

**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ**



МЕТОД ДИАГНОСТИКИ ХРОНИЧЕСКОГО ЭНДОМЕТРИТА

инструкция по применению

УЧРЕЖДЕНИЕ-РАЗРАБОТЧИК: УО «Гомельский государственный
медицинский университет»

АВТОРЫ: канд. мед. наук, доц. Ю. А. Лызикова, канд. мед. наук, доц.
Е. В. Воропаев, канд. мед. наук Е. И. Рублевская, О. В. Осипкина, Д. А. Зиновкин,
Н. А. Бонда

Гомель 2018

**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ**

УТВЕРЖДАЮ

Первый заместитель министра

_____ Д. Л. Пиневиц
28.12.2018

Регистрационный № 223-1218

МЕТОД ДИАГНОСТИКИ ХРОНИЧЕСКОГО ЭНДОМЕТРИТА

инструкция по применению

УЧРЕЖДЕНИЕ-РАЗРАБОТЧИК: УО «Гомельский государственный
медицинский университет»

АВТОРЫ: канд. мед. наук, доц. Ю. А. Лызикова, канд. мед. наук, доц.
Е. В. Воропаев, канд. мед. наук Е. И. Рублевская, О. В. Осипкина, Д. А. Зиновкин,
Н. А. Бонда

Гомель 2018

В настоящей инструкции по применению (далее — инструкция) изложен метод диагностики хронического эндометрита. Метод основан на определении маркеров воспаления, возбудителя, локального гормонального статуса, он может быть использован в комплексе медицинских услуг, направленных на установление диагноза хронического эндометрита. Инструкция предназначена для врачей-акушеров-гинекологов организаций здравоохранения, оказывающих медицинскую помощь в стационарных и амбулаторных условиях пациенткам репродуктивного возраста.

ПЕРЕЧЕНЬ НЕОБХОДИМОГО ОБОРУДОВАНИЯ, РЕАКТИВОВ, СРЕДСТВ, ИЗДЕЛИЙ МЕДИЦИНСКОЙ ТЕХНИКИ

<i>Аспирационная биопсия эндометрия</i>
Набор хирургических инструментов для аспирационной биопсии эндометрия
Аспирационный зонд
10 % раствор забуференного формалина
<i>Иммуногистохимическое исследование</i>
Первичные антитела к антигену CD56
Первичные антитела к антигену FoxP3
Первичные антитела к антигену рецептору прогестерона
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 и 96 %, спирт этиловый абсолютизированный
Парафин
<i>Бактериологическое исследование</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 (ЛС)
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.

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).

ПРОТИВОПОКАЗАНИЯ ДЛЯ ПРИМЕНЕНИЯ

Нарушение свертывающей системы крови, беременность, вагинит.

ОПИСАНИЕ ТЕХНОЛОГИИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ МЕТОДА

Аспирационная биопсия 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 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 ч, затем производится гистологическая вырезка и помещение в гистологические кассеты. Иммуногистохимическая реакция выполняется с использованием первичных моноклональных мышинных антител к CD 56, FoxP3, рецептору прогестерона. Экспрессия изучаемых иммуногистохимических маркеров проводится в 5 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 5 вышеописанных неперекрывающихся полях зрения и расчет среднего арифметического значения. Экспрессия рецепторов прогестерона определяется отдельно в поверхностном эпителии, железах и строме эндометрия как для позитивных клеток ко всем клеткам и выражается средним арифметическим значением для 5 неперекрывающихся полей зрения.

Видовую идентификацию возбудителя в материале и чувствительность к антибактериальным лекарственным средствам осуществляют с помощью автоматического микробиологического анализатора с использованием диагностических карт для обнаружения грамположительных и грамотрицательных бактерий, анаэробных и микроаэробных бактерий. При выявлении клинически значимых бактерий в результате исследования указывается характер роста на первичных питательных средах (на среде обогащения), вид выделенных микроорганизмов и данные полученной антибиотикограммы. Интерпретация результатов проводится с учетом всех определенных показателей (таблица).

Таблица — 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, определен возбудитель, имеются нарушения рецепции прогестерона
CD56 и(или) FoxP3 более 10 в поле зрения, экспрессия рецептора прогестерона менее 75 %	Отрицательный	Хронический эндометрит есть, имеются нарушения рецепции прогестерона

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

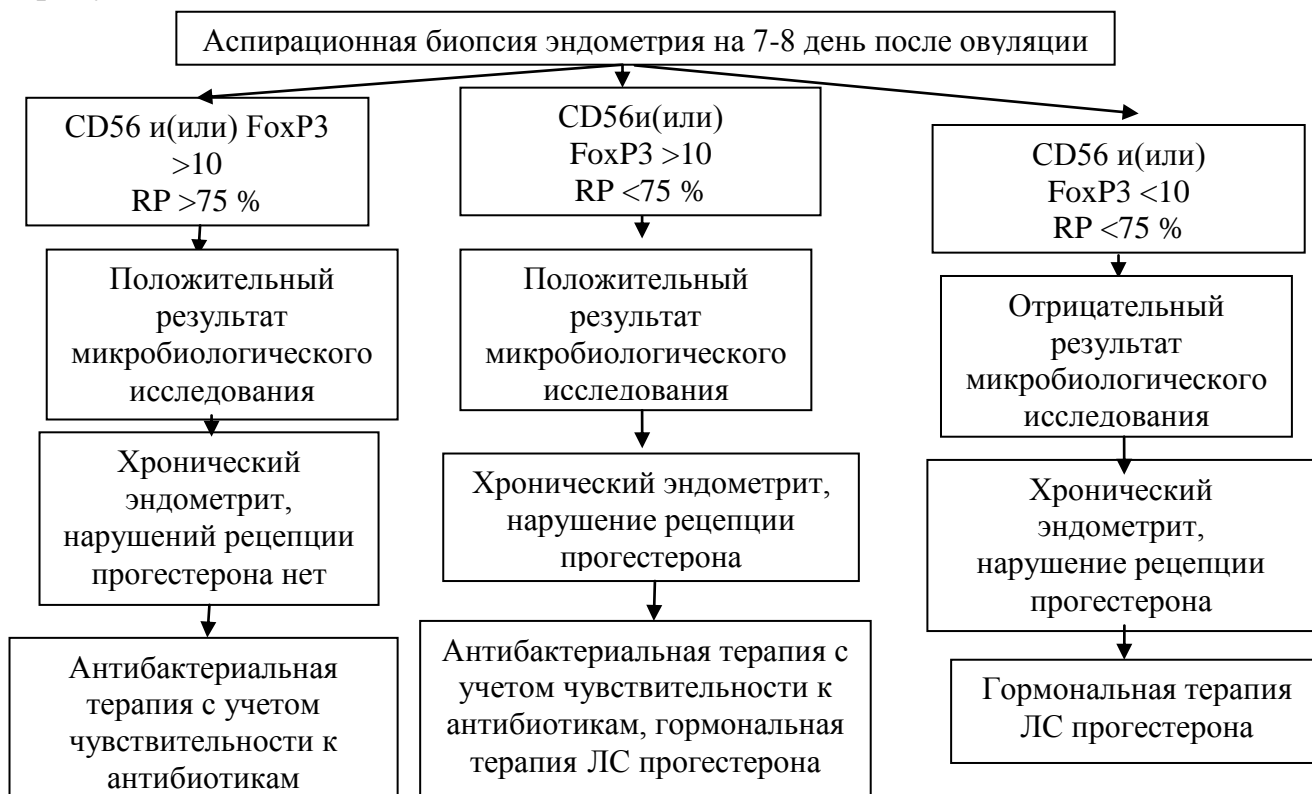


Рисунок — Выбор тактики ведения пациентки

В заключение следует отметить:

Метод диагностики хронического эндометрита может быть использован в комплексе медицинских услуг, направленных на установление диагноза хронического эндометрита, 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 НК-лимфоцитов и FoxP3-позитивных Т-лимфоцитов составляет 0-10 в поле зрения; референтный диапазон экспрессии рецептора прогестерона в секреторную фазу — 75–100 %.

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. Дальнейший анализ зависит от 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. Диагностика хронического эндометрита основана на ультразвуковых критериях и результатах гистологического исследования материала, полученного из полости матки. При гистологическом исследовании диагностика основывается на определении лимфоидной инфильтрации, что не является специфическим признаком хронического эндометрита. Для выявления локального воспалительного процесса целесообразно оценивать 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 посвящено 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.