



ФЕДЕРАЛЬНОЕ АГЕНТСТВО  
ПО ЗДРАВООХРАНЕНИЮ И СОЦИАЛЬНОМУ РАЗВИТИЮ  
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

**ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ**  
«ЦЕНТРАЛЬНЫЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ  
КОЖНО-ВЕНЕРОЛОГИЧЕСКИЙ ИНСТИТУТ»

**СИСТЕМА ВНЕШНЕГО И ВНУТРЕННЕГО  
КОНТРОЛЯ КАЧЕСТВА ЛАБОРАТОРНОЙ  
ДИАГНОСТИКИ ЗАБОЛЕВАНИЙ,  
ПЕРЕДАВАЕМЫХ ПОЛОВЫМ ПУТЕМ,  
В РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ  
(ОСНОВНЫЕ ПОЛОЖЕНИЯ)**

Москва, 2006 г.

ФЕДЕРАЛЬНОЕ АГЕНТСТВО ПО ЗДРАВООХРАНЕНИЮ И СОЦИАЛЬНОМУ  
РАЗВИТИЮ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

Федеральное государственное учреждение  
«ЦЕНТРАЛЬНЫЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ  
КОЖНО-ВЕНЕРОЛОГИЧЕСКИЙ ИНСТИТУТ»  
(ГУ «ЦНИКВИ Росздрава»)

---

«УТВЕРЖДЕНО»  
Решением Ученого совета  
ГУ «ЦНИКВИ Росздрава»  
Протокол № 13 от 14.10.04 г.  
Председатель Ученого совета  
ГУ «ЦНИКВИ Росздрава»  
Академик РАМН, профессор  
\_\_\_\_\_ А.А.Кубанова

**Система внешнего и внутреннего контроля качества  
лабораторной диагностики заболеваний,  
передаваемых половым путем,  
в Российской Федерации**

(Основные положения)

Москва, 2006 г.

1. Методология «Система внешнего и внутреннего контроля качества лабораторной диагностики заболеваний, передаваемых половым путем, в Российской Федерации» разработана в рамках выполнения Федеральной целевой программы «Предупреждение и борьба с заболеваниями социального характера», утвержденной постановлением Правительства Российской Федерации от 13 ноября 2001 года № 790, и реализации мероприятий в рамках подпрограммы «О мерах по предупреждению дальнейшего распространения заболеваний, передаваемых половым путем».

2. Сборник подготовлен под руководством директора ГУ «ЦНИКВИ Росздрава» академика РАМН, профессора А.А. Кубановой коллективом авторов: д.м.н. Н.В. Фриго, к.м.н. С.В. Ротановым, д.м.н. А.А. Кубановым, к.м.н. Т.В. Припутневич, к.б.н. Т.Е. Вахниной в сотрудничестве с представителями ГУ «НИИЭМ им Н.Ф. Гамалеи» проф., д.м.н. В.Г. Нестеренко, д.м.н. А.П. Суловым, М.В. Коноплевой.

## СОДЕРЖАНИЕ

Введение .....	4
Система внешнего и внутреннего контроля качества серологической диагностики сифилиса в Российской Федерации .....	6
I. Эпидемиология сифилиса .....	6
II. Состояние и проблемы современной диагностики сифилиса .....	7
III. Система внешнего и внутреннего контроля качества серологической диагностики сифилиса .....	17
Основные положения системы внешнего контроля качества (ВКК) лабораторной диагностики сифилиса (проект) .....	23
Методология проведения внешнего и внутрилабораторного контроля качества лабораторной диагностики возбудителей ИППП (основные положения) .....	30

## ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время в Российской Федерации сложилась напряженная эпидемиологическая ситуация, связанная с резким ростом числа заболеваний, передаваемых половым путем (ИППП). Остается высоким уровень заболеваемости (на 100 тысяч населения в 2004 году): гонореей — 79,0, уrogenитальным хламидиозом — 101,7, трихомониазом — 244,7, сифилисом — 79,2. Общее число случаев ИППП на 100 тысяч населения составило в 2004 году 799 621.

ИППП часто приводят к развитию осложнений, неблагоприятно влияющих на состояние здоровья населения, в том числе и репродуктивное.

В последние годы произошли изменения основных факторов, определяющих эпидемиологический процесс распространения ИППП: характера сексуальных связей, частоты смены партнеров, длительности периода, в течение которого инфицированный человек остается контагиозным и является источником инфицирования. В связи с этим требуется реализация комплексных мер, направленных на выявление всех случаев ИППП на территории Российской Федерации.

ИППП относятся к группе социально обусловленных заболеваний, роль которых возрастает в условиях экономической нестабильности общества и широкого распространения «триггерных факторов» ИППП — наркомании, алкоголизма, ВИЧ-инфекции.

Социальная значимость ИППП предопределила принятие Правительством России Федеральной Целевой программы «Предупреждение и борьба с заболеваниями социального характера (2002-2006 гг.)» и ее подпрограммы «О мерах по предупреждению дальнейшего распространения заболеваний, передаваемых половым путем» (постановление Правительства Российской Федерации № 790 от 13 ноября 2001 года).

Ключевым моментом, позволяющим своевременно выявлять ИППП, а также контролировать качество проведенного лечения, является лабораторная диагностика.

Обязательным условием надежной аналитической работы лабораторий, занимающихся диагностикой ИППП, является контроль качества диагностики. Он подразумевает выполнение как внешних, так и внутренних контрольных мер. При этом, если внешний контроль качества направлен, прежде всего, на выявление систематических ошибок лабораторных методов и обеспечение единства измерений на территории страны, то внутрилабораторная оценка качества предназначена для поддержания стабильности аналитической системы, выявления и устранения недопустимых случайных и систематических погрешностей.

Наличие системы внутрилабораторного контроля качества является одним из оснований для аккредитации и лицензирования лабораторий.

Существует большой перечень нормативных документов, регламентирующих осуществление как внешнего, так и внутреннего контроля качества лабораторных исследований в России — начиная от обширных приказов и заканчивая отраслевыми стандартами:

- Приказ Минздрава России № 295 1993 г. «Об утверждении Положения об аккредитации клиничко-диагностических лабораторий»
- Приказ МЗМП РФ № 9 от 1994 г. «О совершенствовании работы по внешнему контролю качества клинических лабораторных исследований»
- Приказ МЗМП РФ № 117 1995 г. «Об участии клиничко-диагностических лабораторий лечебно-профилактических учреждений России в Федеральной системе внешней оценки качества клинических лабораторных исследований»
- Приказ МЗМП РФ № 60 от 19.02.1996 г. «О мерах по дальнейшему совершенствованию Федеральной системы внешней оценки качества клинических лабораторных исследований»
- Приказ Минздрава России № 233 1996 г. «Об аккредитации клиничко-диагностических лабораторий в качестве экспертных»

- Приказ Минздрава России №380 от 25.12.1997 «О состоянии и мерах по совершенствованию лабораторного обеспечения диагностики и лечения пациентов в учреждениях здравоохранения Российской Федерации»
- Приказ Минздрава России № 45 от 7.02.2000 «О системе мер по повышению качества клинических лабораторных исследований в учреждениях здравоохранения Российской Федерации»
- Приказ Минздрава России № 87 от 26.03.2001 «О совершенствовании серологической диагностики сифилиса»
- Приказ Минздрава России № 220 от 26.05.2003 «Об утверждении отраслевого стандарта «Правила внутрилабораторного контроля качества количественных исследований в клинико-диагностических лабораториях»

С 1995 года в стране функционирует Федеральная система внешней оценки качества клинических исследований (ФСВОК), целью которой является оказание помощи КДЛ в обеспечении качества исследований в условиях соблюдения конфиденциальности получаемых от лабораторий результатов. Участие в ФСВОК является обязательным для лицензирования и аккредитации лабораторий.

Вместе с тем, на настоящий момент система ФСВОК не обеспечивает полноценного контроля качества работы лабораторий, занимающихся диагностикой ИППП, в условиях их эпидемического распространения, т.к. не охватывает всю территорию России, использует при контроле качества незарегистрированные контрольные материалы, не учитывает уровень оснащения лабораторий и применяемых в них диагностических методов. Все это вызывает необходимость создания именно Системы контроля качества лабораторной диагностики ИППП, которая объединяла бы в себе ряд позиций, объединенных в рамках общей методологии внешнего и внутреннего контроля качества лабораторной диагностики ИППП:

- методы диагностики ИППП, подлежащие тестированию;
- контрольные материалы, применяемые в целях осуществления внешнего и внутреннего контроля качества лабораторной диагностики ИППП;
- лаборатории, принимающие участие в диагностике ИППП;
- порядок осуществления внешнего и внутреннего контроля качества лабораторной диагностики ИППП.

Изложенные на страницах настоящего сборника положения являются первой попыткой систематизировать внешний и внутренний контроль качества лабораторной диагностики ИППП с учетом вышеизложенных позиций.

Мы надеемся, что приведенные в настоящем сборнике материалы позволят всем специалистам, занимающимся диагностикой сифилиса и других ИППП, подойти к проблеме контроля качества вполне осознанно и взвешенно, с учетом применения общепринятых стандартных методов диагностики, использования разрабатываемых в настоящее время ГУ «ЦНИКВИ Росздрава» сертифицированных контрольных материалов, правильной организации работы лабораторий и знаний о порядке и периодичности проведения внешнего и внутрилабораторного контроля качества исследований. Все это, в конечном итоге, будет способствовать нашей общей цели — снижению заболеваемости сифилисом в России, а в дальнейшем, возможно, и к его ликвидации.

# СИСТЕМА ВНЕШНЕГО И ВНУТРЕННЕГО КОНТРОЛЯ КАЧЕСТВА СЕРОЛОГИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКИ СИФИЛИСА В РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

## І. ЭПИДЕМИОЛОГИЯ СИФИЛИСА

Одной из приоритетных задач отечественного здравоохранения является борьба с сифилисом — хронической инфекцией, вызываемой бледной трепонемой, характеризующейся смесью манифестных и скрытых форм болезни и длительностью течения.

Распространение сифилиса среди населения может иметь далеко идущие социально-демографические последствия в виде патологии беременности и родов, мертворождений и появления детей с врожденным сифилисом, инвалидизации больных вследствие развития поздних форм сифилиса с нейро- и кардиоваскулярной симптоматикой, эпидемического распространения скрытых форм инфекции, в особенности среди населения с низким уровнем культуры и девиантным поведением.

Несмотря на наметившееся в последние годы в РФ снижение уровня заболеваемости сифилисом вообще (на 28% в сравнении с 2000 годом) и врожденным сифилисом в частности (на 13%), в последние годы отмечается ряд негативных тенденций, связанных с перераспределением структуры заболеваемости и резким «омоложением» этого заболевания (А.А.Кубанова, Л.И.Тихонова, 2004):

- отмечается снижение удельного веса первичного и вторичного сифилиса в пользу эпидемиологически опасного раннего скрытого сифилиса, а также поздних форм инфекции, среди которых все более заметным становится рост нейро- и висцерального сифилиса с манифестными клиническими проявлениями;
- наблюдается резкий подъем заболеваемости сифилисом среди детей и подростков, в особенности девочек (в 3 раза выше, чем мальчиков); при этом почти каждый третий ребенок в возрасте до 14 лет заражается половым путем;
- растет число девочек-подростков, занимающихся проституцией; при этом заболеваемость среди них сифилисом вдвое выше, чем среди девушек аналогичного возраста, не занятых в сфере коммерческого секса;
- несмотря на тенденцию к снижению, остается высокой заболеваемость врожденной сифилитической инфекцией (619 — в 2002 году);
- отмечается увеличение заболеваемости сифилисом среди беременных (за последние 8 лет — почти в 3 раза);
- регистрируется резкий рост заболеваемости сифилисом среди заключенных и осужденных, в десятки раз превышающий показатель заболеваемости среди гражданского населения;
- наблюдается трудно объяснимое «смещение акцентов» заболеваемости сифилисом с южных округов Российской Федерации в Сибирь и на Дальний Восток;
- несмотря на внедрение в практику здравоохранения анонимных кабинетов, обращаемость в них больных сифилисом остается крайне низкой (не более 12% больных), что предопределяет рост числа «неразысканных» пациентов, являющихся резервуаром инфекции.

Таким образом, как следует из приведенных данных, ситуация с заболеваемостью сифилисом в России остается крайне нестабильной, в связи с чем возрастает роль его качественной и своевременной диагностики.

Лаборатории принадлежит ключевая роль в установлении диагноза заболевания, определении его формы и стадии, оценке эффективности терапии.

В целях оптимизации диагностики важной является разработка стандартизированной системы контроля качества работы лабораторий, занимающихся диагностикой сифилиса, так

как закрепление гарантий обеспечения качественной медицинской помощью населения России является одной из приоритетных задач отечественного здравоохранения. Под качеством оказания помощи в плане диагностики ИППП применительно к программе государственных гарантий следует понимать сочетание безопасности, диагностической и экономической эффективности, т.е. достижение оптимального результата между имеющимися возможностями и прогнозируемыми результатами.

## II. СОСТОЯНИЕ И ПРОБЛЕМЫ СОВРЕМЕННОЙ ДИАГНОСТИКИ СИФИЛИСА

### Биология инфекции

Сифилис — это заболевание, развивающееся при инфицировании *Treponema pallidum*, характеризующееся хроническим течением и разнообразием клинических проявлений на разных стадиях развития болезни.

В отличие от других бактерий, *Treponema pallidum* плохо выделяется из организма носителя, практически не культивируется *in vitro*. Более того, на латентных и поздних стадиях развития болезни возбудитель инфекции вообще может быть недоступен вследствие отсутствия видимых поражений. Поэтому особое значение приобретает серодиагностика сифилиса.

История развития заболевания сифилисом у индивидуума, инфицированного *Treponema pallidum, spp. pallidum*, очень вариабельна. Развитие инфекции может наблюдаться на протяжении длительного периода времени и приводить к развитию разнообразных клинических проявлений.

### Актуальные направления в диагностике сифилиса

#### 1. Ранняя диагностика: прямое выявление возбудителя

*Treponema pallidum* обнаруживают при раннем сифилисе в райц-серуме сифилидов, полученном из пораженных участков наружных половых органов, заднего прохода, кожи и слизистой оболочки полости рта, а также инфицированных лимфатических узлов при помощи следующих методов:

- Микроскопия в темном поле;
- Прямая иммунофлюоресценция (для образцов из поражений в полости рта или из других очагов, где возможна контаминация трепонемами-комменсалами);
- Полимеразная цепная реакция (ПЦР).

#### 2. Серологическая диагностика сифилиса

Иммунный ответ на внедрение *Treponema pallidum* приводит к синтезу антител, направленных против антигенов возбудителя. Серологическая диагностика основана на выявлении этих антител и зависит от особенностей иммунного ответа организма против возбудителя у данного индивидуума как по кинетике и силе иммунного ответа, так и по спектру антител, выявляемых на разных стадиях развития инфекции.

Серологические тесты на сифилис подразделяются на:

- **нетрепонемные тесты:** реакция микропреципитации с кардиолипиновым антигеном (РМП), тест ВДРЛ (VDRL, Venereal Disease Research Laboratory), тест быстрых плазменных реактивов РПР (RPR) и их варианты.



- **трепонемные тесты:** реакция пассивной гемагглютинации (РПГА), реакция иммунофлюоресценции (РИФ), иммуноферментный анализ (ИФА), реакция иммобилизации бледных трепонем (РИТ), иммуноблоттинг (Western blot).
- **специфические тесты для определения антител класса IgM к T. pallidum:** 19S-IgM-РИФ-абс, ИФА и иммуноблоттинг для определения IgM-антител к T. pallidum.

### *3. Скрининговые тесты*

- Реакция микропреципитации (РМП) или РПР/ВДРЛ в сочетании с РПГА.
- ИФА на IgG или суммарные трепонемоспецифические иммуноглобулины.
- РИФ<sub>абс</sub> или IgM-ИФА при подозрении на первичный сифилис.

### *4. Подтверждающие тесты*

*(если какой-либо из скрининговых тестов окажется положительным)*

- РПГА, ИФА, РИФ<sub>абс</sub> (или другой трепонемный тест, например, РПГА, если ИФА используется как скрининговый метод; ИФА, если в качестве скринингового используется РПГА).
- Иммуноблоттинг на IgG к T. pallidum, если подозреваются ложноположительные результаты РПГА или РИФ.

### *5. Тесты для контроля эффективности лечения*

- РМП, РПР или ВДРЛ в количественном варианте.

## Сравнительная характеристика серологических тестов

### *Чувствительность и специфичность*

#### **ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ**

Чувствительность является одним из основных показателей диагностической эффективности теста и определяется частотой положительных результатов теста среди лиц, страдающих данным заболеванием.

В таблице 1 представлены данные по чувствительности и специфичности нетрепонемных и трепонемных тестов на разных стадиях развития сифилитической инфекции, полученные в конце 80-х — начале 90-х годов с применением международно признанных стандартных панелей, а также наборов сывороток, тщательно охарактеризованных в референс-лабораториях разных стран.

Как следует из таблицы 1, трепонемные и нетрепонемные тесты достаточно хорошо выявляют вторичный и латентный сифилис (чувствительность около 100%). Однако их чувствительность недостаточна при первичном сифилисе (76-86%), а нетрепонемных тестов — еще и при позднем сифилисе (71-73%). Наилучшие показатели в этом отношении имеет РИФ<sub>абс</sub>. В «Руководстве ВОЗ по лабораторной диагностике заболеваний, передаваемых половым путем» (1999) представлены более высокие средние данные по чувствительности.

РИФ<sub>абс</sub> при первичном сифилисе: 98 (93-100%), поэтому данный метод часто называют «золотым стандартом» серодиагностики сифилиса. Высокой чувствительностью на всех стадиях сифилиса обладает также метод иммуноблоттинга, разработанный одним из последних.

Недостаточная чувствительность серологических реакций на сифилис может быть обусловлена ложноотрицательными результатами тестирования.

Таблица 1.

**Обобщенные показатели чувствительности и специфичности стандартных нетрепонемных и трепонемных тестов, применяемых для серодиагностики сифилиса**

Тест	% чувствительности на разных стадиях инфекции				% специфичности
	первичный	вторичный	латентный	поздний	
<i>Нетрепонемные тесты</i>					
ВДРЛ	78 (74-87)	100	95 (88-100)	71 (34-94)	98 (96-99)
РПР	86 (77-100)	100	98 (95-100)	73	98 (93-99)
USR	80 (72-88)	100	95 (88-100)	-	99
RST	82 (77-86)	100	95 (88-100)	-	97
TRUST	85 (77-86)	100	98 (95-100)	-	99 (98-99)
<i>Трепонемные тесты</i>					
РИФ-абс	84 (70-100)	100	100	96	97 (94-100)
РПГА	76 (69-100)	100	97 (97-100)	94	99 (98-100)
ИФА IgG	81 (63-100)	100	100	-	99
ИФА IgM + IgG	88	100	97	-	99
Иммуноблоттинг	90 (74-100)	99 (98-100)	96(92-100)	100	99
РИФ-абс с двойным окрашиванием	80 (69-90)	100	100	-	98 (97-100)

*Основными причинами возникновения ложноотрицательных серологических реакций при диагностике сифилиса являются следующие:*

- Эффект «прозоны».

Нетрепонемные или трепонемные агглютинационные тесты при вторичном сифилисе могут давать слабоположительную или отрицательную реакцию, обусловленную избытком антител, когда нормальная реакция антиген-антитело либо не завершается, либо блокируется.

- Временно отрицательный результат серологических реакций на сифилис.

В нетрепонемных тестах у ВИЧ-инфицированных пациентов или пациентов с признаками иммунодефицита другого происхождения могут регистрироваться отрицательные серореакции.

- Эффект диагностического «окна».

Такая ситуация обусловлена отрицательными результатами серологических реакций на сифилис, наблюдаемыми, как правило, в период первичного серонегативного (по старой классификации) сифилиса и обусловлена более поздней выработкой антител, регистрируемых в нетрепонемных тестах на сифилис.

- Конкуренция между трепонемоспецифическими IgM- и IgG-антителами за сайты связывания с иммунодетерминантами бледной трепонемы.

Данная ситуация может наблюдаться при вторичном сифилисе и обуславливать ложноотрицательные результаты определения трепонемоспецифических IgM-антител.

- Центрифугирование или другие манипуляции с сывороткой крови «на холоде».

## СПЕЦИФИЧНОСТЬ

Одной из важных характеристик серологического теста является его специфичность, т.е. частота позитивных реакций на сифилис у лиц, не болеющих сифилисом. Как правило, положительные результаты серологических тестов на сифилис регистрируются у пациентов с так называемыми биологическими ложноположительными серологическими реакциями (БЛПР).

### **Основные виды и причины ложноположительных серологических реакций на сифилис**

Биологические ложноположительные реакции (БЛПР), регистрируемые при диагностике сифилиса с помощью нетрепонемных тестов, можно разделить на острые (обнаруживаются в пределах шести месяцев исследования) и хронические (более шести месяцев).

Острые БЛПР могут наблюдаться при беременности, острых инфекциях вирусной и бактериальной природы, после вакцинации, недавно перенесенного инфаркта миокарда.

Хронические БЛПР могут наблюдаться при инъекционном применении наркотиков, аутоиммунных заболеваниях, лепре, хронической патологии печени и старческом возрасте.

В трепонемных тестах БЛПР могут наблюдаться при аутоиммунных заболеваниях, ВИЧ-инфекции и во время беременности (РИФабс чаще, чем РПГА/микро-РПГА).

### **Основные причины БЛПР**

- Одной из вероятных причин ложноположительных тестов на сифилис являются технические погрешности, сопровождающие сбор, доставку, хранение образцов сыворотки крови и постановку серологических реакций на сифилис; нарушения, связанные с хранением ингредиентов реакций, несоблюдением инструкций при выполнении исследований и работе на соответствующем оборудовании.
- Ложноположительные серологические реакции обнаруживаются при эндемичных трепонематозах и боррелиозе.

Трепонематозы вызываются бактериями, относящимися к группе спирохет, включающей *Borrelia*, *Spirochaeta*, *Leptospira*, *Cristispira* и *Treponema*: *T. pallidum* (венерический сифилис и эндемичный сифилис); *T. pertenue* (фрамбезия/фрамбезия тропическая); *T. carateum* (пинта). Антитела при таких эндемичных трепонематозах, как эндемичный сифилис, фрамбезия и пинта, нельзя отличить от антител, вырабатываемых к *T. pallidum*. Пациент с положительными серологическими реакциями на сифилис из страны с эндемичными трепонематозами должен быть обследован на сифилис и получить противосифилитическое лечение в качестве профилактической меры, если он ранее не получал адекватной терапии против сифилиса.

- Ложноположительные серологические реакции возможны при беременности, менструации, пожилом возрасте пациентов, тяжелой соматической патологии (в том числе эндокринной, онкопатологии, заболеваниях сердечно-сосудистой системы, желудочно-кишечного тракта, легких).

### **Достоинства и недостатки серологических тестов на сифилис**

#### **НЕТРЕПОНЕМНЫЕ ТЕСТЫ**

Все современные нетрепонемные методы диагностики сифилиса представляют собой флоккуляционные тесты, в качестве антигена в них применяется кардиолипин-лецитин-холестериновый комплекс.

Нетрепонемные (реагиновые) тесты выявляют иммуноглобулины классов IgM и IgG, реагирующие с липидными антигенами, образующимися при разрушении инфицированных клеток хозяина и/или выделяющимися из клеточной стенки трепонем при их гибели.

Наиболее широко используемыми нетрепонемными тестами в России являются реакция микропреципитации (РМП) и тест быстрых плазменных реагинов (RPR).

#### **Положительная реакция в нетрепонемном тесте может:**

- свидетельствовать о наличии инфекции, вызванной трепонемами,
- оценивать степень излеченности сифилитической инфекции (при сравнении титров парных сывороток),
- свидетельствовать о реинфицировании,
- говорить о ложноположительном результате.

Следует иметь в виду, что аналогичные антитела образуются не только при сифилисе или других трепонематозах, но также и при других острых и хронических заболеваниях нетрепонемного происхождения, которые сопровождаются гибелью клеток и разрушением тканей. Этот механизм может быть причиной появления ложноположительных реакций нетрепонемных тестов, которые встречаются при скрининге населения в 1-3% случаев.

Нетрепонемные тесты могут быть использованы в качественном и полуколичественном вариантах.

В качественном варианте в нетрепонемных тестах исследуют неразведенные сыворотки пациентов для простого определения наличия или отсутствия антител.

В полуколичественном варианте проводят серийные двукратные разведения сыворотки и определяют конечное разведение, при котором фиксируется положительная реакция.

Полуколичественный метод является более трудоемким, однако он более информативен, чем качественный, поскольку:

- позволяет избежать эффекта «прозоны», появляющегося при избытке антилипоидных антител,
- допускает выявление недавнего инфицирования, которое проявляет себя в 4-кратном увеличении титра антител,
- с его помощью могут быть выявлены как реинфекция, так и обострение заболевания,
- 4-8-кратные изменения титра нетрепонемного теста в сторону снижения свидетельствуют об эффективном лечении заболевания.

Все варианты нетрепонемных тестов имеют близкую чувствительность и специфичность.

#### **Достоинства нетрепонемных тестов:**

- простота и дешевизна,
- широкая распространенность,
- возможность использования в качестве стандартных тестов при скрининге и контроле излеченности,
- удобство использования для тестирования большого количества образцов.

#### **Недостатки нетрепонемных тестов:**

- субъективный визуальный учет результатов,
- низкая чувствительность при раннем (в особенности, первичном) сифилисе,
- недостаточная чувствительность при позднем сифилисе,
- наличие эффекта «прозоны» у 1-2% больных вторичным сифилисом при постановке реакции в качественном варианте,
- наличие большого числа ложноположительных результатов.

## **ТРЕПОНЕМНЫЕ ТЕСТЫ**

Все современные трепонемные тесты используют *Treponema pallidum* как антиген для обнаружения антител против компонентов клеточной стенки патогенных трепонем. Чувствительность трепонемных тестов варьирует в зависимости от стадии сифилиса.

Антиген (антигены), используемый в трепонемных тестах, может быть нативным, рекомбинантным и пептидным.

Существует три основных типа трепонемных тестов: иммуноферментный анализ (ИФА), реакция пассивной гемагглютинации (РПГА) и реакция непрямой иммунофлюоресценции (РИФ).

*Иммуноферментный анализ* идеально подходит как для скрининга большого количества образцов, так и в качестве подтверждающего теста. Он имеет высокую специфичность и чувствительность, легко автоматизируется, результаты читаются объективно, отчеты создаются в электронном виде, что исключает ошибки их записи вручную. ИФА приобрел широкую распространенность также в связи с удобным форматом для определения разных классов антител (раздельно или совместно).

*Гемагглютинационные трепонемные тесты* обладают высокой чувствительностью и специфичностью, тест-системы на основе РПГА отличаются:

- простотой и быстротой (45 мин) постановки;
- не требуют специального оборудования и высококвалифицированного персонала;
- имеют невысокую стоимость;
- могут применяться как при скрининговом, так и при подтверждающем тестировании;
- позволяют производить полуколичественные измерения титра специфических антител в сыворотке крови пациента;
- имеется возможность автоматизации и объективизации учета результатов с помощью количественной оценки визуального изображения (на аппарате «Критерий») или с применением специальных режимов для иммуноферментного анализатора.

Использование тест-систем РМП (RPR) и РПГА удобно в КВД или в кожно-венерологической службе, так как позволяет качественно работать даже с небольшими объемами исследуемых клинических образцов.

*Трепонемные флуоресцентные тесты (РИФ<sub>abc</sub>)* не предназначены для рутинного использования или скрининга. Метод РИФ<sub>abc</sub> — один из наиболее чувствительных тестов на сифилис, но в техническом отношении он является трудным для воспроизведения. Для его выполнения необходимо или наличие вивария, или приобретение взвеси патогенных бледных трепонем. Как выполнение теста, так и чтение его результатов должны проводиться очень тщательно. Стандартизация чтения результатов, высокое качество конъюгата и точность его разведения критичны для надежности теста. Добавление контрастирующего конъюгата может снизить ошибки стандартной процедуры и увеличить читаемость и надежность метода.

При использовании флуоресцентных методов в скрининге сифилиса возникают проблемы, связанные с тем, что примерно для 1% населения могут быть получены ложноположительные результаты.

***Достоинства трепонемных тестов:***

- высокая чувствительность и специфичность;
- использование для подтверждения (верификации) результатов нетрепонемных тестов;
- применение для подтверждения клинического диагноза сифилиса, когда нетрепонемные тесты реагируют отрицательно, но есть клинические, эпидемиологические или анамнестические подозрения на сифилитическую инфекцию;
- возможность получения объективного автоматического результата и отчета в электронном виде для части трепонемных тестов (ИФА и РПГА);
- возможность полной автоматизации (ИФА).

***Недостатки трепонемных тестов:***

- более сложны в техническом отношении, чем нетрепонемные тесты;
- не могут использоваться для мониторинга лечения: у 85% успешно пролеченных пациентов трепонемные тесты остаются положительными в течение многих лет, а иногда и на всю жизнь;
- имеют большую стоимость, чем нетрепонемные тесты.

### ***Источники ошибок при выполнении трепонемных тестов***

*Источники ошибок при постановке ИФА обычно связаны:*

- с большим количеством операций, каждая из которых может служить источником ошибок (приготовление разведений сывороточного образца, помещение образцов в лунки микропланшетов, добавление конъюгата, субстрата, отмывание, инкубация в термостате, спектрофотометрический учет результатов на ридере), поэтому развитие методологии

ИФА идет по пути автоматизации или даже роботизации операций, что существенно удорожает ИФА-тестирование;

- с недостаточной тщательностью процедуры отмыывания; при этом необходимо помнить, что специальные программы могут быть предназначены для разных тест-систем; возможны сбои и ошибки при переходе с программы на программу;
- с отсутствием валидации и постоянного контроля над надлежащим функционированием оборудования;
- с отсутствием учета влияния температуры растворов и воздуха в лаборатории;
- с возможными испарениями окислителей (например, перекиси водорода, используемой для инактивации потенциально инфекционного материала) в воздухе лаборатории, могут приводить к появлению ложноположительных результатов;
- с низким уровнем квалификации операторов.

*Источники ошибок при выполнении РПГА обычно связаны:*

- с загрязнением планшета,
- использованием неподходящего планшета,
- ошибками пипетирования,
- вибрацией планшета.

*Причины ложноположительных результатов при постановке трепонемных тестов:*

- Ложноположительные результаты ИФА и РПГА могут наблюдаться у пациентов с инфекционным мононуклеозом, в особенности на фоне высокого уровня гетерофильных антител; в образцах от наркоманов, пациентов с коллагенозами, злокачественными новообразованиями, эндокринной патологией. В этих случаях отличить истинные реакции от ложных бывает затруднительно, потому что сифилитическая инфекция может сосуществовать с вышеперечисленными заболеваниями.
- Ложноположительные результаты в трепонемных тестах часто являются временными и их причина неизвестна, вместе с тем существует определенная взаимосвязь между ложноположительными реакциями в РИФаБс и подтвержденным диагнозом системной, дискоидной и лекарственной красной волчанки. В этих случаях может наблюдаться атипичная, «бисерная», флюоресценция. Для устранения этих типов ложноположительных реакций производится абсорбция сыворотки на тимусной ДНК теленка для удаления анти-ДНК антител.
- Необъяснимые положительные результаты РИФаБс могут наблюдаться у пациентов пожилого возраста.
- Ложноположительные результаты РИФаБс могут наблюдаться из-за ошибки в выборе сорбента, используемого в данном тесте для удаления перекрестно-реагирующих групповых, родовых или семейственных антител (например, в случае болезни Лайма); абсорбция сыворотки рейтеровской трепонемой и/или параллельное использование гемагглютинационного теста могут помочь отличить сифилис от ложноположительной реакции.

## ПОДТВЕРЖДАЮЩИЕ ТЕСТЫ

Как было отмечено ранее, все серологические методы, применяемые для диагностики сифилиса, могут давать ложноположительные результаты.

Для исключения биологических ложноположительных результатов используют подтверждающие тесты. При этом для подтверждающих тестов важны следующие требования:

- более высокая специфичность;
- более высокая чувствительность;
- иной принцип реакции.

В настоящее время в качестве подтверждающих тестов наиболее часто используют следующие методы: РПГА, ИФА, РИФабс, метод иммуноблоттинга.

*РПГА и ИФА.* Используют как наиболее подходящие альтернативные трепонемные тесты, основанные на принципиально другом принципе постановки, чем нетрепонемные тесты. При этом ИФА используют как подтверждающий тест для РПГА и, наоборот, РПГА — как подтверждающий тест для ИФА.

*РИФабс.* Широко используется в качестве подтверждающего теста, однако этот метод имеет ряд ограничений:

- метод отличается субъективностью интерпретации, трудно поддается стандартизации;
- при постановке теста возможны ложноотрицательные результаты у ВИЧ-инфицированных пациентов при наличии у них сифилиса.

*ИММУНОБЛОТТИНГ.* Трепонемный иммуноферментный тест с применением отдельных индивидуальных антигенов бледной трепонемы. Высококочувствителен и специфичен. Имеет перспективу после перехода в статус стандартного теста стать универсальным подтверждающим тестом.

#### ***Проблемы серологического тестирования на сифилис***

Наиболее значимыми в настоящее время проблемами серодиагностики сифилиса, требующими усиленного контроля качества диагностики сифилиса являются:

- ранняя диагностика сифилиса;
- установление диагноза у леченных пациентов;
- диагностика сифилиса у беременных и новорожденных;
- диагностика нейросифилиса;
- диагностика сифилиса у ВИЧ-инфицированных пациентов.

#### ***Ранняя диагностика сифилиса***

Ранняя диагностика сифилиса исключительно важна для предотвращения распространения этого заболевания. Проблема диагностики раннего инфекционного сифилиса и повышение ее качества является приоритетом для любой национальной программы предотвращения распространения сифилиса, что обусловлено природой развития этой инфекции. Уже через несколько часов после инфицирования трепонемы распространяются по всему организму, хотя их размножение происходит первоначально в месте проникновения инфекции. Шанкр, образовавшийся в период 10-90 дней после начала инфекции, может спонтанно рассосаться в течение 1-5 недель. Наиболее частым «спутником» шанкра является увеличение регионарных лимфатических узлов.

Появление специфических антитрепонемных и антилипоидных антител класса IgM обнаруживают к концу второй недели после момента инфицирования, тогда как антитрепонемные антитела класса IgG появляются спустя 4 недели. В целом, на начальном этапе развития инфекции при первичном сифилисе у пациентов выявляют антитела обоих вышеуказанных классов, затем титры антител класса IgM падают, особенно быстро — при эффективном лечении, тогда как антитела класса IgG обычно персистируют долго, и их титр практически не снижается в последующем.

Таким образом, на самом раннем этапе развития сифилиса (в течение всего 1-2 недель), часто протекающего бессимптомно, возможности наиболее доступного и широко применимого способа диагностики сифилиса — стандартной серодиагностики — весьма ограничены, тогда как необходимость своевременного поставленного диагноза для эффективной терапии очень велика.

Наибольшую перспективу для применения в серодиагностике при подозрении на первичный сифилис имеют высококочувствительные варианты IgM-ИФА.

Обнаружение специфических антитрепонемных IgM антител у пациентов, не имеющих сифилиса в анамнезе, означает наличие активного заболевания и необходимость немедленного начала терапии.

Антитрепонемные антитела класса IgM обычно не определяются спустя 3-9 месяцев после начала адекватного лечения сифилиса, начатого на стадии раннего сифилиса. В то же время, если лечение было начато в латентный период заболевания, они могут персистировать длительно, в течение 12-18 месяцев.

### ***Обследование пациентов, получивших специфическое лечение по поводу сифилиса***

Для оценки эффективности лечения сифилиса необходим мониторинг как серологических показателей, так и клинических проявлений этого заболевания. При сифилисе отсутствует микробиологический тест на излеченность, поэтому единственным известным способом оценки эффективности лечения является серологический мониторинг при помощи нетрепонемных тестов.

Главными критериями излеченности при терапии сифилиса являются:

- исчезновение клинических признаков заболевания;
- падение титра реактивов в нетрепонемных тестах.

Мониторинг нетрепонемными тестами в ходе лечения проводят в течение как минимум года, с трехмесячными интервалами. Показателем эффективности проведенного лечения ранних форм сифилиса является 4-х кратное падение титра нетрепонемных тестов в течение года после окончания терапии (Приказ №87 от 26.03.2001 г.).

У пациентов, лечение которым назначается при обнаружении сифилиса в латентной или поздней стадии сифилиса, падение титра происходит существенно медленнее. Низкие титры могут сохраняться примерно у 50% пациентов в течение, как минимум, 2 лет. Как правило, такая персистирующая серопозитивность не означает неэффективности лечения сифилиса или проявления реинфекции. Поэтому вопрос о серорезистентности после лечения поздних форм сифилиса вообще не рассматривается.

### ***Беременность и врожденный сифилис***

#### **БЕРЕМЕННЫЕ ЖЕНЩИНЫ**

Сифилис может быть одной из причин неблагоприятного течения беременности. Проблемы гибели плода и смертности, обусловленной врожденным сифилисом, могут быть решены, если сифилитическая инфекция у матери выявлена своевременно и проведена адекватная терапия этого заболевания. В последние годы отмечено возрастание латентных форм сифилиса среди беременных (до 16-28%). Вместе с тем серологические тесты на сифилис у беременных часто дают ложноположительные результаты.

Наличие таких результатов, полученных в нетрепонемных тестах, может быть исключено более специфичным исследованием в трепонемных тестах, а также полноценным обследованием пациентов, включающим изучение ее анамнеза, социального статуса, данных конфронтации. Если же результат трепонемных тестов все же остается положительным, а данные дополнительного обследования не дают эффекта, то назначается противосифилитическая терапию *ex juvantibus*.

#### **НОВОРОЖДЕННЫЕ ДЕТИ**

Диагноз врожденного сифилиса основывается на совокупности результатов, полученных в результате физикального обследования ребенка, данных рентгенологических и серологических исследований, а также темнопольной микроскопии.

Примерно у 50% новорожденных клинические проявления сифилиса (гепатоспленомегалия, кожные поражения, остеохондриты, гнусавость) при рождении отсутствуют. Эти и другие признаки (деформация зубов и костей туловища, глухота, слепота, недостатки развития) часто проявляются позднее, на 3-6 месяце развития.



Таблица 2.

## Особенности серологического тестирования беременных женщин и новорожденных детей

Нетрепонемные тесты	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Результат обследования на сифилис в нетрепонемных тестах у беременных, больных сифилисом, или перенесших сифилис, является ориентировочным, т.к. нетрепонемные тесты менее специфичны, чем трепонемные.</li> <li>• Титры реакций в нетрепонемных тестах у ранее полноценно пролеченных от сифилиса пациенток во время беременности имеют неспецифическую тенденцию к увеличению. В этом случае важно удостовериться, что предыдущее лечение зафиксировано документально и что при наличии 4-кратного увеличения титра отсутствуют недавние половые контакты, подозрительные на возможность инфицирования сифилисом.</li> <li>• Более высокие титры у новорожденного ребенка по сравнению с матерью могут свидетельствовать в пользу врожденного сифилиса, но всегда доказывают его наличие (доказано лишь в 22% случаев при исследовании парных сывороток).</li> <li>• Более низкие титры в нетрепонемных тестах у новорожденного по сравнению с матерью не всегда означают отсутствие врожденного сифилиса.</li> </ul>
Трепонемные тесты	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Положительные результаты стандартных трепонемных тестов на антитела у ребенка отражают, скорее всего, наличие антител, пассивно перенесенных от матери (IgG), чем наличие истинных антител, продуцируемых плодом (IgM).</li> <li>• Пассивно приобретенные антитела катаболизируются и перестают выявляться серологическими тестами в течение 12-18 месяцев после рождения ребенка.</li> <li>• Единственным патогномичным симптомом врожденного сифилиса считается в настоящее время выявление у ребенка трепонемоспецифических IgM-антител.</li> </ul>

Диагноз врожденного сифилиса считается подтвержденным: при обнаружении бледных трепонем в пуповине, плаценте, в материалах, взятых со слизистой носа или эффоресценций на коже в результате прямого исследования.

Предположительный диагноз сифилиса у новорожденных может быть установлен:

- Если мать не получала лечения или терапия сифилиса была неэффективной,
- Если у ребенка есть клинические проявления сифилиса,
- Если имеется положительный результат трепонемного теста на сифилис у ребенка,
- Если выявлены аномалии при исследовании цереброспинальной жидкости, в частности, имеется положительный результат тестирования цереброспинальной жидкости методом VDRL,
- Имеется положительный результат специфического трепонемного IgM теста.

#### *Диагностика нейросифилиса*

В России диагностика нейросифилиса на настоящий момент осуществляется в соответствии с приказами МЗ РФ № 87 «О совершенствовании серологической диагностики сифилиса» (26.03.01) и № 291 «О мерах по предупреждению распространения инфекций, передаваемых половым путем» (30.07.01). Для этой цели используются следующие серологические реакции: реакция связывания комплемента, РИФ с цельным ликвором, ИФА и РИБТ. Кроме того, применяется исследование на содержание белка и клеток (цитоз) в спинномозговой жидкости.

В международной лабораторной практике, в частности, в США, серодиагностика нейросифилиса опирается преимущественно на применение метода ВДРЛ в СМЖ, который в данном случае проявляет наиболее высокую специфичность. Дополнительными тестами служат: РИ-Фабс, определение белка и цитоза. В странах Европы (Германия, Австрия) к исследованию основных тестов для диагностики нейросифилиса относятся также варианты РПГА. Кроме того,

в этих странах распространен подход к диагностике нейросифилиса с расчетом дополнительных тест-индексов: IgG-индекса (параметр внутрисиновиального синтеза IgG), IgM-индекса (параметр внутрисиновиального синтеза IgM), коэффициента альбумина (параметр нарушения барьера «кровь-мозг») и ТРНА-индекса по Люгеру (параметр внутрисиновиального синтеза специфических противотрепонемных IgG -антител).

### *Серодиагностика сифилиса у ВИЧ-инфицированных пациентов*

Проблема серодиагностики сифилиса у ВИЧ-инфицированных приобрела в настоящее время исключительную важность и актуальность.

В последние годы в странах, ранее исключительно благополучных по распространенности сифилиса (Великобритания, США, Канада), отмечен настоящий «прорыв» сифилитической инфекции, зафиксированный в эпидемиологических исследованиях и обусловленный распространением сифилитической инфекции ВИЧ-инфицированными носителями (в основном — гомосексуалистами), одновременно больными сифилисом; отмечена исключительно высокая сопряженность двух инфекций в группах риска.

Серологические особенности сифилиса у ВИЧ-инфицированных пациентов сводятся:

- к отсутствию серологического ответа у пациентов с клинически подтвержденными случаями активного сифилиса;
- к отсутствию падения титров антител в нетрепонемных тестах при стандартном лечении: нетрепонемные тесты (например, РПР) могут давать результаты с высокими титрами до 20 месяцев после начала лечения сифилиса;
- к регистрации необычно высоких титров в нетрепонемных тестах.

## **III. СИСТЕМА ВНЕШНЕГО И ВНУТРЕННЕГО КОНТРОЛЯ КАЧЕСТВА СЕРОЛОГИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКИ СИФИЛИСА**

### *Отечественная и международная практика стандартизации методов серодиагностики сифилиса*

Систематизация методов, применяемых для диагностики сифилиса, их стандартизация, разработка и внедрение системы контроля качества диагностики этого заболевания происходила в мире постоянно, начиная с первой половины 20-го века, и достигла высокого организационного уровня в начале 21-го века (Таблица 3).

Необходимость строгой регламентации методов и развития системы контроля их применения обусловлена постоянной опасностью прорыва инфекции даже в странах с очень благополучной эпидемиологической ситуацией (Великобритания — 0,3, Канада — 0,8, Швеция — 0,6, Дания — 0,7, США — 4,3 случаев на 100 000 населения по данным 1996 г.). Тем более, это актуально для России (187 случаев на 100000 населения, 1999 г.). Указанная опасность связана с широким проникновением в развитые страны иммигрантов из стран Восточной Европы, бывших республик Советского Союза, из стран третьего мира, в которых уровень заболевания сифилисом выше. Нарастает также трудность серодиагностики сифилиса в растущих проблемных группах (у ВИЧ-инфицированных пациентов и т.д.).

В связи с угрозой распространения сифилиса во всем мире ряд стран ужесточает систему контроля над этой инфекцией по всем направлениям работы в медицинских учреждениях. Так, жесткий контроль над распространенностью сифилиса и качеством лабораторных исследований, необходимость внедрения полномасштабной профилактической работы и проведения точной эпидемиологической отчетности сформулированы в США в виде национальной про-

Таблица 3.

## Формирование системы стандартизации методов диагностики сифилиса

1923 г.	Организация Здравоохранения при Лиге наций	Первая оценка диагностической значимости методов, появившихся после внедрения реакции Вассермана
1928 г.	XI съезд эпидемиологов и микробиологов Советского Союза	Утверждена первая инструкция по постановке реакции Вассермана
1934 г.	Общественная Служба Здравоохранения, США	Первое сравнительное испытание серологических тестов на сифилис
1938-1939 гг.	Ассамблея руководителей лабораторий и серологов, США	Первое руководство, в котором объединены стандартные процедуры, применяемые для серодиагностики сифилиса
1970 г.	Центр Контроля и Профилактики заболеваний (CDC), США	Создана рабочая группа по внедрению новых тестов на сифилис
1977 г.	Центр Контроля и Профилактики заболеваний (CDC), США	Опубликован свод требований для испытания и принятия к применению новых тестов на сифилис
1982 г.	Всемирная Организация Здравоохранения	Издано Руководство ВОЗ по сифилитической инфекции, дана рекомендация использования нетрепонемных тестов VDRL и РПР, в сочетании с трепонемным тестом РПГА для скрининга на сифилис
1985 г.	ЦНИКВИ, Минздрав СССР	Издан приказ по серодиагностике сифилиса в СССР №1161, регламентировавший применение реакции Вассермана и осадочных реакций, РИТ и РИФ
1990 г.	Ассамблея руководителей лабораторий и серологов, США	Новое издание руководства по серодиагностике сифилиса
1995 г.	Минздрав РФ	Издан приказ № 117 об участии клинико-диагностических лабораторий лечебно-профилактических учреждений России в Федеральной системе внешней оценки качества клинических исследований (ФСВОК)
2000 г.	Всемирная Организация Здравоохранения	ИФА рекомендован как скрининговый тест на сифилис
2001 г.	ГУ ЦНИКВИ МЗ РФ	Издан приказ № 87, в котором наряду с нетрепонемными тестами рекомендуется в качестве скрининговых использовать ИФА и РПГА; обозначен переходный период до 2006 г. для отказа от реакции Вассермана и перехода на широкое использование ИФА и РПГА
2001-2005 гг.	Центр Контроля и Профилактики заболеваний (CDC), США	Провозглашена Программа искоренения сифилиса в США (до уровня менее 0,1/100 000)
2004-2006 гг.	ГУ ЦНИКВИ МЗ РФ	Введена в действие подпрограмма «О мерах по предупреждению дальнейшего распространения заболеваний, передаваемых половым путем» Федеральной целевой программы «Предупреждение и борьба с заболеваниями социального характера», провозгласившая одной из приоритетных задач разработку системы внешнего и внутреннего контроля качества серодиагностики сифилиса в РФ

граммы по полному искоренению сифилиса. Программа была утверждена в октябре 1999 г. национальными контролирующими организациями США по предупреждению распространения ИППП (Division of STD prevention, National center for HIV, STD, and TB prevention, Centers for Disease Control and Prevention). Она предусматривает до 2005 года снизить уровень заболеваемости сифилисом, и без того низкий — 2,6/100000 в 1998 г., до 0,4/100 000 (менее 1000 случаев по всей стране), и довести число штатов, свободных от сифилитической инфекции, до 90%.

Таким образом, контроль над распространением сифилиса является приоритетной задачей системы здравоохранения во всем мире и осуществляется, как правило, на государственном или межгосударственном (ВОЗ) уровне.

### ***Общие принципы внешней оценки качества (ВОК)***

Для обеспечения достоверности методов анализа и результатов лабораторных исследований необходим как внутренний контроль качества, проводимый лабораторией на постоянной ежедневной основе, так и внешняя оценка качества работы диагностической лаборатории, проводимая внешней организацией на периодической основе.

Под качеством лабораторного исследования понимается степень удовлетворения потребителя уровнем оказанной ему лабораторией медицинской услуги в соответствии с международными или государственными требованиями. Контроль качества — это система мер, осуществляемых как самой лабораторией (внутренний контроль), так и внешними организациями (внешний контроль), в результате действия которой обеспечивается качество получаемых результатов.

Проблема качества лабораторных исследований была актуализирована в США в конце 40-х годов, когда впервые было проведено межлабораторное исследование, которое продемонстрировало разительное отличие результатов тестирования в разных диагностических лабораториях. Нечто подобное было обнаружено в Европе в начале 90-х годов, когда на заре внедрения метода ПЦР были проведены межлабораторные исследования с использованием контрольных панелей, и оказалось, что процент совпадения результатов при работе с тест-системами одного международного признанного производителя был менее 50%.

Конечная цель ВОК в национальных масштабах заключается в повышении уровня медицинского обслуживания населения страны путем улучшения работы диагностических лабораторий. В ходе достижения этой цели при реализации программ ВОК в разных странах сложились два разных подхода:

1. улучшение качества работы лабораторий путем издания рекомендаций, обеспечения обучения и подготовки персонала, консультативной помощи менее оснащенным и относительно плохо работающим лабораториям;
2. применение административных санкций в отношении лабораторий, в которых постановка лабораторной работы является неудовлетворительной.

### **Международный опыт организации внешней системы оценки качества исследований**

Большинство стран предпочитают первый из вышеуказанных подходов. Так, в странах Европы используют результаты ВОК в целях получения статистических данных, в образовательных целях, для выявления наиболее эффективных методов, которые применяют в лабораториях, отслеживания основных тенденций развития определенных видов диагностики.

Диагностическая лаборатория, показавшая неудовлетворительный уровень исследований, получает информацию о существенных отклонениях в результатах ее исследований по сравнению с общестатистическими результатами, полученными в ходе межлабораторного исследования. Никаких административных мер в связи с нарушением качества диагностики не предпринимается, и только от самой лаборатории зависит, захочет ли она предпринять активные действия по повышению качества исследований.

В целом, в ходе такой программы ВОК, в результате получения, анализа и обмена информацией создаются предпосылки для повышения сопоставимости результатов исследований, выполняемых в разных лабораториях.

Другие страны, например, США и Германия, ставят главной задачей внешней оценки качества контроль работы лабораторий в масштабах государства. В результате анализа полученной

информации осуществляют государственный контроль работы диагностической лаборатории путем разрешения или запрещения выполнения того или иного способа исследования в этой лаборатории.

Большинство стран применяют национальные ВОК для общих клинико-биохимических и гематологических исследований, и лишь немногие располагают такими программами для более специализированных анализов, например, гормональных, серологических или микробиологических исследований. Только единичные страны (например, Бельгия) имеют в составе тестов, контролируемых программой ВОК, тесты на сифилис.

Однако новые системы продолжают постоянно разрабатываться и внедряться. В соответствии с рекомендациями ВОЗ такие разработки поощряются и поддерживаются правительственными организациями или профессиональными обществами, по заказу которых работы осуществляют ученые и эксперты.

**Важно отметить, что цельной системы или программы по внешней и внутренней оценке качества лабораторных исследований на сифилис не имеется ни у одной из стран.**

Важным недостатком ряда программ является игнорирование разнообразия методов, нацеленных на получение определенного результата диагностики. Не всегда учитывается статус метода. Наблюдаются такие дефекты работы, как несоответствие матрицы контрольных материалов для ряда веществ, имеет место ошибочная классификация результатов. В этом случае статистическая обработка результатов не может проводиться надлежащим способом, а оценка работы лаборатории не всегда корректна.

Все вышеуказанные критические замечания необходимо особенно тщательно учитывать при разработке программы внешнего контроля качества диагностики сифилиса, поскольку эта диагностика опирается на большое разнообразие применяемых методов, которые, в большинстве случаев, не являются количественными.

### **Развитие системы внешней оценки качества в России**

В России до настоящего времени контроль качества лабораторных исследований осуществлялся Федеральной системой внешней оценки качества (ФСВОК).

Центр внешнего контроля в рамках ФСВОК рассылает в лаборатории образцы контрольных материалов, собирает и анализирует результаты межлабораторных испытаний и доводит их до сведения лаборатории-участника контрольных мероприятий вместе с соответствующими рекомендациями.

Вместе с тем, на настоящий момент такая система контроля не обеспечивает полноценного контроля качества работы лабораторий, занимающихся диагностикой сифилиса, в условиях его эпидемического распространения, т.к. не охватывает всю территорию России, привлекает к контролю качества незарегистрированные контрольные материалы, не учитывает уровень оснащения лабораторий и проводимых в них диагностических манипуляций. Все это вызывает необходимость создания именно системы контроля качества лабораторной диагностики сифилиса, проводимого в рамках Федеральной Целевой Программы ГУ «ЦНИКВИ Росздрава». Разработка и проведение этих мероприятий регламентированы приказом № 87 МЗ РФ от 26.03.01 «О совершенствовании серологической диагностики сифилиса».

### **Особенности организации системы контроля качества диагностики сифилиса**

В Советском Союзе и в Российской Федерации серологическую диагностику сифилиса проводили и проводят так называемым комплексом серологических (стандартных) реакций (КСР). В КСР входят реакция связывания комплемента с кардиолипиновым и трепонемным антигенами (РСК) и реакция микропреципитации (РМП). РСК с кардиолипиновым антигеном была разработана Вассерманом и названа его именем — реакция Вассермана (РВ). Алго-

ритм применения РВ в клинико-диагностической практике был до определенного времени эффективен.

Однако РВ обладает множеством недостатков, основными из которых являются следующие:

- чувствительность и специфичность теста недостаточны для современных требований;
- существует большая вероятность ошибок оператора на всех этапах постановки реакции;
- РВ невозможно стандартизовать и автоматизировать;
- существует субъективизм учета результатов.

В силу этого в начале 70-х годов в США, Великобритании и других странах, а затем, по рекомендации ВОЗ, и по всему миру, был осуществлен переход от РВ к новым стандартным методам диагностики сифилиса.

В приказе МЗ РФ №87 от 26.03.01 сформулировано направление и сроки перехода к новым методам диагностики сифилиса и, соответственно, к новому алгоритму серодиагностики этого заболевания. В приказе декретируется замена КСР на сочетание нетрепонемных реакций (РМП, РПР или ВДРЛ) с трепонемными тестами, относительно новыми для Российской Федерации (РПГА, ИФА), или классическими (РИФ, РИБТ). В связи с планируемым по приказу МЗ РФ №87 переходом на новый комплекс серологических методов диагностики сифилиса в России идет формирование оптимального алгоритма их применения. При этом учитывается международный опыт, накопленный в течение более 30 лет после выведения РВ из числа стандартных методов. Организация внешнего контроля качества, согласно приказу № 87, возлагается на Центральный научно-исследовательский кожно-венерологический институт Росздрава.

### **Виды контрольных препаратов, применяемых для контроля качества серодиагностики сифилиса**

Панели для контроля качества диагностики могут быть классифицированы на следующие основные типы:

1. *Квалификационная панель — состоит из образцов человеческих сывороток, представляющих варианты реактивности, редко встречающиеся при рутинном тестировании (разные генотипы, субтипы, клинические варианты и т.д.).*

Квалификационные панели используются для тренинга, проверки качества работы персонала, выявления систематических ошибок и неисправностей приборов, а также нарушений при постановке метода в рамках общей системы контроля качества. Результат тестирования представлен в форме Да/Нет.

Могут состоять как из разведенных, так и из неразведенных сывороточных образцов.

2. *Верификационная панель — панель из естественных неразведенных сывороточных образцов с разными титрами.*

Панели предназначены для использования как контрольные реагенты с неустановленной точностью. Используются для оценки точности и мониторинга системы эксплуатации коммерческих наборов. Данные панели не заменяют контроли, входящие в состав тест-систем. Панели рекомендуются для определения доверительного интервала при валидации тест-систем.

3. *Сероконверсионная панель — включает образцы сыворотки крови от одного больного, взятые через небольшие промежутки времени и характеризующие индивидуальную динамику маркера.*
4. *Экспертная панель — включает естественные неразведенные образцы сыворотки и плазмы крови, содержащие определенный маркер, полностью охарактеризованные в референс-лаборатории методами, официально разрешенными к применению, с использованием сертифицированных тест-систем. Панель сопровождается таблицей, в которой представлены данные тестирования входящих в ее состав сывороток с помощью коммерческих тест-систем.*

Панели предназначены для определения аналитической чувствительности при регулярной внешней оценке работы лаборатории.

*5. Панель чувствительности — предназначена для количественной оценки чувствительности различных тестов. Содержит несколько последовательно разведенных образцов. Калибруется относительно международных стандартов.*

В настоящее время сертифицированных панелей для серодиагностики сифилиса в России не имеется. Разработкой таких панелей в настоящее время занимается ГУ «ЦНИКВИ Росздрава».

В качестве контрольных материалов могут быть использованы разведенные и неразведенные лиофилизированные сыворотки крови больных сифилисом и лиц, свободных от сифилитической инфекции. Они удобны для транспортировки.

ВОЗ и другие международные контролирующие организации отдают предпочтение неразведенным сывороткам в жидком виде. Это обусловлено тем, что такие контрольные материалы наиболее приближены к образцам от пациентов, с которыми в рутинной практике имеют дело клинические лаборатории. Разведенные сывороточные образцы могут применяться преимущественно для сравнительной оценки чувствительности тест-систем разных серий (одного производителя) или тест-систем разных производителей. В то же время, разведенные сыворотки не отражают истинной чувствительности тест-систем при скрининге или подтверждении.

Несмотря на все удобства транспортировки и хранения, лиофилизированные контрольные сыворотки имеют некоторые ограничения при использовании в качестве контрольных препаратов. При производстве такие сыворотки подвергаются сложной технологической обработке и их уже нельзя считать естественными образцами сыворотки крови человека. Кроме того, при работе с лиофилизированными контрольными образцами могут возникать ошибки.

Анализ результатов пробных циклов ВОК лабораторной диагностики сифилиса, проведенных ГУ «ЦНИКВИ Росздрава» и Управлением здравоохранения Администрации Новосибирской области (см. Таблица 4), показал существенное преимущество внедряемых тестов ИФА, РПГА и РПР по сравнению с тестами, которые ранее использовались в лабораториях для рутинной диагностики.

В исследовании, проведенном ГУ «ЦНИКВИ Росздрава» (2004 год), в качестве контрольных материалов была применена собственная разработанная панель жидких сывороток, выпущенная ООО «НИАРМЕДИК ПЛЮС». Панель состояла из четырех образцов, два из которых были «отрицательными», один — «слабоположительным» и еще один — «положительным».

В цикле испытаний, проведенных в Новосибирской области (2003 год), была использована панель из трех сывороток: один образец — «отрицательный», другой — «положительный» и третий — «слабоположительный».

Результаты исследований показали, что наибольшие проблемы «старых» тестов возникали со слабоположительным образцом, который с трудом распознавали при рутинной диагностике, т.е. эти тесты обладали недостаточной чувствительностью. Так, в цикле ВОК, проведенном ГУ «ЦНИКВИ Росздрава», наибольший процент несовпадающих результатов регистрировался при постановках КСР и РМП. В цикле ВОК, проведенном Управлением здравоохранения Администрации Новосибирской области число лабораторий, не выявивших слабоположительный образец с помощью рутинных методов диагностики (РВ), составило 69%, в то время как в ИФА этот образец определялся со 100%-ной чувствительностью.

Вышеуказанные результаты ВОК показывают, насколько актуальна необходимость ужесточить меры по контролю качества работы диагностических лабораторий в масштабах государства. Эта необходимость диктует, в свою очередь, потребность в расширении задач **внешней оценки** качества (ВОК) в области диагностики сифилиса до задач **внешнего контроля качества (ВКК)** и согласуется с духом и буквой приказа № 87 МЗ РФ о переходе на новые методы и алгоритмы диагностики сифилиса.

Таблица 4.

**Результаты контроля качества лабораторных исследований на сифилис  
в серологических лабораториях, протестированных ГУ «ЦНИКВИ Росздрава»,  
а также Управлением здравоохранения Новосибирской области**

Методы	Получено результатов	Кол-во правильных результатов	Кол-во неправильных результатов	Доля неправильных результатов в %
<i>ВОК ЦНИКВИ (2004 г.)</i>				
КСР	27	20	7	26
РМП	31	24	7	23
РПР	7	7	0	0
РПГА	24	22	2	8
ИФА	26	22	4	15
РИФ200	22	18	4	18
<i>ВОК, Новосибирская область (2000 г.)</i>				
РМП	63	44	19	30
РВ	51	36	15	30
ИФА	24	24	0	0

ВКК означает в данном случае организацию и проведение на регулярной основе мер **по государственному контролю качества диагностики сифилиса**. Осуществление мероприятий такого рода может быть обеспечено в рамках единой Системы внешнего контроля качества диагностики сифилитической инфекции во главе с Центром внешнего контроля качества, созданным на базе Центра мониторинга и контроля ИППП.

Расширение функций ВКК по отношению к ВОК дополняет вышеуказанные элементы процедуры проведения проверок ВОК процедурами общего характера регулирования, включая контроль организации системы качества лаборатории, регулярности проведения и результаты внутреннего контроля качества, номенклатуру методов и тестов, применяемых в лаборатории для диагностики сифилиса.

Основные положения возможной деятельности Системы внешнего контроля качества (ВКК) лабораторной диагностики сифилиса представлены в приведенном ниже проекте документа. Функционирование ВКК позволит не только осуществлять оценку качества работы диагностических лабораторий, давать рекомендации по его повышению, но и, при необходимости, осуществлять меры профилактического и корректирующего характера, в том числе, на доказательной основе по результатам межлабораторных испытаний, меры административного и государственного регулирования.

### **ОСНОВНЫЕ ПОЛОЖЕНИЯ СИСТЕМЫ ВНЕШНЕГО КОНТРОЛЯ КАЧЕСТВА (ВКК) ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ СИФИЛИСА (ПРОЕКТ)**

- ВКК представляет собой систему объективной проверки результатов лабораторных исследований, осуществляемой внешней контролирующей организацией (ЦНИКВИ), действующей в рамках Центра по мониторингу и контролю ИППП.
- ВКК осуществляется путем межлабораторных исследований с использованием контрольных материалов (панелей, стандартов).



- Внешняя контролирующая организация проводит выбор контрольных материалов. Контрольные материалы, используемые внешней контролирующей организацией, должны быть сертифицированы, характеризоваться определенными величинами, подтвержденными в референс-лаборатории самой контролирующей организации, а также в других лабораториях, избранных контролирующей организацией как соответствующих статусу референс-лаборатории.
- Внешняя контролирующая организация регистрирует лаборатории-участники, ставит контрольные задачи, осуществляет их шифрование, составляет и размножает протоколы контрольных испытаний, организует рассылку контрольных материалов в лаборатории (в посылке должна быть инструкция по их использованию).
- Контрольный материал в ходе ВКК исследуется в лабораториях, участвующих в контроле.
- Внешняя контролирующая организация получает отчеты лабораторий по результатам контрольных исследований, методам тестирования, оборудованию, применяемому в ходе исследования, проводит их анализ и статистическую обработку.
- Внешняя контролирующая организация устанавливает критерии оценки результатов ВКК, исходя из паспортных данных к контрольному материалу, аттестации контрольного материала в референс-лабораториях и средней величины результатов участников.
- По способу организации ВКК носит ретроспективный характер, так что итоги сравнения результатов, полученных в определенный день в данной лаборатории, с результатами, полученными в других лабораториях, могут быть сообщены в эту лабораторию лишь по истечении некоторого времени.
- Анализ результатов ВКК позволяет, с одной стороны, оценить степень сопоставимости результатов исследований, выполняемых в разных лабораториях, и дать общую оценку качества лабораторной диагностики сифилиса в подконтрольных медицинских учреждениях, а с другой стороны, выявить лаборатории с неудовлетворительным уровнем качества исследований.
- Внешняя контролирующая организация осуществляет рассылку результатов оценки качества исследований в лаборатории. Бланк оценки может содержать анализ качества индивидуальных лабораторий, обсуждение в целом программы и рекомендации по выявлению и устранению причин ошибочных результатов.
- При получении неудовлетворительных результатов контроля Центр ВКК организует инспекционные поездки своих сотрудников на места для ознакомления с работой лабораторий, включенных в систему ВКК, выявления причин ошибок и принятия административных мер к лицам, допустившим подобные нарушения.
- Центр мониторинга и контроля в своей деятельности опирается на сеть межтерриториальных лабораторий, осуществляющих внешний контроль качества и внедрения новых лабораторных методов диагностики на подведомственной территории в лабораториях, включенных в систему мониторинга.

Расширение функций ВКК по сравнению с ВОК необходимо и для эффективного применения контрольных материалов. При применении контрольных препаратов нужно иметь в виду все особенности диагностики сифилиса, включая разнообразие применяемых методов, необходимость тщательного сочетания серологической диагностики с клинической на определенных этапах развития инфекции.

Результаты, полученные при работе лабораторий с контрольными панелями, должны анализироваться с учетом оценки уровня организации и функционирования системы качества в лаборатории.

В таблице 5 представлены возможные варианты панелей и стандартов, которые могут быть применены при проведении мероприятий ВКК с учетом статуса диагностической лаборатории.

Таблица 5.

**Применение контрольных панелей с учетом алгоритма серодиагностики сифилиса  
согласно приказу МЗ № 87 (рекомендации)**

Статус лаборатории	Алгоритм серологического тестирования	Контрольные материалы
Лаборатория, включенная в систему мониторинга	В лаборатории проводятся скрининговые исследования на сифилис тем методом, которым владеет лаборатория (в зависимости от оснащенности): нетрепонемным (РМП или РПР) тестом или нетрепонемным тестом в сочетании с одним из трепонемных методов — РПГА или ИФА. Скрининг одним только нетрепонемным тестом менее предпочтителен в связи с возможностью регистрации ложноотрицательных результатов в силу недостаточной чувствительности нетрепонемного теста или эффекта прозоны. При неопределенном результате или положительной реакции в одном из тестов проводится повторное исследование, причем положительный результат подтверждается специфическим трепонемным тестом, отличающимся от скринингового теста (например, РПГА, если при скрининге использовали ИФА или наоборот).	<ul style="list-style-type: none"> <li>• контрольные образцы для ежедневного внутрилабораторного контроля качества</li> <li>• панели для оценки чувствительности и экспертные панели</li> <li>• верификационные и квалификационные панели</li> </ul>
Межтерриториальная лаборатория	Скрининг проводится нетрепонемным (РМП или РПР) тестом вместе со специфическим трепонемным тестом (РПГА, ИФА). В качестве подтверждающих тестов применяются специфические трепонемные тесты, отличающиеся от скринингового теста, а также подтверждающие тесты на основе иммуноблота и IgM ИФА. В лаборатории проводятся экспертные исследования при поступлении образцов из других лабораторий; кроме того, эти лаборатории осуществляют внешний контроль качества в подведомственных лабораториях, проводящих диагностику сифилиса.	<ul style="list-style-type: none"> <li>• контрольные образцы и панели, те же</li> <li>• расширенные смешанные экспертные панели, содержащие в том числе образцы от пациентов с ранним сифилисом, отрицательные сыворотки, потенциально ложноположительные образцы.</li> </ul>

### **Внешний контроль качества работы лаборатории**

Контроль организации системы качества лаборатории основывается на международно признанных требованиях GLP (good laboratory practice — надлежащая лабораторная практика).

Оценка качества работы лаборатории рассматривается как постоянно идущий документированный процесс, который охватывает все технические и организационные вопросы (например, организация места проведения тестирования), а также все контакты с пациентами и врачами, имеющими отношение к лабораторному анализу.

В оценку качества входит постоянная готовность обнаружить совершенную ошибку или идентифицировать потенциальную проблему, зафиксировать их документально, указать и осуществить действия, корректирующие возникшую ситуацию.

Ниже представлены основные положения системы GLP касательно организации диагностической лаборатории.

### **Основные общеорганизационные требования к диагностической лаборатории, включенной в систему ВКК диагностики сифилиса**

- Лаборатория должна иметь все необходимые разрешительные документы по ее аккредитации, лицензированию и сертификации.
- Лаборатория должна иметь «Руководство по качеству».
- Лаборатория должна разработать политику документирования и процедуры следования ей такие, которые бы обеспечивали четкую идентификацию и оптимальную согласованность действий с образцом пациента, начиная от момента отбора пробы до полного завершения тестирования и выдачи результатов исследования.
- В лаборатории должна быть система, документирующая все жалобы и проблемы, связанные с работой лаборатории, в частности, по диагностике сифилиса, а также определяющая действия лаборатории по расследованию жалоб и проблем, их решению и профилактике.
- Должна существовать система четкого авторизованного взаимодействия между лабораторией и клиникой или другой организацией, которая делает заказ на исследование и получает его результат.
- Лаборатория должна обеспечить правильность отбора, хранения и транспортирования образцов пациента, стандартизовать максимально большее число параметров. Например, необходимо четко контролировать состояние пациента на момент забора биологического материала, стандартизовать время и условия обработки (и хранения) образца, т.к. от этого зависит управление качеством лабораторной диагностики.
- Лаборатория должна на регулярной основе и по утвержденному плану проводить внутрिलाбораторные аудиторские проверки, представляющие собой критические разборы работы лаборатории ее руководителем (или заместителем руководителя); при этом оцениваются своевременность и точность выполнения анализа, распознаются слабые места в деятельности лаборатории, невыполнения элементов системы качества в лаборатории, влияющие на точность анализа, создающие угрозу ошибок, своевременно определяются корректирующие и профилактические меры по предупреждению возможных отклонений.
- Лаборатория обязана регулярно проводить валидацию оборудования и реактивов.
- Лаборатория обязана иметь внутрिलाбораторные контрольные материалы и проводить периодический (каждодневный, еженедельный и т.д.) контроль качества.
- Необходима документируемая политика определения и тестирования уровня профессиональной компетентности персонала, фиксирование фактов обучения сотрудников в пределах лаборатории или в лицензированных для соответствующего обучения внешних организациях.
- Необходима документированная политика по определению дефицита персонала и процедуры совмещения работ и/или замены персонала.
- Если лаборатория использует услуги консультанта, необходимо иметь документы, подтверждающие его компетентность.

### **Стандарты оценки качества в лаборатории включают следующие позиции:**

- Конфиденциальность обследования пациента.
- Правильность получения, идентификации и сохранения целостности образца.
- Контроль правильности функционирования оборудования.
- Контроль правильности работы используемых реагентов (например, тест-систем) с использованием контрольных материалов и/или статистических методов оценки. Важнейшими характеристиками являются сходимость, воспроизводимость, точность и правильность получаемых результатов, выраженные в числовых показателях.

- Исследование жалоб и рекламаций.
- Организация взаимодействия лаборатории с другими подразделениями клиники.
- Компетентность персонала (документированные свидетельства).
- Система оценки профессионализма персонала.
- Лаборатория на постоянной и периодической основе (по меньшей мере, дважды в году) должна осуществлять проверку профессионализма при тестировании диагностическими тест-системами. При плановой проверке профессионализма используют контрольные материалы, включая панели и стандарты, полученные от контролирующих организаций или закупленные у производителей сертифицированных контрольных материалов. Обработка результатов тестирования сотрудников основывается на применении статистических методов анализа для управления качеством. Тестирование профессионализма завершается документом, в котором на балльной основе определяется рейтинг сотрудников лаборатории. Документ должен включать обзор всех неудовлетворительных результатов по баллам и предпринятых корректирующих действий.

Система оценки качества работы лаборатории включает в себя постоянное ревьюирование документов и ситуации по качеству специально выделенным сотрудником (руководителем лаборатории или его заместителем по качеству).

### **Права серологических лабораторий, включенных в систему ВКК диагностики сифилиса**

Лаборатории, включенные в систему ВКК, имеют право:

- обращаться и получать в референс-лаборатории Центра мониторинга и контроля ИППП организационно-методическую и консультативную помощь по организации ВЛКК, разработке руководства по качеству, по применению медицинских технологий диагностики;
- обращаться в референс-лабораторию Центра мониторинга и контроля ИППП для получения разъяснений результатов проведения цикла внешнего контроля качества исследований по серодиагностике сифилиса;
- обращаться в референс-лабораторию Центра мониторинга и контроля ИППП для получения дубликата контрольного задания в случае утраты образцов при пересылке или при иных случайных обстоятельствах;
- участвовать в совещаниях, посвященных вопросам совершенствования системы проведения ВЛКК и ВКК, вносить предложения и делиться опытом применения новых технологий и программ.

### **Обязанности серологических лабораторий, включенных в систему ВКК диагностики сифилиса**

Лаборатории, включенные в систему ВКК, обязаны:

- в 7-дневный срок после получения контрольного задания выслать в адрес Центра ВКК протокол с полученными результатами исследований;
- исследование панели контрольных материалов проводить в тех же условиях и на тех же тест-системах, что и основной массив исследований, проводимых в серологической лаборатории;
- сообщать в Центр мониторинга и контроля ИППП сведения об организации внутрилабораторного контроля качества по запросу Центра;
- проводить мероприятия внешнего контроля качества в подведомственных серологических лабораториях;
- проводить работу по распространению и внедрению в подведомственных лабораториях проведения внутрилабораторного контроля качества.

### ***Внутрилабораторный контроль качества (ВЛКК)***

ВЛКК подразумевает ежедневный процесс осуществления контрольных мероприятий, проводимых в диагностической лаборатории с целью предотвращения ошибок до их возникновения (внелабораторные ошибки) и мероприятий по контролю постановки диагностического тестирования клинических образцов.

#### ***Возможные источники внелабораторных ошибок могут быть обусловлены:***

- несоблюдением условий сбора и подготовки проб;
- несоблюдением условий хранения проб;
- несоблюдением условий транспортировки и хранения тест-систем;
- отсутствием системы «одобренного поставщика»;
- несоответствующим спецификации проведением входного контроля качества диагностических тест-систем;
- неверной посерийной оценкой качества тест-систем по критериям чувствительности, специфичности и воспроизводимости с использованием контрольных материалов;
- неверной оценкой уровня возможных биологических ложноположительных проб и перекрестных реакций, исходя из положительной и отрицательной оценки предсказания;
- неверной оценкой возможных перекрестных реакций, исходя из распространенности трепонематозов в данном регионе.

#### **Основные требования к проведению ВЛКК**

- Лаборатория обязана использовать для контроля качества диагностических тест-систем сертифицированные и зарегистрированные в России контрольные материалы.
- Ежедневный внутрилабораторный контроль качества лаборатория может проводить с использованием контрольных материалов собственного приготовления (например, сливные контроли).
- Внедрение альтернативных контрольных препаратов и процедур должно быть документировано и обосновано. Примером таких дополнительных контрольных материалов и процедур может быть:
  - референсная проверка аликвоты материала в другой лаборатории;
  - оценка правильности полученного результата другим методом;
  - включение в серию исследований ранее охарактеризованного образца (положительного или отрицательного) в качестве дополнительного контроля;
  - тестирование каждого образца пациента в дублях (метод параллельных проб);
  - если допускает метод, можно тестировать образцы от того же пациента, полученные из других источников (слюна, моча, плазма).
- Провести тестирование серийных разведений позитивных образцов для подтверждения позитивной реакции.
- Осуществить дополнительный анализ всех полученных данных прежде, чем выдать результат. Проведение таких дополнительных контрольных процедур возможно на постоянной основе только в промежутках между проведением внутреннего и внешнего контроля качества с сертифицированными панелями и стандартами. В том случае, если лаборатория использует контрольные материалы, не предоставляемые лицензированным производителем, необходимо продемонстрировать документально валидацию контрольных материалов и процедур.
- При проведении контрольных процедур с сертифицированными контрольными панелями и стандартами персонал лаборатории должен строго следовать инструк-

ции производителя и проводить исследование с частотой, рекомендованной производителем.

- При проведении контрольных процедур с внутренними контрольными материалами лаборатория должна контролировать следующие параметры:
  - частота и объем контрольного исследования;
  - принципиальная возможность применения данной панели или стандарта к данному методу тестирования.
- Наличие процедуры отслеживания ошибочных результатов, полученных при тестировании контрольных материалов; возможность документального фиксирования этой процедуры.
- Проведение тренинга, повышения квалификации и компетентности персонала в связи с выявленными ошибками при тестировании контрольных образцов.
- Лаборатория должна осуществлять внутренний контроль на постоянной и периодической основе. Лаборатория проводит внутренние контрольные мероприятия с использованием контрольных препаратов, входящих в состав тест-систем (и внутрилабораторных контрольных материалов), ежедневно, внутренний контроль с использованием панелей и стандартов сертифицированных производителей — не реже, чем раз в два месяца, а с применением панелей и стандартов для внешнего контроля качества — не реже, чем раз в полгода. Поскольку в задачи контрольного исследования входит выявление систематических и др. ошибок, а также контролирование надежности исследования во времени, то нерегламентированное увеличение интервала проведения контрольных мероприятий должно быть обосновано.
- Руководитель лаборатории должен считаться с той ответственностью, которую он берет на себя, обосновывая отклонение от режима выполнения контрольных тестирований экономическими или другими соображениями.

#### *Идентификация источников ошибок, выявленных при контрольном тестировании*

При контрольном тестировании возможны следующие ошибки:

- отклонения в работе тест-систем;
- нарушения в технической работе оператора;
- нарушения при использовании инструкции производителя тест-системы и применения контрольных препаратов;
- отклонения в правильности функционирования лабораторного оборудования;
- возможные воздействия условий окружающей среды, качества воды, воздуха, температурных условий.

#### *Общие требования к проведению самоинспекции лаборатории*

Лаборатория, которая проводит внешний и внутренний контроль качества, должна осуществлять самоинспекцию участков работы, имеющих отношение к тестированию.

#### **Аудируемые сферы деятельности:**

- система ведения лабораторной документации;
- система ведения диагностического процесса;
- система контроля качества тестирования;
- система закупки и хранения диагностических тест-систем и контрольных препаратов;
- система приготовления и хранения внутренних контрольных материалов;
- система контроля над работой оборудования;
- система проведения проверок измерительного оборудования.

## **Требования к частоте и срокам проведения процедур инспекций**

Статус и важность всех участков деятельности рассматриваются равными с точки зрения их вклада в качество диагностики. По этой причине каждый участок должен раз в полгода проверяться заведующим лабораторией и его заместителем. Руководитель лаборатории составляет ежегодный план инспекций, куда включаются вышеуказанные сферы аудита.

Аудит проводится в соответствии с разработанными формами-опросниками. Руководитель лаборатории извещает сотрудников, которые должны быть проверены, о дате и элементах системы качества. Заключение по проверке должно быть составлено в течение 7 рабочих дней со дня окончания инспекции. В заключении необходимо отметить любые несоответствия стандарту работы лаборатории.

В течение пяти дней после составления заключения по внутреннему аудиту должен быть разработан план корректирующих действий.

Вводимые меры позволят поднять серологическую диагностику сифилиса на качественно новый уровень и будут способствовать снижению заболеваемости сифилисом в РФ.

## **МЕТОДОЛОГИЯ ПРОВЕДЕНИЯ ВНЕШНЕГО И ВНУТРИЛАБОРАТОРНОГО КОНТРОЛЯ КАЧЕСТВА ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ ИППП (ОСНОВНЫЕ ПОЛОЖЕНИЯ)**

### **Общие принципы и критерии качества при лабораторной диагностике возбудителей ИППП**

Система контроля качества диагностики ИППП объединяет такие понятия как:

- методы диагностики ИППП,
- контрольные материалы;
- лаборатории-участники;
- правила и этапы проведения внутреннего и внешнего контроля качества.

### **Методы диагностики**

Важными требованиями для методов диагностики ИППП являются:

- Высокая эффективность.

Эффективность микробиологического теста — это возможность с его помощью поставить точный диагноз, выделить этиологический агент (возбудитель) или определить патологическое состояние. Степень эффективности определяется двумя критериями.

#### *1. Чувствительность*

Чувствительность — это общее число положительных результатов, поделенное на общее число инфицированных пациентов. Чем выше чувствительность теста, тем меньше вероятность получения ложноотрицательных результатов.

#### *2. Специфичность*

Специфичность — это общее число отрицательных результатов, поделенное на общее число неинфицированных пациентов. Чем выше специфичность теста, тем меньше вероятность получения ложноположительных результатов.

Чувствительность и специфичность тестов взаимосвязаны. При изменении лимитирующих критериев чувствительность может быть увеличена за счет снижения специфичности, и наоборот.

- Адекватность применяемого метода поставленным задачам (эпидемиологический контроль, профилактика гемотрансфузий, диагностика ИППП, профилактика врожденной инфекции).

Важным критерием качества лабораторной работы является постановка только тех тестов, учет результатов которых позволит осуществлять рациональную профилактику или лечение ИППП. Целесообразность использования лишь клинически обоснованных тестов может быть достигнута только при тесных доброжелательных взаимоотношениях между клиникой и лабораторией.

- Достоверность. Для тестов, дающих качественные результаты, достоверность определяется объективностью полученного результата.

Некоторые примеры:

- идентификация микроорганизмов;
- определение чувствительности к антибиотикам выделенных микроорганизмов диско-диффузионным методом.

Для тестов, дающих количественные результаты, достоверность определяется путем выявления степени различий между полученными данными и истинными их значениями. Некоторые примеры:

- определение минимальных ингибирующих концентраций антибиотиков (МИК) *in vitro*;
- определение титра антител в сыворотке.
- Стандартность метода.

Важно пользоваться унифицированными, современными, чувствительными методами исследований. Так, например, применение дисков для определения чувствительности микроорганизмов к антибиотикам следует использовать по общепринятой (международной) методике в модификации Керби-Бауэра.

- Воспроизводимость.

Воспроизводимость, или точность, в микробиологии может быть снижена по двум причинам: — недостаточная гомогенизация. В исследуемой крови, полученной от пациента, может содержаться более чем один микроорганизм. Повторное культивирование к изоляции других (нескольких) микроорганизмов.

— недостаточная стабильность (имеется в виду различная степень устойчивости различных микроорганизмов во внешней среде). Со временем одни микроорганизмы, находящиеся в исследуемом материале, размножаются, другие умирают. Поэтому повторное культивирование может привести к выделению других микроорганизмов. Для получения объективных результатов следует начинать исследование материала как можно раньше после его отбора.

- Возможность получения объективных (лучше инструментальных и автоматизированных) результатов и их прогнозирование (минимальное влияние субъективного фактора в оценке результатов).

### **Контрольные материалы**

Контрольные материалы, применяемые как для внутреннего, так и для внешнего контроля качества, должны отвечать следующим требованиям:

- простота использования,
- длительный срок годности,
- стабильность при хранении,
- воспроизводимость,
- стандартность.

### **Лаборатории-участники**

При осуществлении мероприятий системы контроля качества бактериологических лабораторий планируется участие лабораторий:

- включенных в систему мониторинга ИППП, осуществляющих диагностику ИППП и внутренний контроль качества лабораторных исследований;



- межрегиональных, проводящих диагностику ИППП, внутрилабораторный контроль и внешний контроль качества работы лабораторий, включенных в систему мониторинга ИППП.

Общая координация работ и осуществление контролирующих функций возлагается на внешнюю контролируемую организацию — ГУ «ЦНИКВИ Росздрава», действующую в рамках Центра по мониторингу и контролю ИППП.

Контроль организации системы качества лабораторий должен быть основан на международно признанных требованиях надлежащей лабораторной практики — GLP. Они включают два основных момента: организацию работы лаборатории по обеспечению качественных исследований и качественный документооборот.

Стандарты оценки качества работы лабораторий включают следующие основные моменты:

- конфиденциальность обследования пациента;
- правильность получения, идентификации и сохранения образцов;
- контроль правильности работы оборудования (валидация, метрологический контроль);
- контроль методов тестирования и правильность работы реагентов;
- предоставление и отслеживаемость результатов исследований;
- проведение работ по внутрилабораторному контролю качества с использованием КМ;
- организация взаимодействия лаборатории с другими подразделениями;
- система оценки профессионализма персонала;
- разбор жалоб и рекламаций;
- внутрилабораторные аудиторские проверки;
- корректирующие и превентивные действия.

Документооборот включает в себя наличие:

- разрешительных документов по аккредитации, лицензированию и сертификации лаборатории;
- «руководство по качеству», отражающее все основные моменты организации ее деятельности, в том числе:
  - санитарное содержание рабочих помещений;
  - личная гигиена персонала;
  - выделение отдельных помещений для приема пищи и курения;
  - техника безопасности;
  - порядок обращения с инфицированным материалом и его утилизации;
  - специфическая защита персонала путем иммунизации (если необходимо);
  - обслуживание лабораторного оборудования;
  - прием проб на исследование;
  - регистрация принятых проб;
  - утилизация несоответствующих стандартов проб;
  - порядок исследования пробы;
  - запись результата исследования;
  - отметка о сообщении результата исследования.

Положение о лаборатории должно соблюдаться; его следует регулярно пересматривать и актуализировать.

Особенно важным является качество лабораторного оборудования. Удовлетворительное выполнение лабораторных исследований совершенно невозможно на устаревшем оборудовании или с использованием оборудования, техническому обслуживанию которого уделяют недостаточное внимание. Наблюдение за состоянием оборудования должно проводиться регулярно, сопровождаться составлением графиков обслуживания наиболее важного для лабораторных исследований оборудования, записями температурного режима работы оборудования.

## **Правила и этапы проведения внутреннего и внешнего контроля качества**

### ***Внутренний контроль качества***

Внутрилабораторный контроль качества подразумевает ежедневное оперативное проведение контрольных мероприятий с целью предотвращения ошибок до их возникновения.

Программа внутреннего контроля качества должна быть:

- практически выполнимой;
- реалистичной;
- экономически обоснованной.

Программа внутреннего контроля качества вовсе не должна предусматривать ежедневной оценки каждой лабораторной методики, реагента или питательной среды. Она должна предусматривать контроль качества методик, реагентов, питательных сред в соответствии с реальной практической работой лаборатории и основываться на степени важности качества каждого компонента для качества работы в целом.

### ***Процедура***

Внутренний контроль качества начинается с рациональной организации работы лаборатории.

### ***Питательные среды***

Питательные среды могут быть приготовлены непосредственно в лаборатории из основных ингредиентов или путем растворения в воде выпускаемых промышленно сухих сред, а также приобретены в готовой форме. Выпускаемые промышленным способом сухие питательные среды более предпочтительны, поскольку они экономичны, удобны для транспортировки и хранения. Кроме того, их качество, как правило, выше, чем качество сред, приготовленных в лаборатории. Для получения наилучших результатов следует обратить особое внимание на требования, перечисленные ниже.

### ***Выбор питательной среды***

Эффективность работы лаборатории определяется наличием обязательного минимального ассортимента реагентов и питательных основ, позволяющих изготавливать различные питательные среды. Так, например, агар хорошего качества может быть использован для многих целей: для приготовления кровяного агара, шоколадного агара, а также для некоторых селективных питательных сред.

### ***Заказ и хранение сухих питательных сред***

1. Количество питательных сред следует заказывать с таким расчетом, чтобы они были использованы в течение 6 мес., в крайнем случае, в течение 1 года.
2. Излишнее количество питательных сред следует упаковать в контейнеры и использовать в течение 1-2 мес.
3. Контейнеры должны быть закрыты плотной крышкой, на них необходимо наклеить соответствующие ярлыки-этикетки. Питательные среды активно адсорбируют воду из атмосферного воздуха. В условиях влажного климата верх контейнеров с сухими питательными средами заклеивают парафином (пространство между крышкой и контейнером заполняют расплавленным воском и дают ему застыть).
4. На этикетке каждого контейнера следует указать дату.

5. Следует хранить контейнеры в темном, прохладном, хорошо вентилируемом помещении.
6. Следует постоянно проверять запасы питательных сред и в первую очередь использовать наиболее старые партии.
7. При вскрытии контейнера на ярлыке следует указать эту дату.
8. Среды, которые изменили цвет (например, потемнели) или потеряли сыпучесть, не подлежат использованию.
9. Необходимо иметь письменный перечень всех питательных сред, находящихся в лаборатории.

### ***Приготовление питательных сред***

1. Необходимо точно следовать инструкции предприятия-изготовителя.
2. Следует готовить такое количество питательной среды, которое будет использовано до окончания максимального срока хранения (см. ниже).

### ***Хранение приготовленных питательных сред***

1. Защищать от воздействия прямых солнечных лучей.
2. Хранить вдали от отопительных приборов. Питательные среды, содержащие кровь, другие органические добавки или антибиотики, следует хранить в холодильнике.
3. Максимальный срок хранения приготовленных питательных сред, которые хранят в холодном, темном помещении, зависит от типа лабораторной посуды, в которую они разлиты:
  - пробирки с ватно-марлевыми пробками— 3 нед.;
  - пробирки с неплотно прилегающими крышками— 2 нед.;
  - бутылки с завинчивающимися крышками— 3 мес.;
  - чашки Петри в заклеенных пластиковых пакетах— 4 нед.

### ***Контроль качества приготовленных питательных сред***

1. Измерение pH. Если питательная среда готовилась из промышленно выпускаемых сухих питательных сред в строгом соответствии с инструкцией, измерять pH нет необходимости. Если питательная среда готовилась из основных питательных ингредиентов, до определения pH ее необходимо остудить. Реакцию pH измеряют с помощью потенциометра. Если pH изготовленной партии питательной среды отличается более чем на 0,2 единицы от требуемого значения, проводят коррекцию путем добавления кислоты или щелочи или готовят новую партию.
2. Тест на стерильность. Контроль на стерильность проводят в отношении тех питательных сред, в которые после автоклавирования добавляли кровь или другие компоненты. Берут 3-5% каждой партии питательной среды и инкубируют в термостате при температуре 35 градусов на 2 дня. Оставшуюся часть партии помещают в холодильник. Если на каждой чашке Петри после инкубации будет обнаружено более двух колоний, исследованная партия подлежит уничтожению.
3. Контроль качества питательных сред. В каждой лаборатории следует иметь набор штаммов микроорганизмов, которые используют для определения качества питательных сред. Штаммы могут быть выделены при обычной микробиологической работе либо получены через коммерческие или государственные источники.

Условия постановки тестов контроля качества новых серий питательных сред:

- следует готовить суспензию выбранного для контроля микроорганизма с таким расчетом, чтобы его оптическая плотность соответствовала стандартному раствору сульфата бария в модификации Керби-Бауэра (0,5 ед. Мак-Фарланда). В качестве инокулята используют одну бактериологическую петлю приготовленной суспензии.

- продолжительность и температура инкубации обычные. Учет результатов следует проводить общепринятым способом.
- следует вести подробные записи о результатах контроля.

### ***Контроль окраски и реагентов***

Тестирование следует проводить:

- каждый раз, когда готовится новая партия рабочих растворов;
- еженедельно (это не относится лишь к красителям, используемым для окраски по Цилю-Нильсену, срок годности которых при хранении в прохладном месте достигает нескольких месяцев).

Красители и реагенты не подлежат использованию, если:

- срок годности истек;
- появились видимые признаки порчи (помутнение, появление хлопьев, осадок, изменение цвета).

### ***Контроль диагностических антигенов и антисывороток***

Для того, чтобы получить наиболее объективные результаты при использовании антигенов и антисывороток, необходимо соблюдать перечисленные ниже условия.

- Строго следовать инструкции изготовителя.
- Хранить в рекомендуемых температурных условиях. Некоторые серологические реагенты нельзя подвергать замораживанию.
- Избегать повторного замораживания и оттаивания. Перед замораживанием следует разделить антисыворотку на несколько равных частей, достаточных по объему для постановки нескольких тестов.
- Не пользоваться препаратом после истечения срока годности, определенного изготовителем.
- При тестировании агглютационной способности антисыворотки всегда использовать свежую культуру с известной реакцией.
- Всегда ставить контроль каждой партии. Можно использовать как полученную от пациента, так и промышленно изготовленную сыворотку.
- По возможности активность сыворотки следует выражать в международных единицах на 1 мл.
- При контроле парных сывороток, полученных от одного и того же пациента на разных стадиях болезни, вторую сыворотку следует контролировать с использованием реагентов из той же партии, из которой брали реагенты первой сыворотки.
- Использовать принятую в стране либо международно признанную методику контроля.
- Каждая партия серологических тестов должна включать:
  - отрицательную сыворотку (контроль специфичности) ;
  - наибольшее разведение сыворотки, обладающее положительной реакцией (контроль чувствительности);
  - наименьшее разведение сыворотки (титрационный контроль), из которого рассчитывается результат разведения, т.е. учет истинного титра сыворотки.
- Следует всегда фиксировать все контроли сывороток.

### ***Контроль тестов для изучения чувствительности к антибиотикам***

Для изучения чувствительности к антибиотикам используют рутинную методику в модификации Керби-Бауэра. Для того, чтобы избежать ошибок, следует придерживаться перечисленных ниже правил.

- Использовать диски адекватного диаметра (6,35 мм).

- Выдерживать определенную активность дисков.
- Хранить основные партии дисков в замороженном состоянии (-20 градусов).
- Рабочие партии дисков можно хранить не более одного месяца в холодильнике (2-8 градусов).
- Для контроля качества следует применять только агар Мюллера-Хинтона.
- Для некоторых антибиотиков совершенно необходимым условием является использование питательных сред с реакцией pH 7,2-7,4.
- Посевная доза микроорганизмов должна быть стандартизирована по стандарту мутности.
- Измерение зон следует осуществлять с большой точностью.
- Результаты следует интерпретировать путем сравнения размера полученной зоны задержки роста с контрольным показателем диаметра зоны задержки роста для каждого микроорганизма.
- Лишь использование чистой быстро растущей культуры микроорганизма дает возможность получить достоверный результат.
- Для контроля следует использовать стандартные культуры микроорганизмов:
- Необходимо использовать для контроля все стандартные культуры:
  - если начинают использовать новую партию дисков;
  - если начинают использовать новую партию питательной среды;
  - один раз в неделю параллельно с выполнением обычных антибиотикограмм.

### **Внешний контроль качества работы лабораторий**

Цели программы оценки качества :

- Обеспечить уверенность лечащих врачей и граждан в том, что качество лабораторной диагностики является гарантированно высоким.
- Оценить и сравнить надежность лабораторных методов на национальном уровне.
- Выявить наиболее распространенные ошибки.
- Оказывать содействие в использовании унифицированных методик.
- Оказывать содействие в использовании стандартизованных реагентов.
- Применять меры административного воздействия (вплоть до изъятия лицензии на лабораторную деятельность) в отношении лабораторий, пользующихся нестандартными методами и реагентами.
- Способствовать внедрению программ внутреннего контроля качества.

### *Организация*

Программа оценки качества включает контроль за лабораториями на местах, который обеспечивается с помощью пересылки в них «кодированных» проб.

Эти пробы должны быть приняты лабораторией и подвергнуты микробиологическому исследованию точно таким образом, как это делается при ежедневной, рутинной работе.

Контроль должен осуществляться в соответствии со следующими рекомендациями:

- В идеале контрольные процедуры следует проводить двенадцать раз в год, в любом случае — не реже четырех раз в год.
- Для контроля следует отправлять на исследования минимум три пробы.
- Инструкции, а также формы учета результатов должны прилагаться к каждой направляемой на контроль пробе.
- Форма учета результатов должна заполняться в двух экземплярах с указанием срока, к которому следует завершить исследование.

### ***Культуры***

На контрольное исследование следует направлять пробы культур не только для их идентификации, но и для определения чувствительности к определенному перечню антибиотиков. Это могут быть пробы, содержащие чистые культуры, а также смешанные пробы, состоящие из двух или более культур.

### ***Сыворотки***

Составной частью программы внешней оценки качества должно являться серологическое тестирование для выявления следующих инфекций:

- Сифилис (описано в предыдущей главе);
- Хламидиоз;
- Гепатиты;
- ВИЧ-инфекция.

### ***Учет результатов и обратная связь***

Как только от участвующих в программе лабораторий получены все результаты, справочная лаборатория отправляет в их адрес правильные ответы. Затем в течение месяца в каждую лабораторию отправляют результаты окончательных итогов с анализом полученных результатов. Каждая лаборатория получает оценку своей деятельности. Каждая лаборатория должна иметь свой собственный цифровой код, известный только ей одной. Таким образом, она может отличить результаты выполненного ею контрольного задания от результатов других лабораторий, в то время как другие лаборатории остаются для нее анонимными.

Приведенные основные положения «Методологии» позволяют надеяться на то, что вводимые меры позволят поднять бактериологическую диагностику ИППП на качественно новый уровень и будут способствовать снижению заболеваемости ИППП в РФ.

Для заметок

Для заметок



Для заметок