

добровольной сертификации процессов лабораторных исследований в здравоохранении». Эта работа Федеральным агентством по надзору в сфере здравоохранения поручена некоммерческому партнерству — Центр внешней оценки качества лабораторных исследований (ФСВОК). Для микробиологических лабораторий также разрабатывается нормативный документ для проведения указанной процедуры.

Можно полагать, что принятие нормативов играет ключевую роль и в принципиальном из-

менении статуса производителей продукции для лабораторной диагностики и введения аккредитации производства средств для лабораторной диагностики (оборудование, реактивы, контрольные материалы) в соответствии с принципами ISO.

В совокупности вектор развития лабораторной медицины направлен на несомненное обеспечение качества клинических лабораторных исследований, и национальный проект «Здоровье» придал этому процессу несомненное ускорение.

ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА ГОНОРЕИ В САНКТ-ПЕТЕРБУРГЕ, РОССИЯ: АНАЛИЗ КОЛИЧЕСТВА ПРОБ, ОЦЕНКА МЕТОДОВ ДИАГНОСТИКИ, РЕКОМЕНДАЦИИ ПО ОПТИМИЗАЦИИ

М. Унемо¹, А. Савичева², О. Будилова², Е. Соколовский³,
М. Ларссон¹, М. Домейка⁴ (marius.domeika@medsci.uu.se)

¹ Национальная референс-лаборатория патогенных нейссерий отделения клинической микробиологии госпиталя университета Оребро, Швеция;

² Лаборатория микробиологии НИИ акушерства и гинекологии им. Д. О. Отта РАМН, Санкт-Петербург, Россия;

³ Государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова, Санкт-Петербург, Россия;

⁴ Отделение медицинских наук, Уппсальский университет, Швеция

Цель: Провести анализ лабораторной диагностики инфекций, вызываемых *Neisseria gonorrhoeae*, в пяти лабораториях Санкт-Петербурга и Ленинградской области, с учетом количества исследуемых проб и диагностических характеристик используемых методов, и выработать рекомендации по улучшению качества диагностики гонореи на основе международных стандартов.

Методы: Данные были получены из анкет, заполненных врачом-лаборантом, а также во время посещения лабораторий, участвовавших в исследовании. Для оценки качества питательных сред были использованы референс-штаммы *N. gonorrhoeae* (n=29).

Результаты: В 2004 году в пяти лабораториях методом микроскопии было исследовано 330 879 мазков, окрашенных по Граму. В 407 из них обнаружены грамотрицательные диплококки, морфологически сходные с гонококками. Культуральным методом исследовано 38 020 проб, из них 420 были положительными в отношении *N. gonorrhoeae*. Четыре лаборатории для культуральной диагностики использовали российскую неселективную среду Комплегон, одна лаборатория использовала селективную среду Biocult-GC (Финляндия). Обе среды оказались недостаточно оптимальными для выявления *N. gonorrhoeae*. Только две лаборатории использовали какие-либо

методы для идентификации *N. gonorrhoeae*. В остальных лабораториях использовался лишь оксидазный реагент. Тестирование *N. gonorrhoeae* на чувствительность к антибиотикам проводили в двух лабораториях и анализировали только редкие штаммы. Ни в одной лаборатории не было полной оценки качества диагностики.

Заключение: Диагностика инфекций, вызываемых *N. gonorrhoeae*, в Санкт-Петербурге и Ленинградской области не в полной мере соответствует международным рекомендациям. Для выделения гонококков должны быть в основном использованы селективные питательные среды и, более того, следует более часто определять чувствительность штаммов к антибиотикам и проводить видовую идентификацию *N. gonorrhoeae*. Кроме того, используемые методы культивирования и определения чувствительности к антибиотикам, включая среду и критерии интерпретации результатов, должны быть оптимизированы и стандартизированы; качество лабораторной диагностики должно подтверждаться систематическими внутренними и внешними контролями.

С середины 1990-х годов возросло количество случаев гонореи в целом ряде стран Западной Европы [6]. В то же время в некоторых странах Восточной Европы, например, в России, Белоруссии и странах Балтии, приблизительное

число случаев гонореи с середины 1990-х почти ежегодно уменьшается [4, 12]. В 2003 году в Санкт-Петербурге и Ленинградской области было зарегистрировано следующее количество случаев гонореи: 53 на 100 000 и 34,4 на 100 000 жителей соответственно [4]. Однако во многих странах Восточной Европы до сих пор не существует надежных статистических данных, что главным образом является результатом недостаточно качественной диагностики, неполной регистрации случаев заболевания, а также распространенности самолечения.

Несмотря на все большее применение диагностических методов, основанных на ДНК/РНК, культивирование *Neisseria gonorrhoeae* остается «золотым» стандартом диагностики в основном из-за возможности проведения теста на чувствительность к антибиотикам. Население Санкт-Петербурга и Ленинградской области составляет 4,6 миллиона и 1,6 миллиона жителей соответственно. Тем не менее, только три муниципальных лаборатории кожно-венерологических диспансеров в Санкт-Петербурге и одна в Ленинградской области согласно приказам муниципальных органов здравоохранения обязаны проводить культуральный тест на *N. gonorrhoeae* постоянно. К тому же только одна федеральная лаборатория сообщила об использовании культуральной диагностики *N. gonorrhoeae*. Вместе с тем, культуральные тесты или тесты, основанные на амплификации нуклеиновых кислот *N. gonorrhoeae*, возможно проводятся и в других муниципальных, федеральных или частных лабораториях (исследования в этом направлении продолжаются). Остальные учреждения используют для диагностики исключительно микроскопическое исследование окрашенных мазков.

Целью данного исследования являлось проведение всестороннего анализа количества проб и оценка качества лабораторной диагностики инфекции, вызванной *N. gonorrhoeae*, в пяти лабораториях Санкт-Петербурга и Ленинградской области в 2004 году и выработка рекомендаций по улучшению качества диагностики гонореи в соответствии с международными стандартами, основанными на методах доказательной медицины.

Материалы и методы

В исследование были включены все лаборатории, проводящие культуральную диагностику *N. gonorrhoeae* в Санкт-Петербурге и Ленинградской области в 2004 году (n=5). Данные были получены путем анкетирования, а также при посещениях лабораторий, участвующих в исследовании.

Анкеты включали 28 основных вопросов с 4 подпунктами. Во время посещений лабораторий особое внимание уделялось сбору информации о

количестве проб, о технологии проведения анализа (то есть процедурах взятия материала, типах исследуемых образцов, транспортировке проб, используемых диагностических методах и т. д.), о контроле качества диагностики инфекции, вызванной *N. gonorrhoeae*.

Для оценки качества культуральной среды, используемой в лабораториях, применяли суспензии 29 референс-штаммов *N. gonorrhoeae*, которые культивировали на оцениваемой среде и для сравнения на неселективной и селективной международными референс-средах [4].

Чтобы оценить качество диагностики инфекции, вызванной *N. gonorrhoeae*, осуществляемой в лабораториях, были использованы международные рекомендации, основанные на принципах доказательной медицины [3, 5, 11].

Результаты и обсуждения

В течение 2004 года в пяти лабораториях проводились исследования на *Neisseria gonorrhoeae* с использованием микроскопических и культуральных методов. Микроскопическими методами исследовано 330 879 мазков, окрашенных по Граму, из них в 407 обнаружены грамтрицательные диплококки, морфологически сходные с гонококками. Культуральным методом исследовано 38 020 проб, из них 420 были положительными в отношении *N. gonorrhoeae* (табл. 1). Таким образом, большинство проб было исследовано микроскопическими методами в связи с более высокой стоимостью культурального метода.

Материал из уретры (все мужские образцы и 36 % проб от женщин), цервикальные образцы и образцы, полученные из вульвы у девушек, были проанализированы микроскопическими методами (табл. 1). Однако, согласно лабораторным протоколам образцы из влагалища, прямой кишки, предстательной железы и конъюнктивы также могут быть использованы. Микроскопический метод исследования окрашенных мазков, полученных из уретры мужчин, был высокочувствительным (95 %) и специфичным (97 %) [10, 11]. Эти данные свидетельствуют о том, что для исследования на гонорею уретральных проб, взятых у мужчин, микроскопического метода диагностики с окрашиванием по Граму достаточно, и нет необходимости проводить культуральное исследование. Это согласуется и с данными, приведенными в международных руководствах [5, 11].

Однако чувствительность микроскопического метода исследования окрашенных мазков, полученных из цервикального канала, достигает лишь 40–60 %, а специфичность — 80–95 % [10, 11]. Таким образом, материалы из цервикального канала, так же как пробы из прямой кишки и задней

стенки глотки, все пробы при бессимптомном течении гонореи, а также для контроля излеченности следует исследовать культуральным методом [3, 10, 11] или, по крайней мере, следует определять антиген или ДНК *N. gonorrhoeae* [3, 5].

Небольшой процент положительных образцов, полученных при микроскопическом исследовании материалов от женщин, может указывать на то, что микроскопический метод диагностики гонореи может быть оптимизирован. Тем не менее, никаких очевидных недостатков в проведении диагностической методики выявлено не было, и эти данные могут свидетельствовать о том, что пациенты принадлежат к популяции с низким риском инфицирования. Использование микроскопического метода исследования окрашенных уретральных, цервикальных и ректальных проб может способствовать постановке предварительного диагноза в большинстве случаев при наличии клинически выраженных симптомов заболевания [3]. Однако для подтверждения диагноза гонореи во всех случаях должны использоваться культуральные методы, а также методы амплификации нуклеиновых кислот (МАНК) [3]. Следует особо подчеркнуть, что культивирование гонококков позволяет проводить тестирование на чувствительность их к антибиотикам [3].

Уретральные образцы (97 % мужских проб и 5 % проб от женщин), все цервикальные образцы, ректальные образцы (2 % мужских проб), эякулят (1 % мужских проб) и пробы из вульвы от девушек были культивированы на питательных средах (табл. 1). Однако, согласно лабораторным протоколам, культуральная диагностика образцов из влагалища, задней стенки глотки и конъюнктивы также может быть проведена. Для культуральной диагностики гонореи четыре муниципальных лаборатории использовали главным образом неселективную российскую питательную среду Комплегон, а федеральная лаборатория использовала среду Биокульт (Финляндия) (табл. 2).

При оценке используемых питательных сред, таких как Комплегон (из 4 лабораторий) и Биокульт (из 1 лаборатории) выявлены неоптимальные характеристики обеих сред, такие как разница между средами в разных партиях, недостаточная селективность (Комплегон), недостаточное количество питательной среды, необходимой для поддержания роста и выделения гонококков (недостаточное время для выявления роста микроорганизмов, малое число и размер колоний). Поэтому необходимо рассмотреть вопрос о том, чтобы увеличить объем, улучшить питательные и селективные характеристики используемой среды, что является решающим для культивирования экстрагенитальных образцов, а также поз-

волит улучшить качество диагностики образцов из уретры и цервикса [11]. Кроме того, наряду с использованием селективных питательных сред необходимо применять и неселективные среды для выделения редких штаммов *N. gonorrhoeae*, которые могут быть чувствительны к используемым в селективных средах антибиотикам. Однако в большинстве стран такие штаммы встречаются редко [11]. Более того, рост на агаре колонии следует просматривать через 18–24 часа инкубации, а при отрицательном результате также через 48 часов [11].

С целью идентификации гонококков только две лаборатории использовали какой-либо метод видовой идентификации: Neisseria 4Н для экстрагенитальных образцов (лаборатория В) и API NH и АмплиСенс *Neisseria gonorrhoeae* ПЦР набор для всех штаммов (лаборатория А) (табл. 2). Следовательно, только эти лаборатории могут выдавать окончательное заключение о выделении *Neisseria gonorrhoeae* в различных клинических образцах (табл. 2) [11].

Две лаборатории проводили тест на чувствительность *Neisseria gonorrhoeae* к антибиотикам (табл. 2). Однако лечащие врачи редко запрашивают это исследование, и ежегодно анализируются лишь несколько проб. Для этой цели используется диско-диффузионный метод на питательной среде Комплегон. Здесь необходимо отметить, что используемый критерий определения чувствительности или резистентности гонококков — зона задержки роста, был разработан для агаровой среды Mueller Hinton. В настоящее время устойчивость *N. gonorrhoeae* к антибиотикам широко распространена во всем мире и растет во многих странах [1, 2, 7–10]. Однако отмечены географические вариации, и лечащих врачей следует информировать о местных наблюдениях за чувствительностью [2, 3, 7, 8]. Информация относительно чувствительности к антибиотикам *N. gonorrhoeae* в России неполная [1, 2], а в Санкт-Петербурге и Ленинградской области надежная информация, касающаяся уровня устойчивости *N. gonorrhoeae* к антибиотикам, полностью отсутствует.

Ни одна из лабораторий не имеет полной, обеспеченной системы лабораторного контроля качества. Однако полное российское руководство 1986 года, которое определенно нуждается в обновлении, имелось во всех лабораториях.

В заключение следует отметить, что это исследование предоставило уникальную информацию относительно недостаточно оптимальной диагностики инфекции, вызванной *N. gonorrhoeae*, в Санкт-Петербурге и Ленинградской области, что может отражать ситуацию и в других регио-

Таблица 1

Число проб, пол пациентов, тип образцов, проанализированные на *N. gonorrhoeae* методом микроскопии окрашенных мазков и культуральным методом в пяти лабораториях Санкт-Петербурга и Ленинградской области, Россия, в 2004 году

Лаборатория	Число проб, проанализированных микроскопией** (положительные)					Число проб, проанализированных культуральным методом (положительные)							
	Всего	Мужчины			Женщины		Всего	Мужчины			Женщины		
		Уретра	Прямая кишка	Сперма	Цервикальный канал	Уретра		Вульва	Уретра	Цервикальный канал	Сперма	Уретра	Вульва
A	184 980 (10)	12 756 (3)	-	-	100 464 (5)	71 760 (2)	-	1294 (1)	-	50 (1)	214 (1)	-	-
B	28 151 (190)	2901 (52)	-	-	14 620 (90)	10 630 (48)	-	174 (6)	2 (1)	-	915 (36)	411 (15)	-
C	14 101 (182)	2387 (29)	-	-	8493 (92)	3077 (61)	144 (-)	2313 (34)	36 (-)	4 (-)	11 789 (91)	120 (68)	286 (1)
D	101 579 (6)	1016 (-)	-	-	75 680 (6)	24 883 (-)	-	1728 (32)	106 (-)	-	17 342 (132)	1012 (-)	193 (1)
E	2068 (19)	820 (7)	-	-	849 (12)	399 (-)	-	10 (-)	-	-	21 (-)	-	-
Всего	330 879 (407)	19 880 (91)	-	-	200 106 (205)	110 749 (111)	-	5519 (73)	144 (1)	54 (1)	30 281 (260)	1 543 (83)	479 (2)

* — Все лаборатории проводили микроскопию и посев на среду в кабинете врача.
 ** — Все мазки были окрашены метиленовым синим и по Граму.

Таблица 2

Диагностические характеристики культивирования *N. gonorrhoeae* в пяти лабораториях Санкт-Петербурга и Ленинградской области, Россия, в 2004 году

Лаборатория ¹	Культуральная среда	Контроль качества среды роста (серийность)	Время инкубации	Подтверждение вида	Тест на чувствительность к антибиотикам ²
A	Биокульт ³	Каждая новая партия, <i>N. gonorrhoeae</i> референс-штаммы культивированы (36–38 °С, 48 часов)	48 часов	Оксидазный тест, микроскопия (окраска по Граму, 1000 x увеличение), API NH ⁴ , ПЦР ⁵	—
B	Комплетон ⁶ (60 мм чашка, 10–12 мл на чашку) или Биокульт (для экстрагенитальных образцов)	Если возникают вопросы, клинические штаммы <i>N. gonorrhoeae</i> культивируются (36–38 °С, 48 часов)	48 часов (проверяются через 24 часа)	Оксидазный тест, микроскопия (окраска по Граму, 900 x увеличение), Neisseria-4H ⁷	Редко
C	Комплетон ⁶ (40 мм чашка, 5 мл на чашку)	Каждая новая партия, <i>N. gonorrhoeae</i> референс-штаммы культивированы (36–38 °С, 48 часов)	48 часов (проверяются через 24 часа)	Оксидазный тест, микроскопия (окраска по Граму, 1000 x увеличение)	—
D	Комплетон ⁶ (3–3,5 мл косые столбики или для детей 60 мм чашки, 10–15 мл на чашку)	Если возникают вопросы, клинические штаммы <i>N. gonorrhoeae</i> культивируются (37 °С, 24 часа)	24 часа	Оксидазный тест, микроскопия (окраска по Граму, 1000 x увеличение)	Редко
E	Комплетон ⁶ (3–3,5 мл косые столбики)	Если возникают вопросы, клинические штаммы <i>N. gonorrhoeae</i> культивируются (37 °С, 24 часа)	72 часа (проверяются через 24 и 48 часов)	Оксидазный тест, микроскопия (окраска по Граму, 1000 x увеличение)	—

¹ Все лаборатории проводили микроскопию и посев на среду в кабинете врача.² Для среды Комплетон использовали метод дисковой диффузии. Диски были приобретены в Исследовательском центре фармакогерации (Санкт-Петербург, Россия) или HiMedia Laboratories Limited (Мумбай, Индия). Использованы критерии трактовки HiMedia Laboratories Limited — зона задержки роста, которая была определена для агаровой среды Mueller Hinton.³ Пленки (5,0x1,5 см) с тонким слоем (1–2 мм) селективной культуральной среды — т. е. модифицированная среда Thayer-Martin, которая инкубируется со стерильной водой на дне и таблетками, генерирующими углекислый газ, при 36–38 °С. Biotect-GC и реагенты, включая оксидазный реагент, произведены Orion Diagnostica, Эспоо, Финляндия.⁴ API NH (BioMerieux, Лион, Франция) для биохимического подтверждения вида.⁵ Амплигенс Neisseria gonorrhoeae набор для ПЦР (Ингерлабервис, Москва, Россия).⁶ Неселективная российская культуральная среда, произведенная Санкт-Петербургским институтом вакцин и сывороток, Россия, которая содержит агар, экстракт мяса кролика, Бакто-пептон, NaCl, аутолизат дрожжей, оротовую кислоту (6-карбокснауридил), бычью сыворотку и гидролизат казеина. Инокулированная среда инкубировалась в емкости со свечой и небольшим количеством воды на дне при 36–38 °С.⁷ Neisseria 4H (BioRad, Франция) для биохимического подтверждения вида.

нах России. Для строгого соблюдения международных рекомендаций, основанных на принципах доказательной медицины, следует исследовать большее количество проб путем культивирования на обогащенных питательных селективных средах. Более того, следует чаще проводить тесты по видовой идентификации *N. gonorrhoeae* и тесты по определению чувствительности к антибиотикам. Кроме того, используемые методы культивирования и определения чувствительности к антибиотикам, включая среду и принятые критерии интерпретации результатов, должны быть оптимизированы и стандартизированы; качество лабораторной диагностики должно подтверждаться систематическими внутренними и внешними контролями качества. Для достижения таких важных улучшений результаты данного исследования, включая рекомендации по конкретной оптимизации, были предоставлены лабораториям, участвующим в исследовании. Оценка селективной питательной среды для культивирования *N. gonorrhoeae* и исследование относительно чувствительности гонококков к антибиотикам продолжается.

Благодарности

Мы благодарим за сотрудничество руководителей и персонал лабораторий, участвовавших в исследовании в Санкт-Петербурге и Ленинградской области. Мы особенно благодарны Ирине Литвиненко (Санкт-Петербургский городской КВД), Светлане Сахарцевой (КВД № 3), Ирине Афониной (КВД № 11) и Ольге Дорофеевой (Центральный КВД Ленинградской области). Это исследование было поддержано грантом Восточно-Европейского комитета Шведского центра охраны здоровья, Швеция.

Литература

1. Устойчивость к антибиотикам *Neisseria gonorrhoeae*, и выявление устойчивости к фторхинолону в России / Зубков М., Кубанова А., Вахнина Т. [и др.] // Ж. клинической микробиологии. — 2004. — Т.10, прилож. 3. — С. 1064.
2. Устойчивость к фторхинолону штаммов *Neisseria gonorrhoeae* из России: вовлеченные молекулярные механизмы / Верещагин В. А., Ильина Е. Н., Малахова М. В. [и др.] // Ж. антимикробной химиотерапии. — 2004. — Т. 53. — С. 653–656.
3. Bignell C. J. European Branch of the International Union against Sexually Transmitted Infection and the European Office of the World Health Organization. European guideline for the management of gonorrhoea / Bignell C. J. // Int. J. STD AIDS. — 2001. — Vol. 12, suppl. 3. — P. 27–29.
4. EpiData / Gonorrhoea. Available at: EpiNorth, A Cooperation Project for Communicable Disease Control in Northern Europe (www.epinorth.org).
5. European Community. Commission Decision No 2002/253/EC of 19 March 2002 laying down case definitions for reporting communicable diseases to the Community network under Decision No 2119/98/EC of the European Parliament and of the Council // Official Journal of the European Communities 3. 4. — 2002. — Vol. 86. — P. 44–62.
6. Fenton K. A. The European Surveillance of Sexually Transmitted Infections (ESSTI) Network. Recent trends in the epidemiology of sexually transmitted infections in the European Union / Fenton K. A., Lowndes C. M. // Sex Transm. Infect. — 2004. — Vol. 80. — P. 255–263.
7. Ison C. A. Susceptibility of gonococci isolated in London to therapeutic antibiotics: establishment of a London surveillance programme / Ison C. A., Martin I. M. // Sex Transm Infect. — 1999. — Vol. 75. — P. 107–111. — (London Gonococcal Working Group.)
8. One year of *Neisseria gonorrhoeae* isolates in Sweden: the prevalence study of antibiotic susceptibility shows relation to the geographic area of exposure / Berglund T, Unemo M, Olce'n P. [et al.] // Int. J. STD AIDS. — 2002. — Vol.13. — P. 109–114.
9. ResNet. *Neisseria gonorrhoeae*. Available at: Antimicrobial resistance — surveillance in Sweden, ResNet (www.srga.org/ResNet_sok.htm).
10. Tapsall J. Antimicrobial resistance in *Neisseria gonorrhoeae* / Tapsall J. // World Health Organization report. WHO/CDS/CSR/DSR/2001.3. — 2001.
11. Van Dyck E. Gonorrhoea / Van Dyck E., Meheus A. Z., Piot P. // Laboratory diagnosis of sexually transmitted diseases. — Geneva: World Health Organization, 1999. — P.1–21.
12. World Health Organization. Gonorrhoea — incidence rate (per 100,000 population). WHO Regional Office for Europe. Available at: Centralized information system for infectious diseases (CISID)/Sexually transmitted infections (STI) (data. euro.who.int/cisid).