

бислое либо значительной дисперсией экспериментальных показателей и малым объемом выборки, либо другими причинами, требующими дополнительного изучения.

**Выводы.** 1. Анемия беременных вызывает увеличение процентного содержания лизофосфатидов, снижает содержание фосфатидилинозитолов и, возможно, компенсаторно увеличивает содержание холестерина и фосфатидилинозитолов.

2. Степень влияния анемии на снижение содержания общих фосфолипидов составляет 11,1%, а на отношение ОФЛ/ХС – 23,9%.

3. Выявленные изменения не приводят к достоверным изменениям физико-химических свойств мембран и деформируемости эритроцитов, что может свидетельствовать о сбалансированности этих изменений.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Акоев В.Р., Бобровский Р.В., Жадан Г.Г. и др. Биологические мембраны. 1991; 8(1): 78–84.
2. Бунак В.В. Сов. педагогика. 1965; 11: 105–19.
3. Введение в биомембранологию. Учебное пособие. Под ред. А.А. Болдырева. М.: Изд-во МГУ, 1990.
4. Добрецов Г.Е., Спиринов М.М., Карманский И.М. Биохимия. 1980; 45(4): 622–8.
5. Добрецов Г.Е. Флуоресцентные зонды в исследовании клеток, мембран и липопротеинов. М.: Наука, 1989.
6. Езуткин Г.Г., Житкович А.В. Биологические науки. 1990; 8: 30–7.
7. Иванова С.В. Вестник ВГМУ. 2008; 7(3): 17–23.
8. Кейтс М. Техника липидологии. М.: Мир, 1975; 76; 138–40; 310–1.
9. Козловский В.И., Атрощенко Е.С., Петухов И.В. Фильтрационные методы исследования деформируемости эритроцитов: Метод. рекомендации. Витебск, 1996.
10. Колб В.Г., Камышиников В.С. Справочник по клинической химии. Минск: "Беларусь", 1982.
11. Локтюшкин А.В. Особенности транспорта кислорода через мембрану эритроцитов: Автореф. дис. канд. биол. наук. М., 2009.
12. Окунь И.М., Калер Г.В., Волковец Т.М. и др. Биохимия. 1986; 51(7): 1132–40.
13. Самойленко Г.Г., Калер Г.В., Конев С.В. Биофизика. 1999; 44(3): 455–60.
14. Anju Grewal. J. Anaesth. 2010; 54(5): 380–6.
15. Dodge J.T., Mitchell C., Hanahan D.J. et al. Arch. Biochem. 1963; 100(1): 119–30.
16. Oliveira S., Saldanha C. Clin. Hemorheol. Microcirc. 2010; 44(1): 63–74.
17. Simpson R.J., Florida-James G.D., Whyte G.P. et al. Eur. J. Appl. Physiol. 2007; 99(2): 201–4.
18. Svanborg A., Svennerholm L. Acta Med. Scand. 1961; 169: 43–6.
19. Vaskovsky V.E., Kostetsky E.J., Vassenolin J.M. J. Chromatogr. 1975; 114: 129–41.

Поступила 20.10.11

## ЦИТОЛОГИЯ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2013

УДК 616-076.5:008

Н.Н. Волченко, Е.Н. Славнова, А.А. Тугулукова

### ПРИМЕНЕНИЕ РАЗЛИЧНЫХ ВАРИАНТОВ ЖИДКОСТНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ В ЦИТОЛОГИИ

ФГБУ Московский научно-исследовательский онкологический институт им. П.А. Герцена Министерства здравоохранения РФ, Москва

*Проведено сравнительное исследование традиционных мазков и трех различных жидкостных технологий приготовления цитологических препаратов (CytoSpin3, E-Prep Processor, BD TriPath) на материале, полученном от 112 больных с патологическими процессами различных локализаций – выпотные жидкости (31), мягких тканей (22), лимфатических узлов (18), молочных желез (20), слюнных желез (7), легких (9), щитовидной железы (5). Установлено, что при совместном применении жидкостной и традиционной цитологии эффективность цитологического исследования повышается на 3,3–5% (в зависимости от локализации патологического очага). Использование жидкостных технологий расширяет возможности применения иммуноцитохимии и молекулярной генетики на цитологическом материале.*

**Ключевые слова:** жидкостная цитология, E-Prep, CytoSpin3, BD TriPath, иммуноцитохимическое исследование

N.N. Voltchenko, Ye.N. Slavnova, A.A. Tugulukova

THE APPLICATION OF DIFFERENT TYPES OF LIQUID TECHNOLOGIES IN CYTOLOGY

The P.A. Herzen Moscow research oncologic institute of Minzdrav of Russia, Moscow, Russia

*The article discusses the results of comparative study of traditional smears and three different liquid technologies of making ready of cytological preparations (CytoSpin3, E-Prep Processor, BD TriPath) using material from 112 patients with pathological processes of such different localizations as exudative liquids (31), soft tissues (22), lymphatic nodes (18), mammal glands (20), saliva glands (7), lungs (9), thyroid gland (5). It is established that under joint application of liquid and traditional cytology the effectiveness of cytological analysis increases up to 3.3%-5% depending on localization of pathologic nidus. The implementation of liquid technologies expands the possibilities of applying immunocytochemistry and molecular genetics to cytological materials.*

**Key words:** liquid cytology, CytoSpin3, E-Prep Processor, BD TriPath, immunocytochemical assay

Сравнение трех жидкостных технологий приготовления препаратов

Cytospin 3, Thermo Scientific Shandon	E-Prep – процессор, Han Bi Medical Co., Ltd	BD Prep Stain™ Slide Processor
Цитоцентрифугирование	Использование сжатого воздуха и мембраны	Клеточное обогащение на градиенте плотности, центрифугирование
Простота и удобство в работе	Простота и удобство в работе	Длительный период подготовки
Равномерное, тонкослойное распределение материала на стекле, фон более чистый по сравнению с традиционным мазком	Равномерное, тонкослойное распределение материала на стекле, чистый фон	Равномерное, тонкослойное распределение материала на стекле, чистый фон
Быстрота (5 мин – 12 препаратов)	Быстрота (23 с – 2 препарата)	За 45 мин делается 48 мазков, за 8-часовой рабочий день можно сделать 288 мазков
Разные методы цитологической окраски (Романовский, Папаниколау)	Разные методы цитологической окраски (Романовский, Папаниколау)	Окраска только по Папаниколау
Вариабельный размер окошка	Размер окошка 20 мм	Размер окошка 13 мм
Возможность проведения иммуноцитохимии	Возможно проведение иммуноцитохимии	Возможно проведение иммуноцитохимии

Жидкостные технологии успешно применяются в клинической цитологии и занимают важное место наряду с традиционным методом, дополняя его и улучшая качество цитологической диагностики. Жидкостную технологию для приготовления гинекологических мазков впервые стали использовать в 1996 г. в США для гинекологического скрининга (Thin Prep), а в 1999 г. введена система SurePath (Becton Dickinson). Метод жидкостной цитологии хорошо себя зарекомендовал и успешно используется за рубежом не только в гинекологическом скрининге, но и в диагностике опухолей. Жидкостные монослойные цитологические препараты получают путем переноса клеточного материала из фиксирующего раствора на стекло с использованием методов центрифугирования, осаждения и/или фильтрации. Жидкостная цитология постоянно совершенствуется, появляются новые, полностью автоматизированные системы приготовления препаратов, изменяется состав фиксирующих растворов, обеспечивающих сохранность клеточного материала [5, 7, 16]. Использование жидкостной цитологии позволяет усовершенствовать преаналитический этап цитологического исследования – длительно хранить, транспортировать клеточный материал из отдаленных лабораторий в централизованные, создавать архив и получать тонкослойные цитологические препараты со стандартной областью просмотра. Применение фиксирующих растворов позволяет сохранить клеточную суспензию для дальнейших контрольных и повторных исследований, в том числе для иммуноцитохимии и молекулярно-генетических методов [1, 3, 9, 10, 14]. Качественные стандартизованные цитологические препараты улучшают аналитический этап цитологического исследования, ускоряя и облегчая работу цитолога [2, 3]. В ряде работ проведено сравнение жидкостных цитологических препаратов с традиционными мазками для негинекологических локализаций и показано улучшение качества цитологической диагностики за счет снижения числа неинформативного материала, более чистого фона и лучшей визуализации клеточного материала. В то же время при использовании различных жидкостных техник и способов обработки материала возникают трудности, связанные с правильной трактовкой цитологической картины, так как она существенно отличается от традиционных цитогрмм. По мнению одних авторов, жидкостные цитологические препараты можно анализировать самостоятельно, по мнению других – только совместно с традиционным мазком, так как в жидкостных препаратах отсутствует часть диагностически важных признаков [4, 8, 12, 13–15, 17]. Цитоморфологические особенности и трудности, с которыми может столкнуться цитолог в оценке жидкостных препаратов, для одних локализаций описаны мало, для других вообще не описаны. Однако знание этих особенностей необходимо, так как тонкослойные цитологические препараты могут успешно применяться для проведения уточняющей диагностики,

поскольку повышают эффективность цитологического исследования [1, 2, 4, 8–10, 12–14, 15, 17].

Цель настоящего исследования – определить возможности применения для цитологической диагностики различные жидкостные технологии (Cytospin3, E-Prep Processor, BD TriPath).

*Материалы и методы.* Исследовали материал от 112 больных с патологическими процессами различных локализаций: 31 – выпотные жидкости, 22 – мягких тканей, 18 – лимфатических узлов, 20 – молочных желез, 7 – слюнных желез, 9 – легких, 5 – щитовидной железы. Препараты готовились параллельно традиционным способом и методом жидкостной цитологии (часть материала помещалась в "среду накопления" для приготовления мазков с помощью цитоцентрифуги Cytospin3 (Thermo Scientific Shandon), а часть помещалась в фиксирующие растворы для аппарата E-Prep и системы BD CytoRich). Традиционные и жидкостные микропрепараты окрашивали по Романовскому и Папаниколау. Иммуноцитохимическое исследование проводилось с использованием системы визуализации Ultra Vision LP (Thermo Scientific, Великобритания) и антител к BerEp4, CK7, CK19, CK20, ER, PR, HER2, vimentin, calcitonin, CA125, WT1, HBME1, CEA, p63, TG, ТПО. Использовали первичные антитела производства Dako (Дания) и Novocastra (Великобритания). Флюоресцентное иммуноцитохимическое исследование проводилось с антителами BerEp4 FITC (Dako, Дания).

В нашей работе мы применяли три жидкостные технологии: Cytospin, E-Prep Processor, BD TriPath (табл. 1).

*Результаты и обсуждение.* Наше исследование показало, несмотря на то, что все аппараты для жидкостной цитологии используют разные физические принципы работы (цитоцентрифугирование, двойная мембранная фильтрация и преципитация, клеточное обогащение на градиенте плотности и центрифугирование), они обладают общими достоинствами, отличающими их от тра-

Для корреспонденции:

Волченко Надежда Николаевна, д-р мед. наук, проф., рук. отд-ния онкоцитологии

Адрес: 125284, Москва, 2-й Боткинский пр., 3

Телефон: (495) 945-43-92

E-mail: mnioict@mail.ru

Таблица 2

## Сравнение морфологических характеристик клеток в жидкостных препаратах и традиционных мазках

Критерии	Традиционный препарат	Cytospin 3	E-Prep	BD, TriPath
Фон	Имеется	Имеется	Чистый, большая часть фоновых элементов удалена	Чистый, большая часть фоновых элементов удалена
Плоский эпителий	Характерные морфологические признаки	Характерные морфологические признаки	Характерные морфологические признаки	Уменьшение размера клеток
Железистый эпителий	Характерные морфологические признаки	Клетки имеют более округлую форму. Сохранность цитоплазмы и ядерных признаков	Более вытянутая форма клеток, в отдельных – более округлая. Легкий лизис части клеток. Сглаженный рисунок хроматина в ядре	Более вытянутая форма клеток, частью – округлая. Клетки уменьшены в размере. Хорошо представлены детали ядра
Структурный компонент	Характерные морфологические признаки	Структуры частично разбиты, больше клеток расположено разрозненно, в сравнении с традиционным препаратом	Структуры более рыхлые, уплощенные, разбиты на более мелкие, много клеток расположено разрозненно	Трехмерные структуры, уменьшены в размере. Клетки и структуры расположены в разных плоскостях
Эпителиально-стромальное соотношение	Характерное	Клетки равномерно распределены в стромальном веществе	Снижено количество и вид стромального вещества отсутствует. Изменено расположение стромального компонента по отношению к эпителиальному	Снижено количество и вид стромального вещества/отсутствует. Изменено расположение стромального компонента по отношению к эпителиальному

Таблица 3

## Сравнение эффективности цитологических исследований – жидкостных и традиционных мазков (в %)

Локализация процесса	Жидкостной + традиционный				Традиционный			
	Эффективность	Точность	Ошибки	Неудачный материал	Эффективность	Точность	Ошибки	Неудачный материал
Жидкости	96,8	100	–	3,2	96,8	100	–	3,2
Лимфатические узлы	93,6	96,8	3,2	3,2	90,3	96,8	3,2	6,5
Молочная железа	90	95	5	5	85	95	5	10
Мягкие ткани	71	95	5	24	71	95	5	24

традиционных цитологических мазков. Применение метода жидкостной цитологии при цитологическом и иммуноцитохимическом исследованиях показало ряд преимуществ перед рутинным способом приготовления цитопрепаратов: получение стандартных препаратов высокого качества, возможность получения монослоя клеток, высокая сохранность клеточных структур, уменьшение фона, что позволяет избежать "загрязнения" опухолевых клеток элементами крови и воспаления, облегчая просмотр цитологических препаратов, монослойные препараты хорошего качества позволяют использовать современные компьютерные технологии обработки изображений, проведения морфометрии, иммуноморфологические исследования, клетки сосредоточены в одном месте "окошечке", что практически в 6–8 раз уменьшает расход дорогостоящих реактивов, что особенно важно при иммуноцитохимических и молекулярно-биологических исследованиях, сокращается время просмотра мазка, нет опасности пересыхания препарата (при окраске по Папаниколау).

В то же время, каждая из жидкостных методов имеет свои особенности, достоинства и недостатки (табл. 1, 2), что показано на ряде конкретных примеров совместного применения традиционного и жидкостных цитологических методик исследования клеточного материала.

При исследовании 31 экссудата из брюшной полости специфический характер экссудатов с наличием комплексов клеток аденогенного рака установлен при использовании всех жидкостных технологий (рис. 1). Наибольшее

сходство в строении клеток и клеточных структур отмечается в традиционных (рис. 1, а) и Cytospin-препаратах (рис. 1, б), а небольшой остаточный фон в виде эритроцитов не влиял на результат цитологической диагностики. В препаратах E-Prep (рис. 1, в) отмечалась фрагментация клеточных структур на более мелкие, большая часть клеток расположена разрозненно, клетки слегка лизированы, в сравнении с традиционными, цитоспиновыми и BD – препаратами (рис. 1, г). Одной из особенностей BD-препаратов является нахождение клеточных элементов и структур в разных плоскостях, в отличие от традиционных, Cytospin- и E-Prep препаратов. В BD-препаратах клетки меньше по размеру, но лучше представлены детали ядра и цитоплазмы, хорошо визуализируются ядрышки за счет окраски по Папаниколау. В E-Prep препаратах отмечается лизис части клеток, могут появляться "голые" ядра разрушенных клеток, что особенно хорошо видно в случае исследования специфической плеврогенной жидкости, с наличием клеток аденогенного рака, особенно при проведении флюоресцентного иммуноцитохимического исследования с эпителиальным маркером Herp4 FITC. Эффективность традиционного цитологического исследования жидкостей из серозных полостей составила 96,8%, эффективность совместного применения жидкостных методик и традиционного исследования составила также 96,8% (табл. 3).

Традиционную и жидкостную технологию применяли при исследовании 18 лимфатических узлов. Особен-

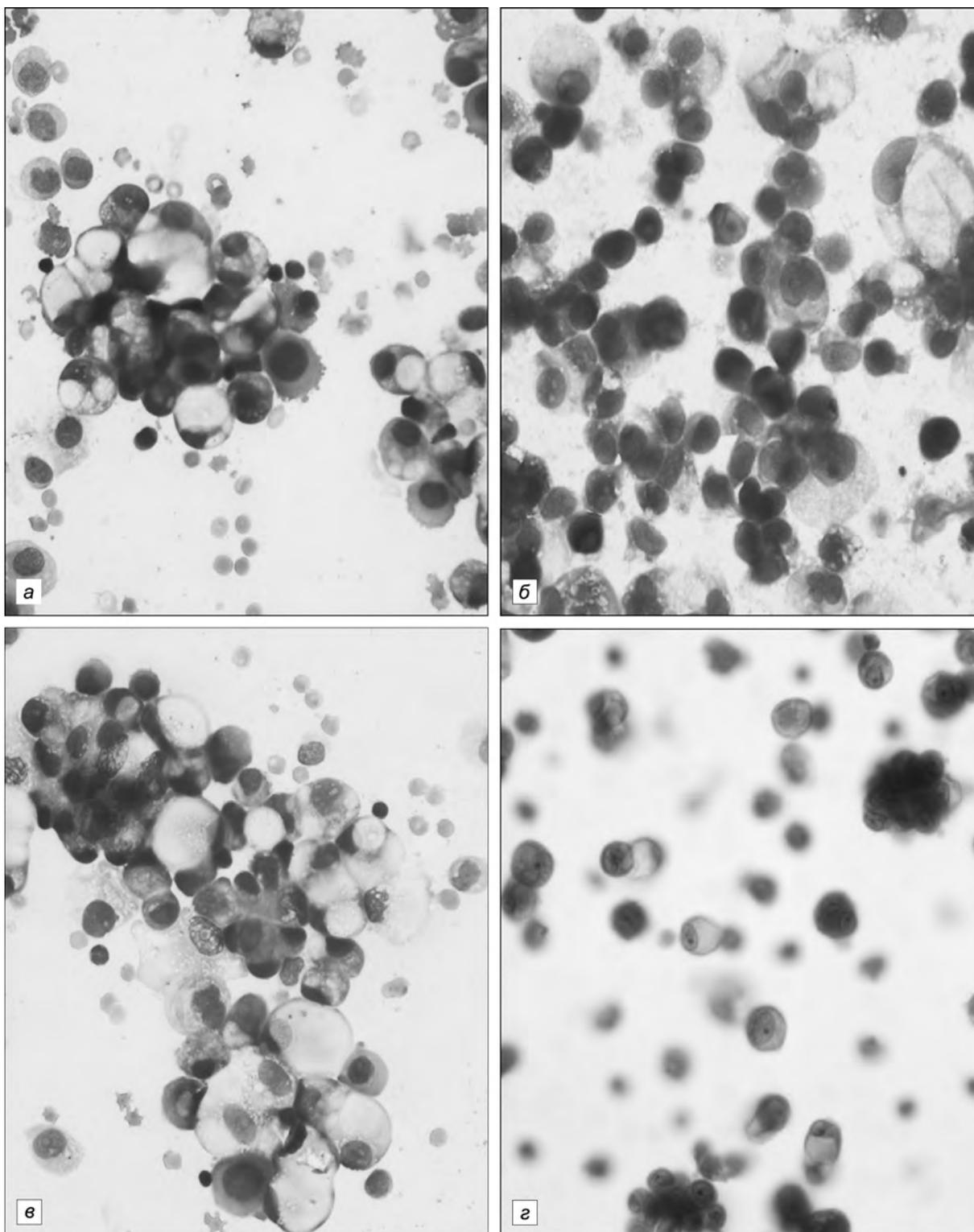


Рис. 1. Асцитическая жидкость, рак яичников. Специфический экссудат с наличием комплексов аденогенного рака.

*а* – традиционный препарат, окраска по Романовскому (ув. 400); *б* – препарат Cytospin, окраска по Романовскому (ув. 400); *в* – препарат E-Prep, окраска по Романовскому (ув. 400); *г* – препарат BD, окраска по Папаниколау (ув. 400).

но интересны три случая цитологической диагностики. В одном случае на основании рутинного цитологического анализа установлен диагноз: метастаз аденогенного рака без признаков органоспецифичности в подмышечный лимфатический узел. Для уточнения источника метастазирования потребовалось проведение иммуноцитохимического исследования.

В Cytospin-препаратах имелись лишь единичные клетки опухоли среди большого числа форменных элементов крови, иммуноцитохимическую реакцию по таким препаратам оценить не представлялось возможным. В препаратах, приготовленных с помощью E-Prep, клетки хорошо сконцентрированы,

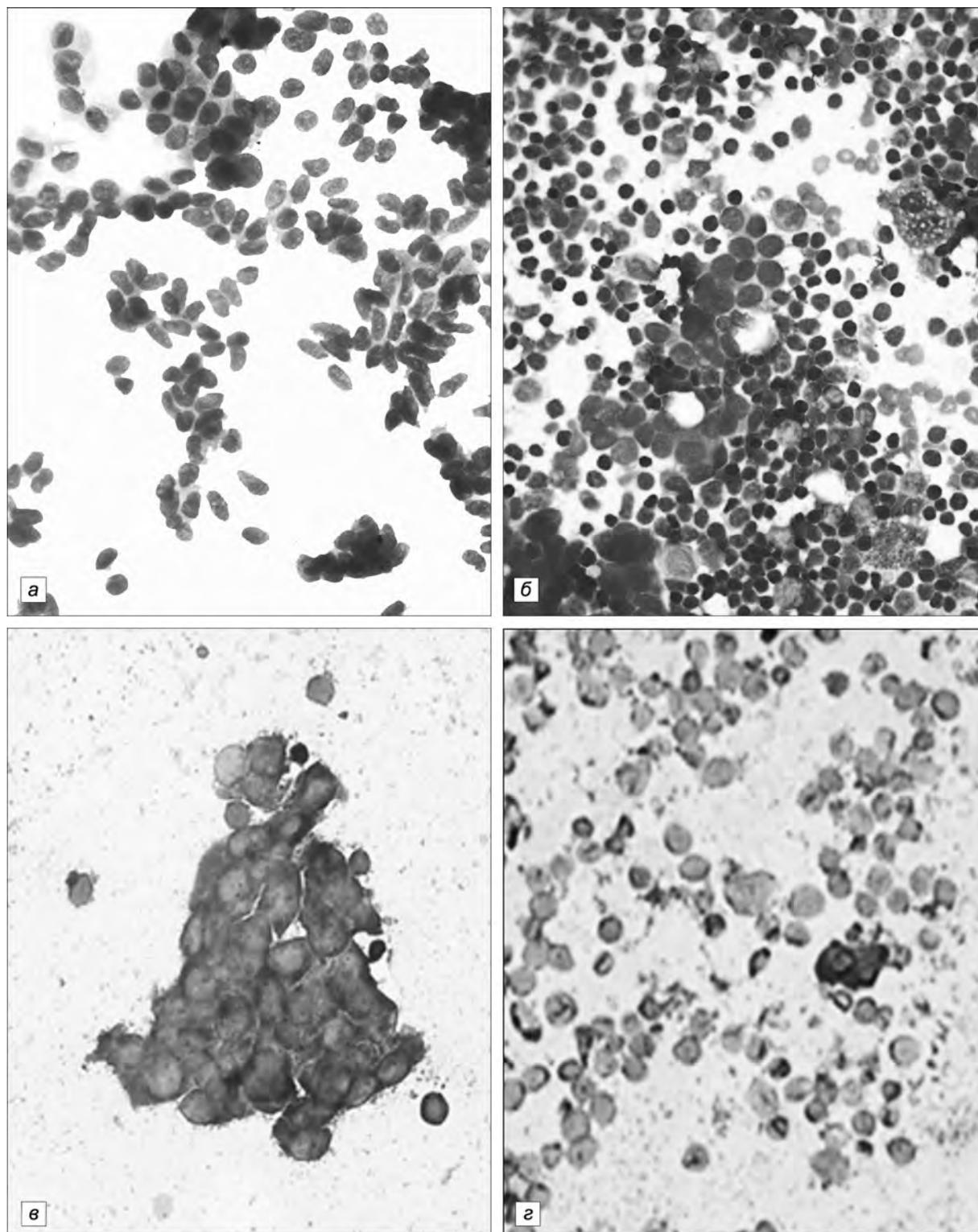


Рис. 2. Метастаз папиллярного рака щитовидной железы в лимфатический узел.

*a* – препарат E-Prer, окраска по Романовскому (ув. 200); *б* – Cytospin, окраска по Романовскому (ув. 200); *в* – E-Prer иммуноцитохимия, положительная экспрессия тиреоглобулина (ув. 200); *г* – Cytospin, иммуноцитохимия, положительная экспрессия тиреоглобулина (ув. 200).

чистый фон, что сделало возможным проведение иммуноцитохимического исследования. Экспрессия антител к цитокератинам 7, рецепторам эстрогенов, прогестерона позволила установить метастаз рака молочной железы в подмышечный лимфатический узел.

Во втором случае исследовали метастаз высокодиффе-

ренцированного аденогенного рака в лимфатический узел шеи. По препарату E-Prer можно сделать заключение о наличии клеток аденогенного рака, но нельзя говорить о метастазе в лимфатический узел, так как лимфоидные элементы отсутствовали, что определяется спецификой приготовления жидкостных препаратов с помощью E-Prer-

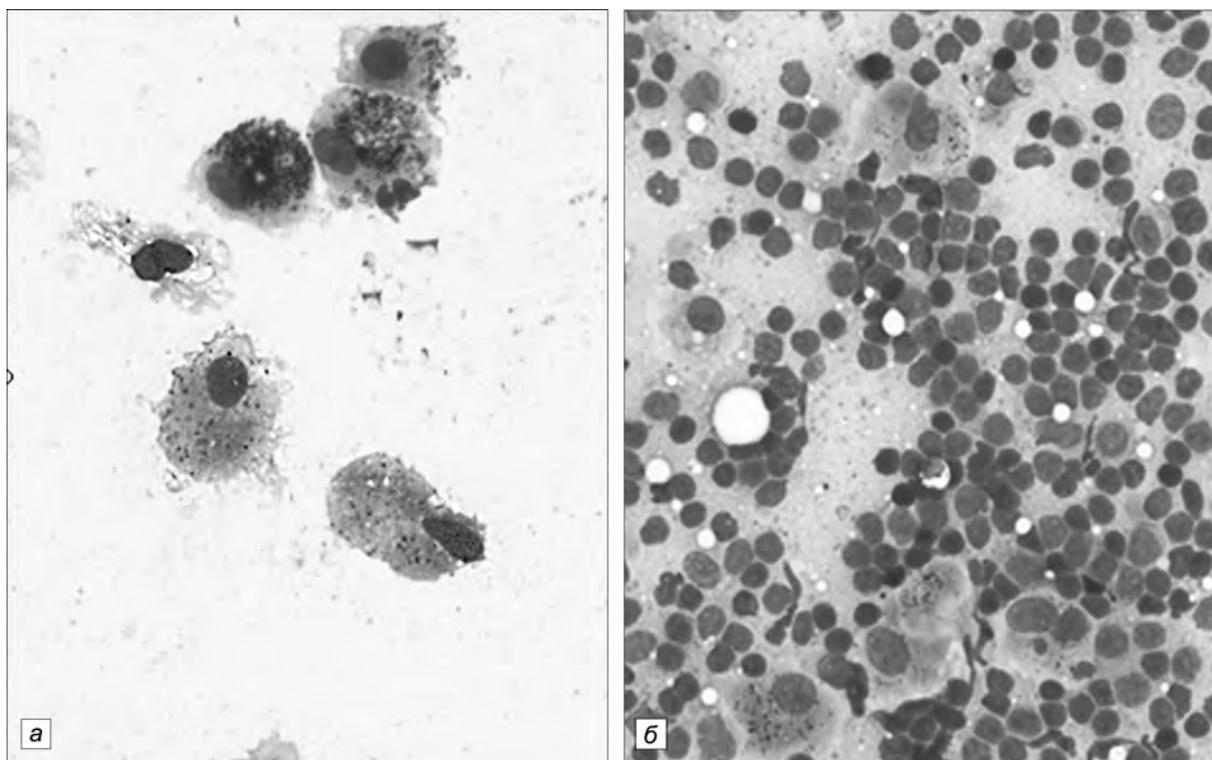


Рис. 3. Пунктат бронхопьюльмонального лимфатического узла.

*a* – традиционный препарат, окраска по Романовскому (ув. 200); *б* – E-Prep-препарат, остались лишь макрофаги. Окраска по Романовскому (ув. 200).

процессора (рис. 2, *a*). При исследовании лимфатических узлов с помощью E-Prep процессора, в большей части наблюдений, лимфоциты не попадали в жидкостной препарат. Параллельный анализ традиционного и жидкостного препаратов облегчает морфологическую диагностику, благодаря присутствию лимфоидных элементов в традиционном препарате (рис. 2, *б*) и чистому фону в жидкостном E-Prep препарате. Концентрация патологических клеток в жидкостном препарате позволяет удачно провести иммуноцитохимическое исследование. Иммуноцитохимическое исследование в препаратах E-Prep (рис. 2, *в*) и Cytospin (рис. 2, *г*) с антителами к тиреоглобулину показало положительную экспрессию в клетках метастаза папиллярного рака щитовидной железы. Но в Cytospin-препаратах наличие фона в виде большого числа лимфоидных элементов затрудняло оценку иммуноцитохимической реакции.

Традиционным цитологическим методом и с помощью E-Prep процессора исследовали пунктат бронхопьюльмонального лимфатического узла (рис. 3) с выраженным антракозом и синус-гистиоцитозом. В E-Prep (рис. 3, *a*) препаратах отсутствовали лимфоидные элементы и присутствовали только макрофаги, клеточность ниже в сравнении с традиционными препаратами (рис. 3, *б*). При исследовании лимфатических узлов в BD-препаратах и Cytospin препаратах лимфоидные элементы сохраняются.

Эффективность традиционного цитологического исследования лимфатических узлов составила 90,3%, эффективность совместного применения жидкостных методик и традиционного исследования – 93,6% (табл. 3).

Исследован клеточный материал, полученный от 20 больных с патологией молочных желез. Наиболее наглядными были два случая совместного исследования молочных желез. В одном случае при исследовании пунктата молочной железы наличие выраженного воспалительно-некротического фона затрудняло проведение иммуно-

цитохимического исследования на традиционных и Cytospin препаратах. В препаратах E-Prep отмечался чистый фон, позволяющий рассмотреть клетки, однако клетки опухоли слегка лизированы, имели вытянутую форму. В традиционном препарате клеточные элементы почти полностью разрушены, присутствовали лишь "голые" ядра. Наибольшая сохранность цитоплазмы и ядер опухолевых клеток отмечалась в Cytospin-препаратах, но воспалительно-некротический фон сохранен.

Во втором случае при исследовании BD препаратов возникли затруднения в дифференциальной диагностике фиброаденомы и высокодифференцированного протокового рака молочной железы. По традиционному препарату поставлен диагноз высокодифференцированного протокового рака молочной железы, что соответствовало гистологическому заключению (рис. 4, *a*). В жидкостных BD препаратах разрозненно лежащие клетки рака уменьшены в размере, имеют вытянутую форму и ошибочно приняты за стромальный компонент фиброаденомы (рис. 4, *б*). Следует отметить, что в традиционной цитологии одним из важных диагностических критериев является оценка клеточности новообразования, в жидкостных препаратах оценить клеточность невозможно. Эффективность традиционного цитологического исследования молочных желез составила 85%, эффективность совместного применения жидкостных методик и традиционного исследования – 90% (см. табл. 3).

Совместное исследование традиционных и жидкостных цитологических мазков проводилось в 7 случаях опухолей слюнных желез. Рутинные цитологические препараты, в большинстве случаев, делали постановку диагноза более легкой, благодаря максимальной сохран-

*Продолжение см. на стр. 37*

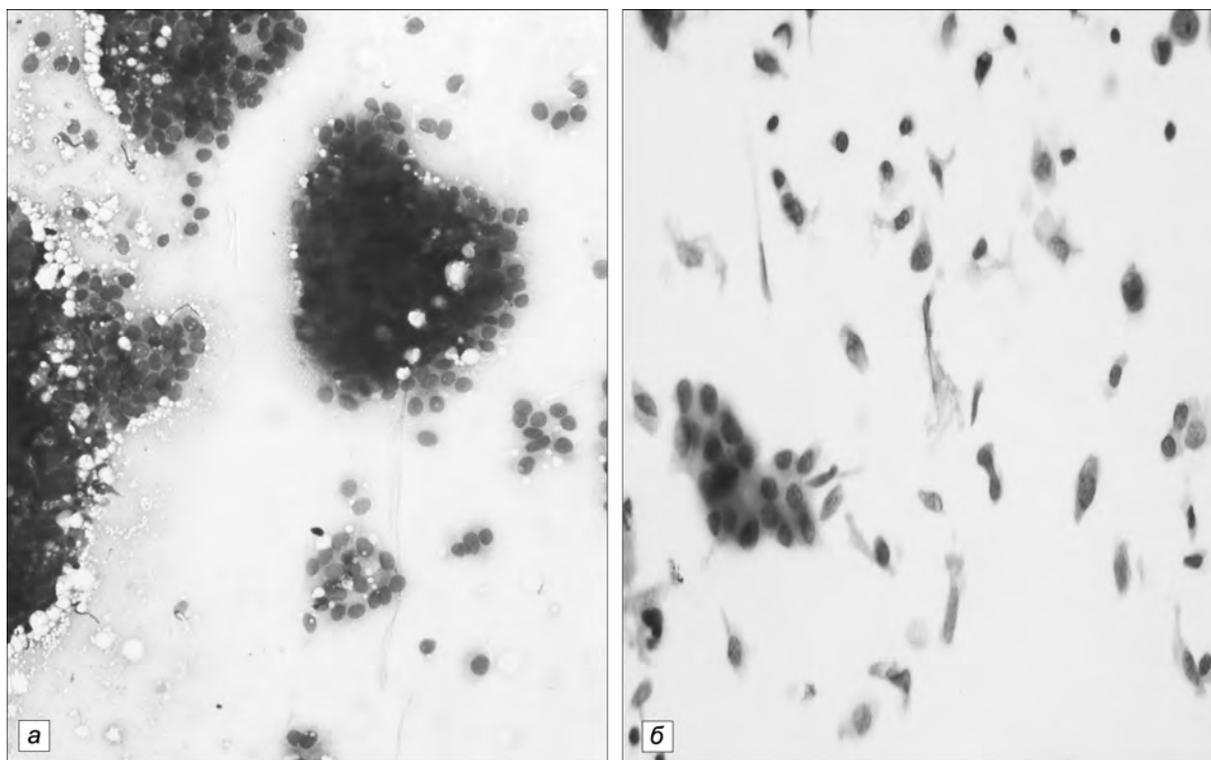


Рис. 4. Высокодифференцированный протоковый рак молочной железы.

*a* – традиционный препарат, окраска по Романовскому (ув. 200); *б* – BD-препарат, окраска по Папаниколу (ув. 200).

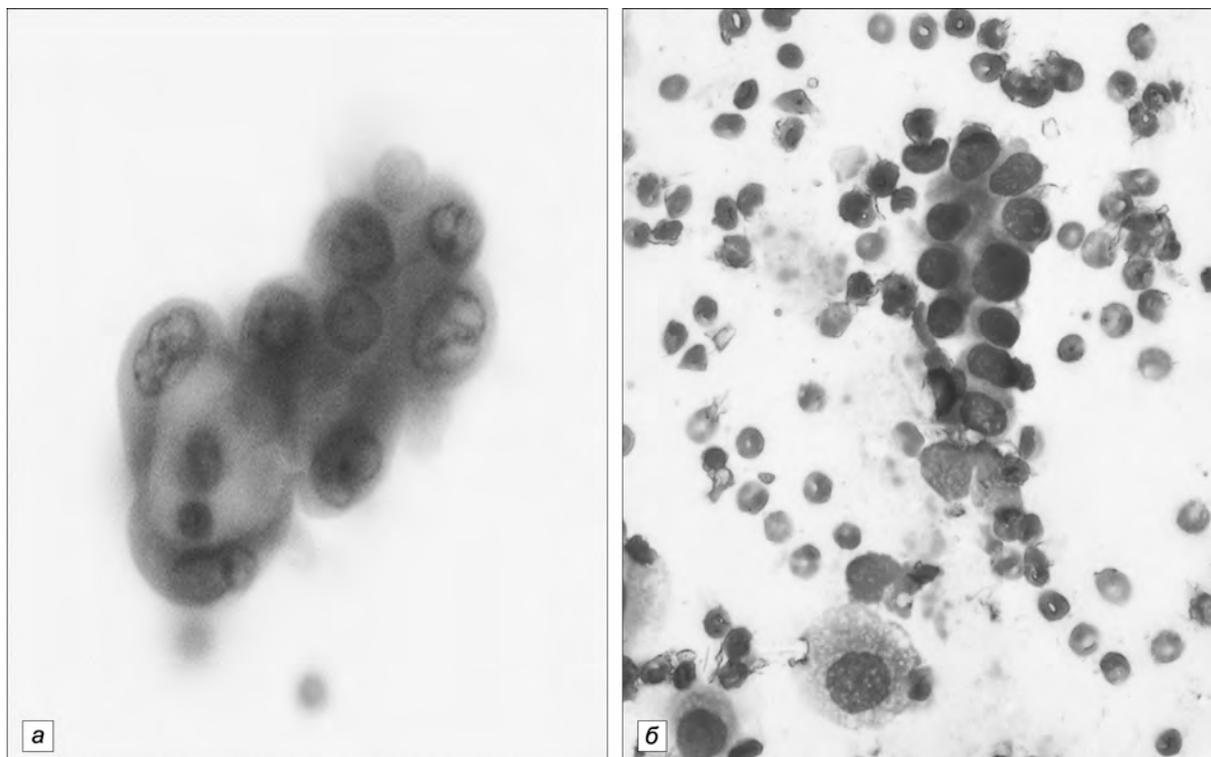


Рис. 5. Высокодифференцированная аденокарцинома легкого, бронхиолоальвеолярный рак.

*a* – традиционный препарат, окраска по Романовскому (ув. 400); *б* – препарат BD, окраска по Папаниколу (ув. 400).

ности клеточных элементов и стромального вещества. В одном наблюдении плеоморфной аденомы в полученном материале преобладало мезенхимальное вещество и клеточные элементы просматривались с трудом.

В препаратах, приготовленных в аппарате E-Prep, отмечался более чистый фон за счет уменьшения стромального компонента, клетки располагались разрозненно, вне стромального вещества, хорошо просматривались

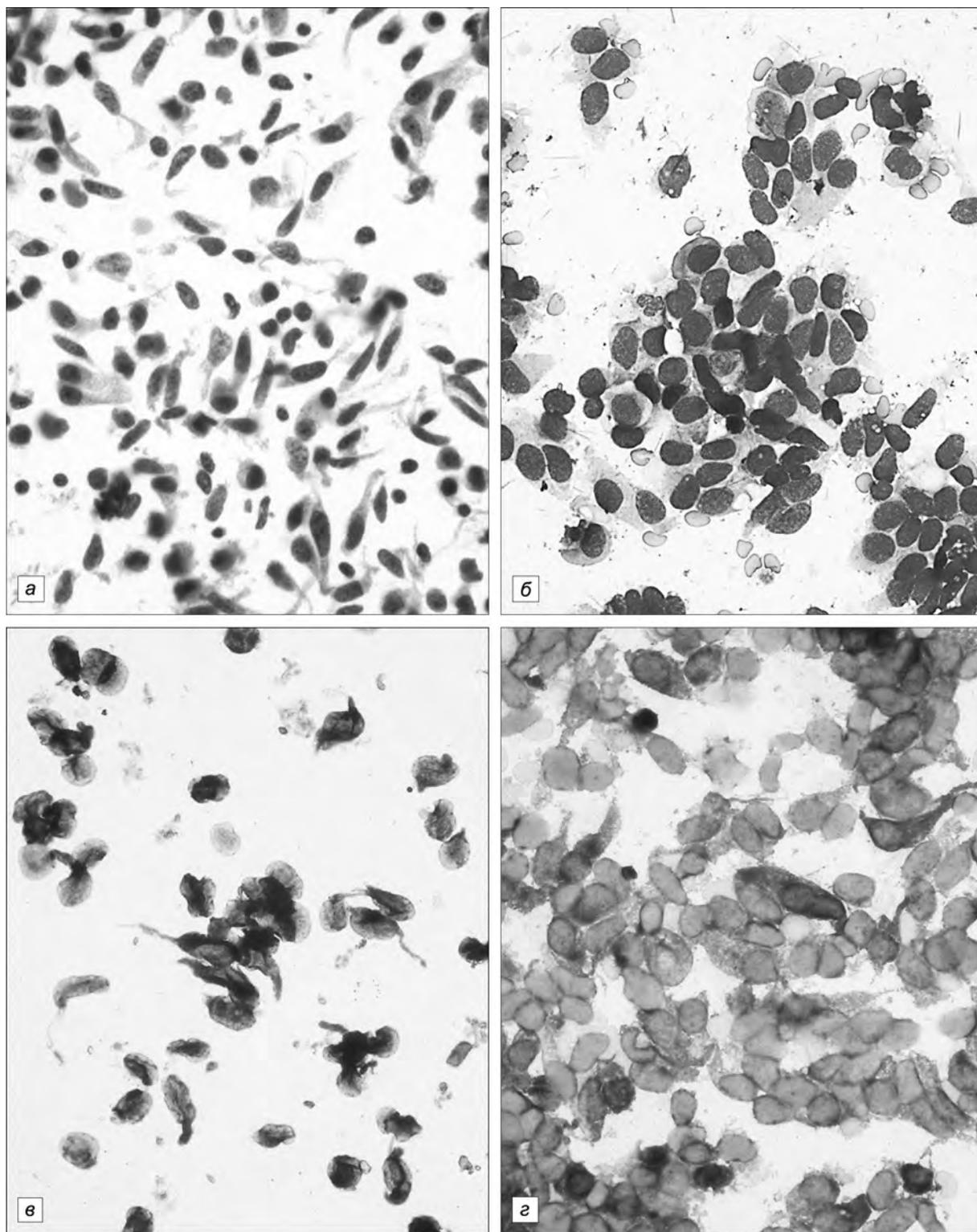


Рис. 6. Медулярный рак щитовидной железы.

*a* – препарат BD, окраска по Папаниколау (ув. 200); *б* – Cytospin, окраска по Романовскому (ув. 200); *в* – препарат BD, положительная экспрессия кальцитонина в клетках опухоли (ув. 200); *г* – Cytospin, положительная экспрессия кальцитонина в клетках опухоли (ув. 200).

клеточные структуры. Вместе с тем, в другом исследовании опухоли слюнной железы в жидкостном препарате миксоидный фон почти полностью отсутствовал, что затрудняло постановку диагноза плеоморфной аденомы без традиционного мазка.

Совместное исследование традиционных и жидкостных цитологических мазков проводилось в 9 случаях

опухолей легкого. При исследовании материала из опухоли легкого, возникли трудности в установлении степени дифференцировки плоскоклеточного рака по жидкостным мазкам. В традиционном препарате морфологическая картина соответствовала малодифференцированному плоскоклеточному раку и совпала с гистологическим заключением. В BD-препаратах, руководствуясь

критериями классической цитологии, цитологически поставлен диагноз умереннодифференцированного плоскоклеточного рака. При высокодифференцированной аденокарциноме легкого (бронхиолоальвеолярном раке) одним из важных классических критериев является расположение клеток в виде сосочкоподобных структур, что лучше представлено в жидкостных препаратах BD (рис. 5, а) в сравнении с традиционными цитологическими мазками (рис. 5, б). С другой стороны, клетки бронхиального эпителия, помещенные в жидкость, округляются и структуры могут напоминать сосочки, что при отсутствии клеточного полиморфизма может стать причиной гипердиагностики бронхиолоальвеолярного рака.

Исследовали 5 опухолей щитовидной железы. В одном случае диагноз папиллярного рака щитовидной железы удалось поставить только по жидкостным E-Prep препаратам благодаря хорошей концентрации клеток опухоли, расположены в виде папиллярных структур. Традиционный препарат из-за большого числа форменных элементов крови оказался неинформативным. В другом случае в BD-препаратах при медуллярном раке щитовидной железы клетки имеют более вытянутую форму (рис. 6, а), несколько сморщены и уменьшены в размере, по сравнению с Cytospin-препаратами (рис. 6, б). Отмечалась положительная экспрессия кальцитонина в клетках опухоли как в BD, Cytospin-препаратах (рис. 6, в, г).

Исследование традиционным и жидкостным цитологическим методом 22 опухолей мягких тканей показало высокую эффективность их совместного применения 71% (см. табл. 3).

В нашем исследовании иммуноцитохимическое исследование проводилось параллельно на препаратах Cytospin, BD и E-Prep в 18 случаях. Более яркая иммуноцитохимическая экспрессия отмечалась на Cytospin-препаратах по сравнению с препаратами E-Prep. Для проведения иммуноцитохимии на BD-препаратах необходима подготовка. В 3-х случаях, из-за присутствия воспалительно-некротических масс при раке молочной железы и большого числа эритроцитов, лимфоидных элементов при метастазе в лимфатический узел папиллярного рака щитовидной железы, исследование удалось провести только на препаратах E-Prep и BD.

**Выводы.** 1. Применение жидкостных технологий имеет как преимущества, так и свои ограничения.

2. Все жидкостные препараты имели более чистый фон, тонкослойное, равномерное распределение материала на стекле, в сравнении с традиционными препаратами, что облегчало просмотр материала.

3. Применение жидкостной цитологии позволило повысить эффективность цитологической диагностики, проводить иммуноцитохимическое исследование, транспортировать и архивировать клеточный материал.

4. Морфология жидкостных препаратов отличается от классической цитоморфологии, так как различные способы приготовления тонкослойных препаратов, многочисленные этапы обработки материала и разный состав фиксаторов влияют на интенсивность фона, размер и особенности строения клеток и клеточных структур, эпителиально-стромальное соотношение, функциональные признаки в клетках. Так, изменение морфологии клеток затрудняет дифференциальную диагностику доброкачественного процесса от злокачественного, например, высокодифференцированного протокового рака молочной железы и фиброаденомы. Возникают трудности в оценке степени дифференцировки клеток при мало-дифференцированном плоскоклеточном раке.

5. Высокая или низкая клеточность – косвенный, но

важный признак, на который опирается цитолог в оценке характера опухолевого процесса и этот признак отсутствует в жидкостных мазках. Во всех жидкостных препаратах клетки сконцентрированы, что создает ложное впечатление о высокой клеточности. Если признаки атипичии хорошо представлены в клетках, то диагноз можно поставить как во всех случаях жидкостных, так и традиционных препаратов и клеточность не имеет большого значения.

6. Значительное снижение или отсутствие фона, с одной стороны, позволяет лучше рассмотреть клетки, с другой стороны, лишает важной диагностической информации. Отсутствие лимфоидных элементов в жидкостных препаратах E-Prep не позволяет предположить о том, что материал получен из лимфатического узла в отсутствие традиционного препарата. Диагноз аутоиммунного тиреоидита невозможен при отсутствии лимфоцитов в пункте, а реактивные изменения фолликулярного эпителия, при отсутствии лимфоцитов, могут быть ошибочно приняты за клетки фолликулярного рака. Значительное снижение или отсутствие миксоидного фона делает трудной диагностику плеоморфной аденомы слюнной железы.

7. Морфология клеток в препаратах, приготовленных с помощью разных жидкостных техник, отличается между собой. Для трактовки цитологической картины необходимо знать, в какую среду взят материал и на каком приборе приготовлен. Так, морфология клеток в препаратах, полученных методом цитоцентрифугирования с применением "среды накопления", максимально приближена к морфологии традиционных мазков, но сохраняется фон. В препаратах E-Prep, клетки и структуры уплощены, крупные скопления клеток фрагментированы, много разрозненно расположенных клеток, в некоторых случаях отмечается легкий лизис железистого эпителия. В BD-препаратах клетки слегка сморщены и уменьшены в размере, имеют более вытянутую форму, структуры имеют трехмерное расположение.

В выпотных жидкостях, когда клетки изначально находились в жидкой среде, отмечалось максимальное сходство морфологии жидкостной и традиционной цитологии. При исследовании соскобов с опухоли и тонкоигольных аспирационных биопсий, отличия жидкостных и традиционных препаратов были значительнее, в отдельных случаях отсутствовали важные диагностические критерии.

9. Все жидкостные технологии позволили провести иммуноцитохимическое исследование.

10. Благодаря чистому фону и более равномерному распределению клеток в препарате, реакции в препаратах E-Prep оценить оказалось легче. Реакции в Cytospin-препаратах проходили ярче, но остаточный фон и элементы крови, в некоторых случаях затрудняли оценку препарата.

11. Совместное применение жидкостной и традиционной цитологии позволяет повысить эффективность цитологической диагностики за счет снижения процента неудачно взятого материала. Точность исследования оставалась прежней на нашем материале.

12. Таким образом, все жидкостные технологии (Cytospin, E-Prep, TriPath BD) могут успешно использоваться в диагностике опухолей молочной железы, щитовидной, слюнных желез, опухолей мягких тканей, выпотных жидкостей, метастазов в лимфатические узлы в сочетании с классическим цитологическим методом.

13. Морфологические критерии препаратов жидкостной цитологии в литературе описаны недостаточно, поэтому пока не будет накоплен опыт обязательно параллельно с жидкостным должен анализироваться традиционный препарат.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Волченко Н.Н., Савостикова М.В. Атлас цитологической и иммуноцитохимической диагностики опухолей. М.: Репроцентр М, 2010.
2. Назарова И.В., Родионова О.М., Волков М.В., Богатырев В.Н. Первый опыт использования аппарата E PREP для жидкостной цитологии в России. Новости клинической цитологии России. 2012; 16(1–2): 3–5.
3. Шабалова И.П., Касоян К.Т., Савостикова М.В. Жидкостная цитология в клинической практике (лекция). Клиническая лабораторная диагностика. М., 2011; 12: 25–35.
4. Al-Khafaji B.M., Afify A.M. Salivary gland fine needle aspiration using the ThinPrep technique: diagnostic accuracy, cytologic artifacts and pitfalls. Acta Cytologica. 2001; 45(4): 567–74.
5. Esquivias Lopes-Cuervo J., Montalban Beltran E., Cuadros Lopez J.L., Alonso Castillo A., Nieto Sanchez T. Preliminary Study of a New, Fully Automated System for Liquid-Based Cytology: The NovaPrep® Processor System. Acta Cytologica 2011; 55: 281–6.
6. Geers C., Bourgain C. Liquid-based FNAC of the thyroid: a 4-year survey with SurePath. Cancer Cytopathology. 2011; 119(1): 58–67.
7. Jae Soo Koh M.D., Cytology Evaluation of Cell prep LBC in Cytology specimens. The Korean Journal of Cytopathology. 2007; 18(1).
8. Jung C.K., Lee A., Jung E.S., Choi Y.J., Jung S.L., Lee K.Y. Split sample comparison of a liquid-based method and conventional smears in thyroid fine needle aspiration. Acta Cytologica. 2008; 52(3): 313–9.
9. Konofaos P., Kontzoglou K., Georgoulakis J. et al. The role ThinPrep cytology in the evaluation of estrogen and progesterone receptor content of breast tumors. Surg. Oncol. 2006; 15: 257–66.
10. Lukas Burendorf. Multiprobe fluorescence in situ Hybridization (UroVysion) for the detection of urothelial carcinoma – FISHing for the right catch. Acta Cytologica. 2011; 55: 113–9.
11. Malapelle U., de Rosa N., Rocco D., Bellocicene C., Crispino C., Illiano A. et al. EGFR and KRAS mutations detection on lung cancer liquid-based cytology: a pilot study. J. Clin. Pathol. 2011; 65(1): 87–91.
12. Michael C.W., McConnel J., Pecott J., Afify A.M., Al-Khafaji B. Comparison of ThinPrep and TriPath PREP liquid-based preparations in nongynecologic specimens: a pilot study. Diagnostic Cytopathology. 2001; 25(3): 177–84.
13. Rana S., Hoda M.D. Non-gynecologic cytology on liquid-based preparations: a morphologic review of facts and artifacts. Diagnostic Cytopathology. 2007; 35: 621–34.
14. Rieko Nishimura, Kenjiro Aogi, Tamami Yamamoto, Daisuke Takabatake, Seiki Takashima, Norihiro Teramoto et al. Usefulness of liquid-based cytology in hormone receptor analysis of breast cancer specimens. Virchows Arch. 2011; 458: 153–8.
15. Rossi E.D., Mule A., Russo R.M., Pierconti F., Fadda G. Application of liquid-based preparation to non-gynaecologic exfoliative cytology. Pathologica. 2008; 100(6): 461–5.
16. Seung-Myoung Son, Ji Hae Koo, Song-Yi Choi, Ho-Chang Lee, Yong-Moon Lee, Hyung Geun Song et al. Evaluation of urine cytology in urothelial carcinoma patients: a comparison of CellprepPlus® Liquid-Based Cytology and conventional smear. The Korean Journal of Pathology. 2012; 46: 68–74.
17. Yi-Bo Fan, Qing-Shan Wang, Lin Ye, Tian-Yu Wang, Guang-Ping Wu. Clinical application of the SurePath liquid-based Pap test in cytological screening of bronchial brushing for the diagnosis of lung cancer. Cyto-technology. 2010; 62: 53–9.

Поступила 07.02.13

## МИКРОБИОЛОГИЯ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2013

УДК 579.835.12.083.134

Г.Ш. Исаева<sup>1</sup>, В.А. Алешкин<sup>2</sup>, Е.П. Селькова<sup>2</sup>, М.С. Герасимова<sup>3</sup>, П.И. Мороз<sup>3</sup>

## ДВУХФАЗНАЯ ПИТАТЕЛЬНАЯ СРЕДА ДЛЯ СУБКУЛЬТИВИРОВАНИЯ HELICOBACTER PYLORI

<sup>1</sup>ФБУЗ "Центр гигиены и эпидемиологии Республики Татарстан", Казань; <sup>2</sup>Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора; <sup>3</sup>Республиканский клинический онкологический диспансер Минздрава Республики Татарстан, Казань

*H. pylori* – очень прихотливый микроорганизм, нуждающийся в создании комплекса условий, включающих определенную атмосферу, температуру культивирования и состав питательной среды. Рекомендована двухфазная среда для субкультивирования на чашках Петри диаметром 90 мм, состоящая из шоколадного агара с добавлением бульона Шедлера, обогащенного 10% сывороткой крупного рогатого скота.

Ключевые слова: *Helicobacter pylori*, субкультивирование, двухфазная питательная среда

G.Sh. Isayeva, V.A. Aleshkin, Ye.P. Selkova, M.S. Gerasimova, P.I. Moroz

## THE TWO-PHASE GROWTH MEDIUM FOR SUB-CULTURING OF HELICOBACTER PYLORI

*A. Pylori* is a very undemanding microorganism needing the in support of complex of conditions including particular atmosphere, temperature of culturing and composition of growth medium. The two-phase growth medium is recommended to sub-culturing in Petri dishes with diameter of 90 mm. The growth medium consists of chocolate agar with addition of Schedler broth and enriched with 10% serum of cattle.

Key words: *Helicobacter pylori*, sub-culturing, two-phase growth medium Инфекция

Для корреспонденции:

Исаева Гузель Шавхатовна, канд. мед. наук, доц. каф. микробиологии

Адрес: 420012, Казань, ул. Бутлерова, 49

Телефон: (843) 236-06-52

E-mail: guisaeva@rambler.ru

*Helicobacter pylori* – одна из самых распространенных в мире. Для диагностики хеликобактериоза разработано множество методов, одним из которых является бактериологическое исследование. Трудоемкость и сложность выделения *H. pylori* ограничивает применение этого метода в рутинной практике практического здравоохранения, но он остается единственным для фенотипического определения чувствительности штаммов к антибактериальным препаратам. Мониторинг за