.

ОБОСНОВАНИЕ ЦЕЛЕСООБРАЗНОСТИ ПРАКТИЧЕСКОГО ИСПОЛЬЗОВАНИЯ МЕТОДА ДИАГНОСТИКИ ХРОНИЧЕСКОГО ЭНДОМЕТРИТА

В настоящее время отсутствует единый подход к диагностике хронического воспалительного процесса в эндометрии. В то же время, отмечается высокая частота хронического эндометрита, достигающая 70% среди пациенток с нарушением репродуктивной функции [1,2]. Диагностика хронического эндометрита основана на ультразвуковых критериях и проведении гистологического исследования материала, полученного из полости матки [3]. При проведении гистологического исследования диагностика основывается на определении лимфоидной инфильтрации, что не является специфическими признаками хронического эндометрита [4]. Для определения локального воспалительного процесса целесообразно определять активность CD56-позитивных NK-лимфоцитов, так как они обладают киллерной и цитотоксической активностью, и поэтому ассоциированы с нарушениями репродуктивной функции. Исследование экспрессии FoxP3-позитивных T-лимфоцитов необходимо, так как они относятся к T-регуляторным клеткам и подавляют активность других T-лимфоцитов. Большинство исследований посвящены изучению роли прогестерона в развитии патологии репродукции, в то время как отсутствуют данные об экспрессии рецепторов к нему в органах-мишенях. Антибактериальная терапия для лечения хронического эндометрита подбирается эмпирически, что ведет к формированию антибиотикорезистентности, прогрессированию воспалительного процесса.

Таким образом, целесообразна разработка метода диагностики хронического эндометрита. Применение предложенного метода позволяет

определить наличие воспалительного процесса полости матки с идентификацией возбудителя и локального гормонального дисбаланса.

Литература:

1. Цаллагова, Л.В. Роль хронического эндометрита в генезе бесплодия / Л.В. Цаллагова, И.В. Кабулова, И.А. Золоева // Кубанский научный медицинский вестник. – 2014. – №4. – С.131–136.
2. The reliability of the histological diagnosis of endometritis in asymptomatic IVF cases: a multicenter observer study / J.C. Kasius [et al.] // Human Reproduction. – 2012. - Vol.27, No.1 – P. 153–158.
3. Buckley, С.Н. Biopsy pathology of the endometrium / С.Н. Buckley, Н. Fox // NY: Arnold. – 2002. – 264 p.
4. Толибова, Г. Х. Сравнительная оценка морфологических критериев эндометриальной дисфункции у пациенток с первичным бесплодием, ассоциированным с воспалительными заболеваниями малого таза, наружным генитальным эндометриозом и миомой матки / Г. Х. Толибова // Журнал акушерства и женских болезней. – 2016. – №6. – С.52–60.
5. Клинический протокол «Медицинское наблюдение и оказание медицинской помощи женщинам в акушерстве и гинекологии» // Приложение к приказу Министерства здравоохранения Республики Беларусь от 19.02.2018 N. 17. – Мн.: 2018.