

УТВЕРЖДАЮ

Первый заместитель Министра

_____ Д.Л. Пиневиц

30.06.2016

Регистрационный № 275-1215

**МЕТОД ОКАЗАНИЯ МЕДИЦИНСКОЙ ПОМОЩИ ПАЦИЕНТКАМ С
МОНО- И КОИНФИЦИРОВАНИЕМ УРОГЕНИТАЛЬНОГО ТРАКТА
ВИРУСОМ ПАПИЛЛОМЫ ЧЕЛОВЕКА**

инструкция по применению

УЧРЕЖДЕНИЯ-РАЗРАБОТЧИКИ: Государственное учреждение «Республиканский научно-практический центр эпидемиологии и микробиологии», Учреждение образования «Белорусский государственный медицинский университет»

АВТОРЫ: д.м.н., профессор Полещук Н.Н., д.м.н., профессор Дорони-на О.К., к.б.н. Рубаник Л.В.

Минск, 2015

В настоящей инструкции по применению (далее – инструкция) изложен метод, который может быть использован в комплексе медицинских услуг, направленных на выявление наряду с вирусом папилломы человека высокого канцерогенного риска (ВПЧ ВКР) этиологически значимых микроорганизмов, являющихся кофакторами воспаления и триггерами морфологической трансформации клеток с целью профилактики фоновых и предраковых заболеваний урогенитального тракта.

Инструкция предназначена для врачей акушер-гинекологов, врачей-дерматовенерологов, врачей-онкологов, врачей лабораторной диагностики.

ПЕРЕЧЕНЬ НЕОБХОДИМЫХ МЕДИЦИНСКИХ ИЗДЕЛИЙ, РЕАГЕНТОВ, ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ, ИЗДЕЛИЙ МЕДИЦИНСКОГО НАЗНАЧЕНИЯ И Т.Д.

- цитощетки,
- предметные стекла,
- микроскоп биологический,
- весы электронные (предел измерений 260 гр., погрешность ± 1 мг) или аналогичные (торсионные и др.),
- термостат, поддерживающий температуру $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$,
- CO_2 инкубатор,
- холодильник, поддерживающий температуру $(4 \pm 2)^\circ\text{C}$,
- морозильник,
- шкаф сушильный стерилизационный,
- автоматические пипетки переменного объема,
- ламинарный шкаф 2 класса биологической защиты,
- центрифуга высокоскоростная (не менее 10 000 об./мин.) с охлаждением,

- центрифуга низкоскоростная,
- типовая ПЦР-лаборатория,
- культура клеток McCoу,
- среда Дульбекко, модификация среды Игла (ДМЕМ),
- сыворотка крови плодов крупного рогатого скота,
- L-глутамин,
- среда 199,
- вода бидистиллированная (стерильная) ГОСТ 6709–72,
- спирт этиловый ГОСТ 18300 и ГОСТ 5962-67,
- перекись водорода ГОСТ 10929,
- раствор гентамицина сульфат 4% ТУ ВУ 101362058.047,
- посуда лабораторная (ГОСТ 1770-74),
- пипетки градуированные ГОСТ 29227,
- пипетки ГОСТ 20292-74 и ГОСТ 29 227-91,
- флаконы ФО-10, ТУ 64-2-10-87,
- пробки резиновые размер 14,5,
- транспортные среды для забора мазков,
- наборы реагентов для выделения ДНК из биологического материала,
- ПЦР наборы для детекции ДНК *Chlamydia trachomatis*, *Trichomonas vaginalis*, ВПГ 1 и 2 типа, ЦМВ, ВЭБ, ВПЧ ВКР,
- тест-системы для обнаружения видоспецифических антигенов методом флуоресцирующих антител,
- тест-системы для выявления видоспецифических антител методом иммуноферментного анализа.

ПОКАЗАНИЯ К ПРИМЕНЕНИЮ

В соответствии с МКБ-10:

- N70 Сальпингит и оофорит,

- N71 Воспалительные болезни матки, кроме шейки матки,
- N72 Воспалительная болезнь шейки матки,
- N74 Воспалительные болезни женских тазовых органов при болезнях, классифицированных в других рубриках,
- N76 Острый вагинит,
- N77 Изъязвление и воспаление вульвы и влагалища при болезнях, классифицированных в других рубриках,
- N80 Эндометриоз,
- N84 Полип женских половых органов,
- N86 Эрозия и эктропион шейки матки,
- N87 Дисплазия шейки матки,
- N88 Лейкоплакия шейки матки,
- N94 Болевые и другие состояния, связанные с женскими половыми органами и менструальным циклом.

ПРОТИВОПОКАЗАНИЯ ДЛЯ ПРИМЕНЕНИЯ

Отсутствуют.

ОПИСАНИЕ ТЕХНОЛОГИИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ МЕТОДА

Врачом акушером-гинекологом проводится тщательный сбор анамнеза (начало половой жизни, наличие/отсутствие жалоб, перенесенные урогенитальные инфекции и т.д.), визуальный осмотр наружных половых органов, осмотр шейки матки при помощи зеркал, бимануальное исследование. При отсутствии видимых патологических изменений кольпоскопию не проводят, однако осуществляют цитологическое исследование мазков для выявления маркеров воспаления, дискариотических и фоновых процессов эктоцервикса и эндоцервикса. Взятие биологического материала (мазков-соскобов) у женщин осуществляют до

проведения бимануального исследования строго в соответствии с инструкцией по применению №185-1208 от 30.09.2009 «Инструменты и правила взятия материала для цитологического исследования при профилактических осмотрах женского населения». В мазках-соскобах определяют (эпителиально-лейкоцитарное соотношение, как показатель воспаления или дисбиотических состояний влагалища), проводят оценку состояния микрофлоры, отмечают наличие или отсутствие специфических цитологических признаков инфекции(ий) (включения Гальбершtedтера-Провачека, тельца Коудри, клетки Тцанка, койлоциты, дискерациты и др.).

При нормоцитограмме и отсутствии специфических цитологических признаков бактериального и вирусного поражения клеток исследование на ВПЧ ВКР, возможно по желанию женщины. Даже в случае, если такие исследования проведены, вне зависимости от результата ПЦР на ВПЧ ВКР +/- лечение, как правило, не назначается, в силу того, что 80-90% случаев инфицирования ВПЧ носит кратковременный характер и через 6-18 месяцев может заканчиваться спонтанной элиминацией вируса. Этой группе пациенток рекомендуется профилактическое обследование у гинеколога не реже 1 раза в год.

При отсутствии диагностированной гинекологом патологии, но выявлении специфических цитологических признаков сопутствующей урогенитальной инфекции(ий) кольпоскопия не показана, но рекомендуется проведение ПЦР исследований на ВПЧ ВКР, *Chlamydia trachomatis*, *Trichomonas vaginalis*, ВПГ 1 и 2 типа, ЦМВ, ВЭБ. При обнаружении облигатных патогенов (*Chlamydia trachomatis*, *Trichomonas vaginalis*) проводят специфическую поэтапную этиотропную терапию. Осуществляют контроль излеченности не менее чем через 35-40 дней после проведенного лечения. В случае коинфицирования с ВПЧ ВКР

(16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 52, 56, 59, 67) придерживаются динамического наблюдения за папилломавирусной инфекцией. Определяют вирусную нагрузку ВПЧ ВКР (малозначимая (менее 3 lg), значимая (3-5 lg), повышенная (более 5 lg)) в первой пробе и во второй пробе (через 6 месяцев). В случае выявления значимой или повышенной концентрации ВПЧ ВКР в обеих пробах, или увеличения вирусной нагрузки в 10 раз (1 lg) назначают лечение. Рекомендуется повторное цитологическое исследование, ПЦР исследование на ВПЧ ВКР через 6 месяцев и через 1 год.

При выявлении в цитологическом препарате лейкоцитарной реакции, атипичных клеток, койлоцитов, дискерацитов обязательным является проведение кольпоскопии, с прицельной биопсией для получения морфологического заключения. Параллельно пациентка направляется на ПЦР исследование не только на ВПЧ ВКР, но и другие урогенитальные патогены *Chlamydia trachomatis*, *Trichomonas vaginalis*, ВПГ 1 и 2 типа, ЦМВ, ВЭБ. В случае обнаружения методом ПЦР ВПЧ ВКР + определяют вирусную нагрузку (малозначимая (менее 3 lg), значимая (3-5 lg), повышенная (более 5 lg)). Учитывая кольпоскопическую картину, гистологическое заключение, результаты микробиологического обследования, включая вирусную нагрузку ВПЧ ВКР, определяют тактику ведения пациентки (медикаментозное и/или оперативное лечение). Пациенткам рекомендуется повторное цитологическое исследование, ПЦР исследование на ВПЧ ВКР через 6 месяцев и через 1 год.

Проведение ПЦР для качественного выявления ДНК возбудителей (ВПЧ ВКР, *Chlamydia trachomatis*, *Trichomonas vaginalis*, ВПГ 1 и 2 типа, ЦМВ, ВЭБ) и в отношении ВПЧ ВКР количественного содержания (вирусная нагрузка) в биологическом материале пациентов проводят в соответствии с инструкциями производителей ПЦР-наборов, заре-

гистрированных в Республике Беларусь.

Лабораторную диагностику хламидийной и трихомонадной инфекции осуществляют согласно «Инструкции по лабораторной диагностике инфекции, вызванной *Chlamydia trachomatis*» и «Инструкции по лабораторной диагностике трихомонадной инфекции» (приказы МЗ РБ №486 и №487 от 20.05.2009). Для скрининга рекомендуется метод полимеразной цепной реакции (ПЦР). В случае отрицательных результатов ПЦР на фоне лейкоцитарной реакции в мазках-соскобах, специфических цитологических признаков инфекции(ий), рекомендуется расширенное микробиологическое обследование с использованием не менее 2 методов (ПЦР+культуральный посев, ПЦР+метод флуоресцирующих антител (МФА), ПЦР+иммуноферментный анализ (ИФА)).

Организационная схема метода диагностики представлена в приложении.

Предложенный алгоритм действий позволяет выявлять не только этиологическую причину, но и кофакторы фоновых и предраковых состояний, проводить динамическое наблюдение или целенаправленное этиопатогенетическое лечение, что является важным профилактическим звеном онкологических заболеваний женских половых органов.

ПЕРЕЧЕНЬ ВОЗМОЖНЫХ ОСЛОЖНЕНИЙ ИЛИ ОШИБОК ПРИ ВЫПОЛНЕНИИ И ПУТИ ИХ УСТРАНЕНИЯ

Несоблюдение правил, сроков взятия, транспортировки и хранения образцов биологического материала. В этом случае необходимо повторить взятие материала.

Возможно получение отрицательного результата методом ПЦР вследствие низкого количества копий ДНК возбудителя (ниже предела

чувствительности коммерческих наборов), детекции только фрагмента одной генетической мишени патогена, наличия в забранном материале ингибиторов реакции (кровь, слизь и т.д.).

В случае L-форм хламидий в культуре клеток могут отмечаться различные степени выраженности цитопатического действия на первом пассаже.

Обследование и лечение только одного из партнеров может привести к повторному инфицированию *Chlamydia trachomatis*, *Trichomonas vaginalis*, ВПГ 1 и 2 типа, ЦМВ, ВЭБ.

Приложение. Организационная схема метода диагностики

