

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ

УТВЕРЖДАЮ
Первый заместитель Министра
В. А. Ходжаев
2011 г.
Регистрационный № 160-1110



ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ НОВООБРАЗОВАНИЙ РАЗЛИЧНОГО ГЕНЕЗА

инструкция по применению

УЧРЕЖДЕНИЯ-РАЗРАБОТЧИКИ: Государственное учреждение «РНПЦ радиационной медицины и экологии человека», Государственное учреждение «РНПЦ онкологии и медицинской радиологии им. Н.Н. Александрова», Государственное учреждение образования «Белорусская медицинская академия последипломного образования», Учреждение образования «Гомельский государственный медицинский университет», Учреждение «Гомельский областной клинический онкологический диспансер».

АВТОРЫ: к.м.н. Надыров Э.А., к.м.н. Рогов Ю.И., к.м.н. Дубровский А.Ч., к.м.н. Воропаев Е.В., Ачинович С.Л., Крылов А.Ю., Богданович А.П., Прокопович А.С.

Гомель, 2011

Перечень используемых сокращений

- ИГХ – иммуногистохимия;
- BCA – бычий сывороточный антиген;
- BRCA1 – фосфопротеин системы протоонкогенов молочной железы;
- Ki-67 – пролиферативный маркер;
- EGFR – рецептор к эпидермальному фактору роста;
- HMB-45 – интрацитоплазматический протеин меланоцитов;
- P53 – мутантный супрессор опухолевого роста;
- ER (PЭ) – рецептор эстрогена;
- PR (PП) – рецептор прогестерона;
- C-erbB-2, Her-2/neu – рецептор 2-го человеческого эпидермального фактора роста;
- СК – цитокератины;
- CD – кластеры дифференцировки;
- VEGF – фактор роста эндотелия сосудов;
- CEA – карциноэмбриональный антиген;
- Desmin – белок промежуточных филаментов;
- EMA – эпителиальный мембранный антиген;
- Fascin – актин-связывающий протеин;
- Melan-A – трансмембранный протеин меланоцитов;
- SMA – гладкомышечный актин;
- AFP – альфа-1-фетопропротеин;
- TdT – терминальная дезоксирибонуклеотидилтрансфераза;
- GFAP – кислый глиальный фибриллярный протеин;
- Alfa-1-Antitrypsin – альфа-1-антитрипсин (протеазный ингибитор протеолитических ферментов, маркер гистиоцитов);
- NSE – нейронспецифическая энолаза (нейроэндокринный маркер);
- Chromogranin A – хромогранин А (нейроэндокринный маркер);
- E-cadherin – трансмембранный протеин клеточной адгезии;
- HLA-DR – лейкоцитарные антигены комплекса гистосовместимости;
- Cyclin D1 – протеин, участвующий в регуляции клеточного цикла;

Bcl-2 – антиапоптотический маркер;

Bcl-6 – протеин-модулятор транскрипции;

Ig A – иммуноглобулин A;

IgG – иммуноглобулинG;

S100 – интрацеллюлярные кальций-связывающие протеины;

TTF-1 – тиреоидный фактор транскрипции;

Thyroglobulin – белок-предшественник тиреоидных гормонов;

Vimentin – протеин промежуточных филаментов.

Перечень необходимого оборудования, реактивов, препаратов, изделий медицинской техники и др.:

Перечень необходимого оборудования:

1. Микротом с возможностью изготовления гистологических срезов толщиной не более 4 мкм.
2. рН-метр.
3. Термостат.
4. Автоматические пипетки переменного объема.
5. Баня водяная с датчиком температуры.
6. Микроволновая печь мощностью 750-800 Вт.
7. Световой микроскоп.

Реактивы и расходные материалы:

1. Силанизированные предметные стекла.
2. Покровные стекла.
3. Лабораторная посуда (колбы, пробирки, стеклянные палочки, воронки, стаканы, контейнеры для предметных стекол).
4. Ксилол.
5. 96° спирт.
6. Перекись водорода 3%.
7. Tris-HCl – отмывочный буфер, рН 7,5.
8. Цитратный буфер для демаскировки антигенов, рН 6,0.
9. Буфер для демаскировки антигенов. рН 6,0.
10. Буфер для демаскировки антигенов, рН 9,0.
11. Первичные антитела к РЭ, РП, Her-2/neu, p53, TdT, Ki-67, Cyclin D1, CK(pan Cytokeratin (клон MNF 116), Cytokeratin 5/6, Cytokeratin 7, Cytokeratin 8, Cytokeratin 18, Cytokeratin 20, Cytokeratin (High Molecular Weight), SMA (Smooth Muscle Actin), AFP, Bcl-2, Bcl-6, Chromogranin A, IgA, IgG, Desmin, GFAP, S100, Melan-A, HMB-45, NSE, Thyroglobulin, Vimentin, Fascin, Alfa-1-Antitrypsin, EGFR, TTF-1, VEGF, EMA, c-erbB-2, E-cadherin, HLA-DR, CEA, CD (1 α , 3, 5, 7, 8, 15, 19, 20, 21, 23, 30, 34, 43, 45, 45RO, 57, 68, 79 α , 117, 138). Обязательным условием является наличие в спецификации

указания на возможность использования на фиксированных формалином тканях человека.

12. Системы визуализации к мышинным и кроличьим антителам или универсальная (EnVision и др.).

13. Диаминобензидин (DAB).

14. Канадский бальзам.

15. Карандаш для ИГХ.

16. Гематоксилин Майера.

Показания к применению: диагностика доброкачественных и злокачественных заболеваний, определение прогноза.

Противопоказания:

Отсутствуют.

Описание технологии используемого метода:

Определение экспрессии ER (клон 1D5), PR (клон PgR 636) с указанием этапов (эталон).

Для проведения иммуногистохимического исследования специфичных маркеров необходимо использовать фиксированные в формалине и заключенные в парафин кусочки тканей опухоли, полученные при рутинной патологоанатомической обработке.

I этап. Депарафинирование и обезвоживание.

1. Поместить стекла с парафиновыми срезами последовательно в две порции ксилола на 10 мин.

2. Стекла поместить последовательно в три порции этанола 96° на 4 мин.

3. Промыть 3 раза по 2 мин в дистиллированной воде.

II этап. Предобработка срезов с целью демаскировки антигенов, направленная на восстановление структуры белка, которая изменилась в ходе фиксации и заливки в парафин

1. Поместить срезы в емкость с демаскировочным буфером pH 6,0 и погрузить

на 30 мин в водяную баню при $t = 98^{\circ}\text{C}$.

2. После демаскировки оставить емкость со срезами при комнатной температуре на 20 мин.

3. Промыть срезы в двух порциях дистиллированной воды по 5 мин .

4. Поместить срезы в 3% перекись водорода на 20 мин.

5. Промыть в дистиллированной воде 3 раза по 2 мин.

III этап. Проведение иммуногистохимической реакции

1. Срезы обвести карандашом для ИГХ.

2. Нанести неразведенные первичные антитела (анти-ER, анти-PR) и инкубировать срезы при комнатной температуре 30 мин.

3. Слить со срезов жидкость.

4. Срезы промыть в Tris-буфере 2 раза по 5 мин.

5. Нанести на срезы визуализирующую систему для мышинных антител на 30 мин.

6. Промыть в Tris-буфере 2 раза по 5 мин.

7. Нанести раствор ДАБ. Приготовить ДАБ в соответствии с рекомендациями изготовителя непосредственно перед нанесением на срезы. Длительность инкубации с ДАБ устанавливается в каждой лаборатории отдельно, для чего необходимо следить за процессом появления коричневого окрашивания под микроскопом. Время окрашивания считается достаточным, если структуры, подлежащие окрашиванию, приобрели золотисто-коричневый цвет.

8. Слить со срезов жидкость и промыть дистиллированной водой.

9. Срезы докрасить гематоксилином Майера. Время окрашивания зависит от качества и степени зрелости гематоксилина и устанавливается в каждой лаборатории индивидуально (1 мин).

10. Промыть дистиллированной водой.

IV этап. Просветление и заключение срезов

1. Обезвоживание в спиртах.

2. Просветление в ксилоле.

3. Заключение в канадский бальзам.

Оценка результатов ИГХ окрашивания проводится с применением светового микроскопа. Для всех маркеров необходимо оценивать локализацию окрашивания в клетке (ядро, цитоплазма и / или мембрана), интенсивность пероксидазной метки (в области с максимальной экспрессией) и процент окрашенных клеток.

Результат ИГХ-определения ER и PR представлен в виде окрашенных в коричневый цвет ядер с различной интенсивностью окраски.

Экспрессию рецепторов ER и PR оценивают по балльной системе, оценивается интенсивность окраски и доля окрашенных опухолевых клеток.

Процент окрашенных опухолевых клеток оценивается от 0 до 5 баллов; при этом:

- 0 баллов – отсутствие окрашивания;
- 1 балл – количество окрашенных клеток менее 1%;
- 2 балла – количество окрашенных клеток от 1 до 10 %;
- 3 балла – количество окрашенных клеток от 11 до 33%;
- 4 балла – количество окрашенных клеток от 34 до 66%;
- 5 баллов – количество окрашенных клеток от 67 до 100%.

Интенсивность окраски оценивается от 0 до 3 баллов, при этом:

- 0 баллов – окраска отсутствует.
- 1 балл – слабая окраска.
- 2 балла – умеренная окраска.
- 3 балла – выраженная интенсивность окраски.

Для получения IRS (immune reactivity **SCORE**) суммируют баллы доли окрашенных клеток и интенсивности их окраски. Опухоль считают *позитивной* по содержанию ER, PR при суммарном балле более или равном 3 (**SCORE**).

Определение экспрессии Her-2/neu (поликлональные кроличьи антитела).

1 этап. Депарафинирование и обезвоживание.

Аналогично эталону.

II этап. Предобработка с целью демаскировки антигенов, направленная на восстановление структуры белка, которая изменилась в ходе фиксации и заливки в парафин.

1. Поместить срезы в емкость с цитратным буфером для демаскировки антигенов рН 6,0 и обработать в микроволновой печи в течение 12 мин при максимальной мощности 750-800 Вт.
2. После демаскировки оставить емкость со срезами при комнатной температуре на 20 мин.
3. Промыть срезы в двух порциях дистиллированной воды по 5 мин.
4. Поместить срезы в 3% перекись водорода на 20 мин.
5. Промыть в дистиллированной воде 3 раза по 2 мин.

III этап. Проведение иммуногистохимической реакции.

1. Срезы обвести карандашом для ИГХ.
2. Нанести разведенное (1:900) в Tris-буфере с 1% БСА первичное антитело (анти-Нег-2/neu) и инкубировать срезы при комнатной температуре 30 мин. Разведение рекомендуется устанавливать в диапазоне от 1:200 до 1:900 в соответствии с прилагаемой к антителам инструкцией фирмы-производителя и индивидуальными условиями лаборатории.
3. Слить со срезов жидкость.
4. Срезы промыть в Tris-буфере 2 раза по 5 мин.
5. Нанести на срезы визуализирующую систему для кроличьих антител на 30 мин.

Пункты 6-10 аналогично эталону

IV этап. Просветление и заключение срезов

Аналогично эталону.

Рекомендуются следующие критерии оценки маркера (**SCORE**):

- опухоль считается *отрицательной по Her-2/neu* при отсутствии мембранного окрашивания или при окрашивании менее 10% клеток;
- опухоль оценивается:
- 1 балл (1+) – при неполном окрашивании мембран у более 10% клеток;

- 2 балла (2+) – при интенсивности окраски мембран от слабой до умеренной у более 10% клеток;
- в 3 балла (3+) – при полном окрашивании мембран более 10% клеток.

Примечание: При оценке экспрессии Her-2/neu в 2+ по результатам иммуногистохимического окрашивания необходимо определение уровня амплификации гена методом флуоресцентной *in situ* гибридизации (FISH).

Определение экспрессии CEA, EMA, EGFR, c-erb B-2, E-cadherin, HLA-DR, CD (1 α , 3, 5, 7, 8, 15, 19–21, 23, 30, 34, 43, 45, 45RO, 57, 68, 79 α , 117, 138).

I этап. Депарафинирование и обезвоживание.

Аналогично эталону.

II этап. Предобработка с целью демаскировки антигенов, направленная на восстановление структуры белка, которая изменилась в ходе фиксации и заливки в парафин.

Аналогично эталону.

III этап. Проведение иммуногистохимической реакции.

1. Срезы обвести карандашом для ИГХ.

2. Нанести разведенное в Tris-буфере с 1% БСА первичное антитело (CEA, EMA, EGFR, c-erb B-2, E-cadherin, HLA-DR, CD (1 α , 3, 5, 7, 8, 15, 19, 20, 21, 23, 30, 34, 43, 45, 45RO, 57, 68, 79 α , 117, 138), VEGF и инкубировать срезы при комнатной температуре 30 мин. Разведение от 1:10 до 1:900 в соответствии с прилагаемой к антителам инструкцией фирмы-производителя и индивидуальными условиями лаборатории.

Пункты 3-10 аналогично эталону.

IV этап. Просветление и заключение срезов.

Аналогично эталону.

Рекомендуются следующие критерии оценки маркеров CEA, EMA, EGFR, c-erb B-2, E-cadherin, HLA-DR CD (1 α , 3, 5, 7, 8, 15, 19, 20, 21, 23, 30, 34, 43, 45, 45RO, 57, 68, 79 α , 117, 138), VEGF (**SCORE**):

Опухоль считается *отрицательной* при отсутствии мембранного (мембранного и цитоплазматического) или при окрашивании менее 10% клеток;

- опухоль оценивается в 1 балл (1+) при окрашивании мембран от 10 до 25% клеток;
- в 2 балла (2+) – при окрашивании мембран от 26 до 50% клеток;
- в 3 балла (3+) – при окрашивании мембран более чем у 51% клеток.

Примечание: СЕА, ЕМА, CD (15,45,57,117), VEGF оцениваются по мембранному и цитоплазматическому окрашиванию.

Определение экспрессии p53 (DO-7), Ki-67 (MIB-1), CyclinD1 (DCS-6), TdT (поликлональные кроличьи антитела).

I этап. Депарафинирование и обезвоживание.

Аналогично эталону.

II этап. Предобработка с целью демаскировки антигенов, направленная на восстановление структуры белка, которая изменилась в ходе фиксации и заливки в парафин.

Аналогично эталону, но для p53 и Ki-67 используется демаскировочный буфер pH 6,0, а для Cyclin D1 и TdT используется демаскировочный буфер pH 9,0.

III этап. Проведение иммуногистохимической реакции.

1. Срезы обвести карандашом для ИГХ.

2. Нанести разведенное 1:25-1:50 в Tris-буфере с 1% БСА первичное антитело (p53, Ki-67, Cyclin D1, TdT) и инкубировать срезы при комнатной температуре 30 мин.

Пункты 3-10 аналогично эталону.

IV этап. Просветление и заключение срезов.

Аналогично эталону.

Рекомендуются следующие критерии оценки маркеров p53 (DO-7), Ki-67 (MIB-1), CyclinD1 (DCS-6), TdT (SCORE):

Для p53(клон DO-7).

Опухоль считать отрицательной, если в ткани опухоли отсутствует ядерная экспрессия с антителами или количество окрашенных ядер менее 5%;

- положительной, если окрашено более 5% ядер опухолевых клеток,

- слабо позитивной – при окрашивании 6-30% ядер опухолевых клеток;
- умеренно позитивной – при окрашивании 31-70% ядер опухолевых клеток;
- сильно позитивной – при окрашивании 71-100 % ядер опухолевых клеток.
Для Ki-67 (клон MIB-1).

Пролиферативную активность опухоли оценивается как процент Ki-67 положительных ядер в клетках опухоли. Опухоль считать отрицательной, если в ткани опухоли отсутствует ядерная экспрессия с антителами или количество окрашенных ядер менее 10%;

- положительным при окраске более 10% опухолевых клеток, оцениваемых в области максимальной экспрессии маркера;
- высокая пролиферативная активность опухоли соответствует экспрессии Ki-67 в более чем 40% клеток;
- низкая пролиферативная активность – экспрессии Ki-67 в менее 40% клеток.

Для Cyclin D1 (клон DCS-6) и TdT (поликлональные кроличьи антитела)..

Опухоль считается *отрицательной* при отсутствии ядерного окрашивания или при окрашивании менее 10% ядер;

- опухоль оценивается в 1 балл (1+) при окрашивании ядер от 10 до 25% клеток;
- в 2 балла (2+) – при окрашивании ядер от 25 до 50% клеток;
- в 3 балла (3+) – при окрашивании ядер более чем у 50% клеток.

Определение экспрессии Actin (Smooth Muscle), AFP, Bcl-2, Bcl-6, Chromogranin A, IgA, IgG, Desmin, GFAP, S100, Melan-A, NSE, Thyroglobulin, Vimentin, Fascin, Alfa-1-Antitrypsin.

I этап. Денатурафинирование и обезвоживание.

Аналогично эталону.

II этап. Предобработка с целью демаскировки антигенов, направленная на восстановление структуры белка, которая изменилась в ходе фиксации и заливки в парафин.

Аналогично эталону, но для Vcl-2, Vcl-6, Cyclin D1, CK 5/6, TdT используется демаскировочный буфер pH 9,0.

III этап. Проведение иммуногистохимической реакции.

1. Срезы обвести карандашом для ИГХ.

2. Нанести разведенное в Tris-буфере с 1% БСА первичное антитело (Actin (Smooth Muscle), AFP, Vcl-2, Vcl-6, Chromogranin A, IgA, IgG, Desmin, GFAP, S100, Melan-A, NSE, Thyroglobulin, Vimentin, Fascin, CK (pan Cytokeratin (клон MNF 116), Cytokeratin 5/6, Cytokeratin 7, Cytokeratin 8, Cytokeratin 18, Cytokeratin 20, Cytokeratin (High Molecular Weight Alfa-1-Antitrypsin):

и инкубировать срезы при комнатной температуре 30 мин. Разведение от 1:10 до 1:900 в соответствии с прилагаемой к антителам инструкцией фирмы-производителя и индивидуальными условиями лаборатории.

Пункты 3-10 аналогично эталону.

IV этап. Просветление и заключение срезов.

Аналогично эталону.

Рекомендуются следующие критерии оценки маркеров Actin (Smooth Muscle), AFP, Vcl-2, Vcl-6, Cromogranin A, IgA, IgG, Desmin, GFAP, S100, Melan-A, NSE, Thyroglobulin, , Fascin, Alfa-1-Antitrypsin, CK (pan Cytokeratin (клон MNF 116), Cytokeratin 5/6, Cytokeratin 7, Cytokeratin 8, Cytokeratin 18, Cytokeratin 20, Cytokeratin (High Molecular Weight), Vimentin: **(SCORE)**:

Опухоль считается *отрицательной* при отсутствии цитоплазматического окрашивания или при окрашивании менее 10% клеток;

- опухоль оценивается в 1 балл (1+) при окрашивании цитоплазмы от 10 до 25% клеток;
- в 2 балла (2+) – при окрашивании цитоплазмы от 26 до 50% клеток;
- в 3 балла (3+) – при окрашивании цитоплазмы более чем у 50% клеток.

Представленные иммуногистохимические методики позволяют стандартизировать проводимые исследования в специализированных лечебных учреждениях Республики Беларусь и определять диагностические и прогностические маркеры при злокачественных новообразованиях различных локализаций. В зависимости от уровня экспрессии тканевых молекулярно-биологических маркеров пациенты могут быть отнесены к группам низкого и высокого риска опухолевой прогрессии.

Для унификации оценки результатов иммуногистохимических исследований предлагается следующая компьютерная программа:

Начало работы с программой начинается с открытия диалогового окна представленного на рис. 1.

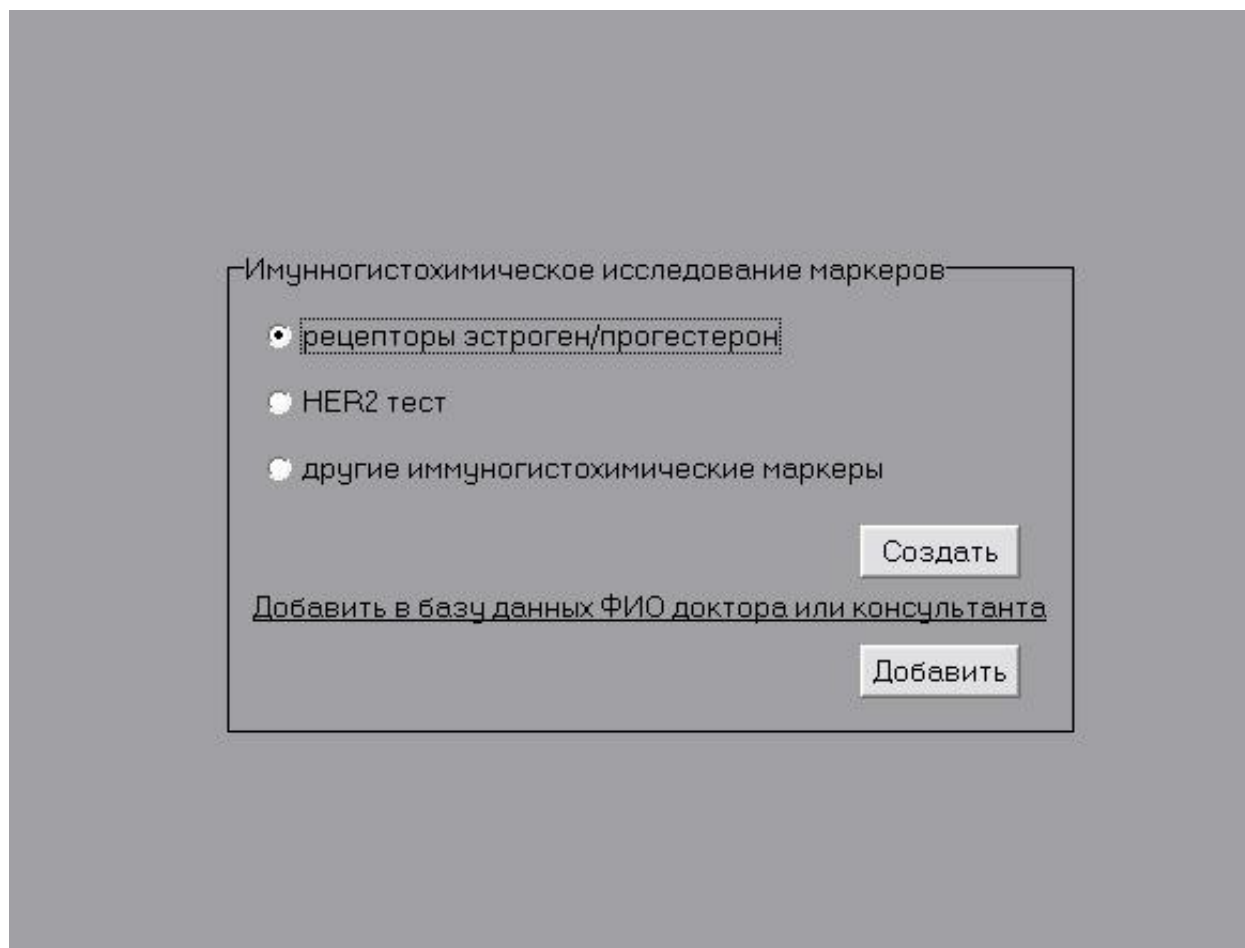
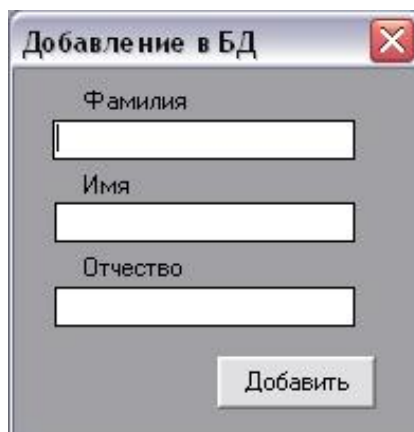


Рисунок 1. Главное диалоговое окно программы

Добавляется ФИО докторов и консультантов для дальнейшего удобства пользования программой. Для этого требуется нажать кнопку «добавить» под

соответствующей надписью и в появившемся окне (рис. 2) ввести информацию и нажать кнопку «Добавить».



Добавление в БД

Фамилия

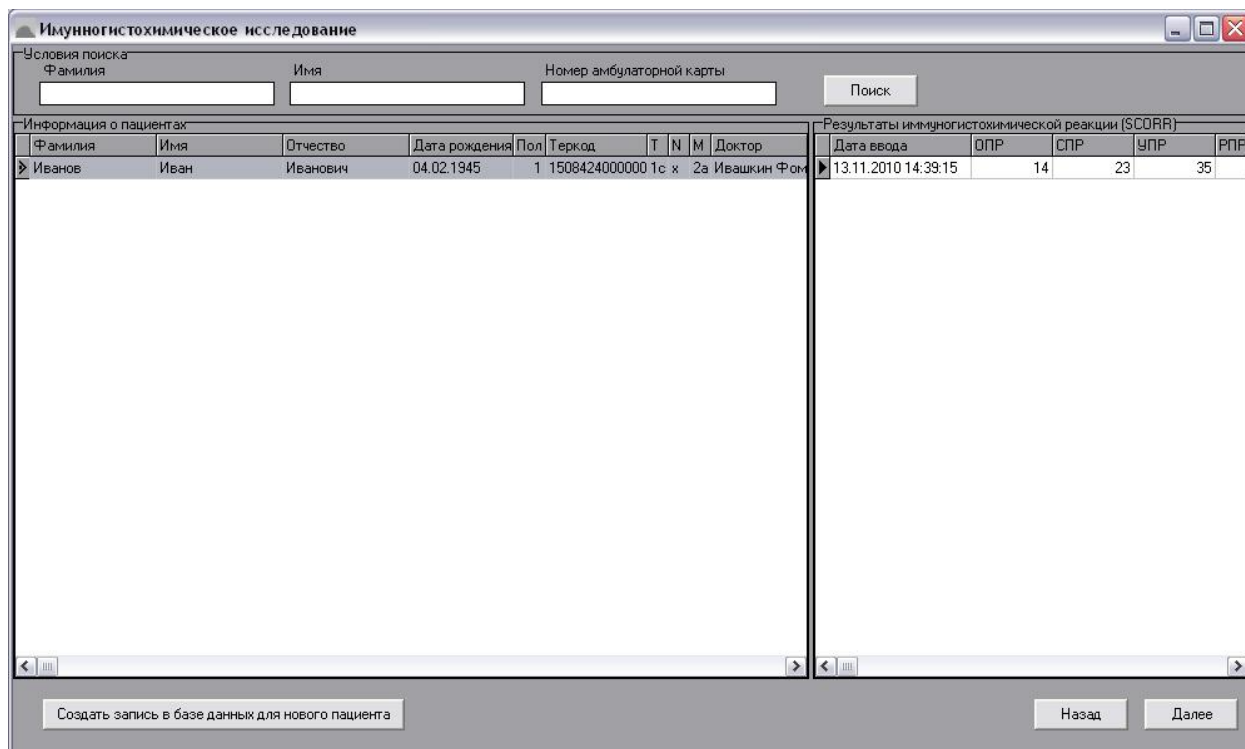
Имя

Отчество

Добавить

Рисунок 2. Окно ввода ФИО доктора или консультанта в БД

Проведение иммуногистохимического исследования требует выбора типа маркера. Программа позволяет работать с тремя различными наборами маркеров представленных на рисунке 1. При выборе любого из типов анализа появится окно (рис 3).



Иммуногистохимическое исследование

Условия поиска: Фамилия, Имя, Номер амбулаторной карты, Поиск

Информация о пациентах

Фамилия	Имя	Отчество	Дата рождения	Пол	Теркод	T	N	M	Доктор
Иванов	Иван	Иванович	04.02.1945	1	1508424000000	1с	x	2а	Ивашкин Фом

Результаты иммуногистохимической реакции (SCORR)

Дата ввода	ОПР	СПР	УПР	РПР
13.11.2010 14:39:15	14	23	35	

Создать запись в базе данных для нового пациента

Назад Далее

Рисунок 3. Окно информации о пациентах и присутствующих у них результатов иммуногистохимических реакций

В нем отображается информация о пациентах, хранящаяся в базе данных. При выборе определенного пациента в таблице «информация о пациентах» с помощью нажатия левой кнопки мыши, в правой таблице «Результаты иммуногистохимической реакции», отобразятся исследования, которые уже были проведены для него. Для удобства пользователя реализуется функция поиска по пациентам. В условии поиска требуется набирать (можно не полностью) фамилию, имя и/или номер амбулаторной карты, и нажать кнопку «Поиск».

Для создания в базе данных нового пациента требуется нажать кнопку с соответствующим названием в левом нижнем углу окна программы. Появится окно представленное на рис. 4.

Рисунок 4. Создание записи для нового пациента

С помощью этого окна осуществляется ввод данных о пациентах. Окно позволяет вводить такую информацию, как ФИО пациента, пол, дата рождения, место жительства (используется справочник теркодов), дата учета, TNM, гистология, номер карты, врач, консультант и гистологическое заключение. Затем следует нажать кнопку «Создать».

Примечание:

1. Ввод данных о поле пациента кодируется следующим образом: (1- мужской, 2-женский);

2. При вводе данных о теркоде выбирается область, район и населенный пункт.

Пример расчета показателей экспрессии иммуногистохимических маркеров.

Рецепторы эстроген и прогестерон.

Выбирается в главном окне программы рис. 1 «Рецепторы эстроген/прогестерон» и нажимается кнопка «Создать». Для проведения исследования требуется выбрать пациента в таблице «Информация о пациенте» (пациент считается выбранным, когда указатель меняется с треугольника на стрелку), и нажать кнопку «Далее». Появится окно(рис. 5).

Результаты иммуногистохимической реакции (эстроген/прогестерон)

Иванов, Иван Иванович, 04.02.1945

Ввод готовых значений

Подсчет через клавиатуру

Общее число ядер
0

Расшифровка:
ОПР - отсутствие положительной реакции
СПР - слабоположительная реакция
УПР - умеренноположительная реакция
РПР - резкоположительная реакция

Число ядер с ОПР	Число ядер с СПР	Число ядер с УПР	Число ядер с РПР
0	0	0	0
Процент ядер с ОПР	Процент ядер с СПР	Процент ядер с УПР	Процент ядер с РПР
0	0	0	0

Дата просмотра: 04.02.2010

Маркер: []

Индекс SCORE: 0

Очистить поля Назад Сохранить в базу данных

Рисунок 5. Результаты иммуногистохимической реакции эстроген/прогестерон

В этом окне есть функции, которые являются общими для всех видов анализа, такие как ввода готовых значений, при выборе которых можно вводить число ядер, уже ранее посчитанных, функция ввода через клавиатуру, при выборе которой можно осуществлять подсчет числа ядер при нажатии клавиш

соответствующих определенной окраске ядер и дата проведения анализа. Требуется выбрать тип маркера – эстроген или прогестерон. Индекс SCORE подсчитывается автоматически. При нажатии кнопки «Сохранить в базу данных», информация размещается в БД.

Проведение HER2 теста.

На рисунке 1 выбирается опция с соответствующим названием и нажимается кнопка «Создать». В окне на рисунке 2, выбираем пациента и нажимаем кнопку «Далее». Появится окно рис. 6.

Результаты иммуногистохимической реакции HER2 тест

Иванов, Иван Иванович, 04.02.1945

Ввод готовых значений
 Подсчет через клавиатуру

Общее число ядер
0

Расшифровка
00 - Отсутствие окраски
ТПО - Тонкая прерывистая окраска
ТСО - Тонкая сплошная окраска
ТолСО - Толстая сплошная окраска

Число мембран с 00	Число мембран с ТПО	Число мембран с ТСО	Число мембран с ТолСО
0	0	0	0
Процент мембран с 00	Процент мембран с ТПО	Процент мембран с ТСО	Процент мембран с ТолСО
0	0	0	0

Дата просмотра: 04.02.2010

Индекс SCORE: 0

Очистить поля Назад Сохранить в базу данных

Рисунок 6. Результаты иммуногистохимической реакции HER2 тест

В этом окне есть функции, которые являются общими для всех видов анализа, такие как ввода готовых значений, при выборе которых можно вводить число ядер, уже ранее посчитанных, функция ввода через клавиатуру, при выборе которой можно осуществлять подсчет числа ядер при нажатии клавиш соответствующих определенной окраске мембран и дата проведения анализа.

Индекс SCORE подсчитывается автоматически. При нажатии кнопки «Сохранить в базу данных», информация размещается в БД.

Другие иммуногистохимические маркеры.

На рисунке 1 выбирается опция с соответствующим названием и нажимается кнопка «Создать». В окне на рисунке 2, выбирается пациент и нажимается кнопка «Далее». Появляется окно (рис. 7) «Результаты иммуногистохимической реакции». В этом окне имеются функции, которые являются общими для всех видов анализа, такие как ввода готовых значений, при выборе которых можно вводить число окрашенных ядер, мембранных и/цитоплазматических структур, уже ранее посчитанных, функция ввода через клавиатуру, при выборе которой можно осуществлять подсчет числа ядер, мембранных и/или цитоплазматических структур при нажатии клавиш соответствующих определенной окраске и дата проведения анализа. Индекс SCORE подсчитывается автоматически. Выбирается тип маркера. При нажатии кнопки «Сохранить в базу данных», информация размещается в БД.

The screenshot shows a software window titled "Результаты иммуногистохимической реакции" (Results of immunohistochemical reaction). The window contains the following elements:

- Header: sdf, asdfg sdf, 04.02.1945
- Checkboxes: Ввод готовых значений, Подсчет через клавиатуру
- Legend: **Расшифровка**
OO - Отсутствие окраски
ПО - Присутствие окраски
- Input fields: **Общее число** (0), **Число с OO** (0), **Число с ПО** (0), **Процент с OO** (0), **Процент с ПО** (0)
- Buttons: **+** and **-** for each of the two columns of counts.
- Dropdown: **Дата просмотра** (04.02.2010)
- Input field: **Индекс SCORE** (0)
- Dropdown: **Тип маркера** (EMA)
- Buttons at the bottom: **Очистить поля**, **Назад**, **Сохранить в базу данных**

Рисунок 7. Результаты иммуногистохимической реакции

Программа позволяет создавать автоматический отчет для определенного пациента. Для этого требуется в окне рис. 2 сделать двойной щелчок левой клавишей мыши на определенного пациента в таблице «Информация о пациентах» рис. 8.

Информация о пациенте.

Иванов, Иван Иванович, 13.11.1956

Иммуногистохимическое исследование маркеров

Дата исследования	SCORE	Расшифровка SCORE	Маркер
Исследование маркерами эстроген/прогестерон			
04.02.2010	5	Умеренный ответ на терапию 2-го уровня	Эстроген
Тест HER2			
04.02.2010	3	Резкопозитивная реакция	HER2

Здесь размещается гистологическое заключение

Врач

Ивашкин Ф. В.

Консультант

Вишенков А. Ф.

Рисунок 8. Форма отчета выдаваемая программой.

Примечание:

Программа не осуществляет сложных расчетов или преобразований, поэтому ее технические требования совпадают с требованиями операционной системы, на которой она может работать. Тестирование работы программы проводилось на Windows 2000 и XP. Так как данные хранятся в базе данных Microsoft Access, а отчет выводится в формате Microsoft Word, то обязательным требованием является установка этих двух приложений на рабочей машине.

Возможные ошибки и осложнения:

Ошибочные результаты при исследовании тканевых маркеров иммуногистохимическим методом могут быть получены при использовании реагентов с истекшим сроком годности, неточном дозировании реагентов, неправильном заборе и фиксации патоморфологического материала, нарушениях в технологии лабораторного тестирования (время инкубации, температурный режим и т. д.).