

А.К. Кожемякин, Д.В. Тапальский, В.А. Осипов, С.В. Жаворонок

Проблемы контроля качества микробиологических исследований

Министерство здравоохранения Республики Беларусь,
Гомельский государственный медицинский университет,
Гомельский областной центр гигиены, эпидемиологии и общественного здоровья

В настоящее время перед здравоохранением Республики Беларусь остро стоит вопрос о повышении качества исследований в клинической, эпидемиологической и санитарной микробиологии. В условиях роста резистентности бактерий результаты микробиологических исследований часто имеют решающее значение для осуществления этиотропной антибактериальной терапии [20, 30]. Неоспорима ценность микробиологических исследований для осуществления эффективного эпидемиологического надзора.

Общепризнанным во всем мире и наиболее эффективным способом поддержания на должном уровне качества работы микробиологических лабораторий является внедрение стандартов лабораторной диагностики и усовершенствование этих стандартов по мере необходимости. Качество лабораторного теста в целом рассматривается как синоним достоверности и возможности его воспроизведения [19, 25].

В микробиологии качество складывается с учетом следующих факторов: применение современного диагностического оборудования, использование качественных питательных сред и диагностических препаратов, сокращение сроков выполнения исследований, а также оценка целесообразности проведения исследования в каждом конкретном случае с учетом его стоимости [26]. Лабораторные исследования, как правило, имеют высокую стоимость, и с развитием научно-технического прогресса она только возрастает. Качество получаемых результатов и эффективное их использование в терапии и профилактике оправдывает эти расходы, ведет к совершенствованию лабораторной службы, а также способствуют получению сопоставимых результатов при выполнении исследований в разных лабораториях.

Согласно стандарту ISO/IEC 17025 «Общие требования к компетенции исследовательских и референсных лабораторий» [1, 19], лаборатория должна создать, внедрить и поддерживать систему качества, соответствующую сфере ее деятельности. Стандарт ISO/IEC 17025 уделяет значительное внимание предупреждающим и корректирующим мероприятиям, которые должны быть неотъемлемой частью системы качества лаборатории, и регулирует проблемы, являющиеся компонентами системы качества. Большое внимание уделя-

ется техническим лабораторным требованиям. Это понятие очень широкое и касается персонала лаборатории, измерительного оборудования, методов исследования, точности измерений, действия факторов окружающей среды, взятия проб и оформления исследовательской отчетности. Система качества – это создание необходимых рамок и условий деятельности лаборатории, итогом которой является получение достоверного результата исследования. Все аспекты ежедневной лабораторной деятельности, которые оказывают влияние на качество работы, должны быть поставлены в рамки программы гарантии качества. Эта программа должна включать как внутрिलाбораторный контроль качества всех этапов выполнения исследования, так и внешнюю оценку качества работы лаборатории [1, 14, 18].

Для большинства лабораторий процесс создания и поддержания системы качества согласно стандарту ISO/IEC 17025 завершается аккредитацией в национальном органе аккредитации. Аккредитация медицинской микробиологической лаборатории означает официальное подтверждение независимой (третьей) стороной, выступающей от имени клиентов лаборатории (врач, пациент, фармацевтическая или диагностическая фирма, группа по внутрибольничным инфекциям и т.д.), что аккредитованная лаборатория действует в соответствии с утвержденным протоколом системы качества и имеет необходимое техническое оснащение для выполнения микробиологических исследований, определенных сферой аккредитации [10, 16].

Отличительной особенностью микробиологической лаборатории, согласно «Руководству по аккредитации для лабораторий, проводящих микробиологическое тестирование» [17], является ее ответственность за долабораторный (преаналитический) этап. Неправильная подготовка пациента, нарушение правил забора биологического материала, получение нерепрезентативных образцов, несоответствие процедуры хранения и транспортировки материала задачам планируемого микробиологического исследования могут привести к невозможности и бессмысленности дальнейшего проведения лабораторного исследования и в конечном итоге нанести вред больному и неоправданно увеличить материальные затраты лечебного учреждения [2, 9].

Лаборатория гарантирует качество результата уже с момента взятия клинического материала или отбора проб из внешней среды, а также несет ответственность за способ взятия материала, обеспечение его сохранности при транспортировке. Эта ответственность выражается в подготовке соответствующих процедур, организации обучения лиц, принимающих участие в процессе взятия и транспортировки материала в лабораторию, а также постоянном надзоре за соблюдением этих процедур. Правила работы на преаналитическом этапе должны быть включены в систему качества микробиологической лаборатории [11, 19].

Одним из элементов, обеспечивающих достоверность исследования, является аналитическое и измерительное оборудование, имеющееся в распоряжении лаборатории. Недостаток необходимого оборудования, использование непроверенного (нестандартизованного) оборудования или неадекватное его обслуживание могут привести к получению необъективных результатов.

Среди важнейших элементов в программе контроля качества – контроль используемых питательных сред. Питательные среды, применяемые для микробиологических анализов, контролируются по биологическим показателям персоналом лаборатории. Они могут быть приготовлены непосредственно в лаборатории из основных ингредиентов или из выпускаемых промышленностью сухих сред. Изготовленные промышленным способом сухие питательные среды более предпочтительны, поскольку они экономичны, удобны для транспортировки, хранения, а их качество, как правило, выше. К сожалению, большинство белорусских лабораторий до сих пор готовят питательные среды самостоятельно.

Однако использование сухих сред промышленного производства сопряжено с определенными трудностями. Входной контроль качества закупаемых диагностических препаратов и питательных сред, как правило, не проводится, поэтому практические лаборатории нередко даже при наличии сертификатов на закупленную партию получают питательные среды, требующие коррекции или вообще не пригодные по биологическим показателям для работы, а предъявить претензии производителю весьма сложно.

Для проведения контроля питательных сред лаборатории необходимо иметь культуры тест-штаммов микроорганизмов [7]. В лабораториях республики для этого используются микроорганизмы, выделенные при обычной микробиологической работе, поскольку не организовано централизованное обеспечение типовыми контрольными штаммами, а отдельные лаборатории не могут закупить их самостоятельно из-за высокой стоимости. Стандарты и образцы, применяемые микробиологической лаборатории, являются неотъемлемой частью системы качества [21]. Каждый этап исследования должен быть стандартизован и сопровождаться параллельной оценкой стандартных образцов и контрольных культур микроорганизмов, начиная с препаратов для микроскопии и заканчивая выявлением механизмов резистентно-

сти. В качестве контрольных штаммов в подавляющем большинстве стран мира для этих целей широко используются референтные штаммы Американской коллекции типовых культур микроорганизмов (American Type Cultures Collection – ATCC). Коллекция ATCC гарантирует стандартизацию применяемых в диагностике микробиологических сред, коммерческих тестов для идентификации микроорганизмов и определения их чувствительности к антибиотикам [11].

На каждой стадии работы следует анализировать полученные результаты, чтобы выбрать оптимальные тесты для дальнейших исследований, обеспечивающих, в свою очередь, быстрый и достоверный ответ.

Особое внимание в системе управления качеством микробиологической лаборатории должно уделяться предотвращению ошибок, которые могут возникнуть на любом этапе исследования – долабораторном, лабораторном, а также после выполнения исследования. Постлабораторные ошибки могут быть следствием отсутствия контакта с врачом, назначившим исследование, непонимания врачом результатов исследования, а также несовершенства системы передачи его результатов [1, 25].

В системе управления качеством должен регулярно проводиться внутрिलाбораторный и внешний контроль. Первый является ежедневной процедурой, обеспечивающей соответствие результата, его точность и воспроизводимость, которая позволяет оценить систематические ошибки. В зависимости от поставленных целей внутренний контроль носит количественный или качественный характер. Ему подлежат техническое оборудование, среды, сыворотки, диагностические препараты и т.д. Программа внутреннего контроля качества должна быть практически выполнимой, реалистичной и экономически обоснованной. Она не требует ежедневной оценки каждой лабораторной методики, реагента или питательной среды, а должна включать контроль качества методик, реагентов, питательных сред в соответствии с реальной практической работой лаборатории, основываясь на степени важности качества каждого компонента для качества работы в целом [27]. Необходимо помнить, что любая система контроля качества не гарантирует правильности результатов, а является только средством, позволяющим гарантировать достоверность каждого этапа исследования.

Внешнему контролю подлежат используемые методы, их чувствительность и воспроизводимость, а также квалификация персонала. Важную роль в системе управления качеством играют признанные внешние подразделения [11, 17].

Накопленный в разных странах опыт показывает, что начало регулярного проведения внешнего контроля качества на высоком методическом уровне, когда у лабораторий не возникает сомнений в достоверности получаемых заключений, является мощным стимулятором в налаживании систем обеспечения качества лабораторных исследований как на национальном, так и на

региональном уровне, включая решение вопросов материально-технического оснащения лабораторий. Такую точку зрения разделяют все профессиональные общества и организации (в том числе ВОЗ), рабочие и экспертные группы, функционирующие на международном и национальных уровнях в области лабораторной медицины [5, 25].

В большинстве стран уже давно осознаны и продемонстрированы на практике преимущества крупных, постоянно действующих общенациональных систем внешней оценки качества. В Европе наиболее признанными системами являются NEQAS (Великобритания), INCTAND (Германия), Labquality (Финляндия) [14]. В Российской Федерации внешний контроль качества лабораторных исследований осуществляется Федеральной системой внешней оценки качества (ФСВОК) [8, 15]. Цель ФСВОК – оказание помощи диагностическим лабораториям в обеспечении качества выполняемых исследований путем предоставления им информации о правильности получаемых результатов, рекомендаций по устранению возможных источников обнаруживаемых ошибок и совершенствованию используемых методик. С этой целью в лаборатории периодически (1–3 раза в год) рассылаются контрольные образцы и оцениваются результаты их анализа. Свидетельство об участии в программах ФСВОК предъявляется при лицензировании, аккредитации и инспекционном контроле ЛПУ и их лабораторий. С целью исключения подмены административными санкциями помощи, необходимой лабораториям ЛПУ в решении проблем обеспечения качества, в ФСВОК соблюдается конфиденциальность данных о качестве исследований в конкретной лаборатории. Каждая лаборатория имеет в ФСВОК свой индивидуальный код, результаты оценки качества ее исследований направляются заведующему лабораторией. Работу ФСВОК обеспечивает Центр внешнего контроля качества клинических лабораторных исследований Минздрава России совместно с территориальными организационно-методическими и контрольными центрами [5, 15].

Межрегиональной ассоциацией по клинической микробиологии и антимикробной химиотерапии (МАКМАХ) была организована и периодически проводится программа внешнего контроля качества работы микробиологических лабораторий (ВКК МАКМАХ) Российской Федерации. Основные цели этой программы – повышение квалификации микробиологов и улучшение качества лабораторных исследований в клинической микробиологии [6]. Участие лабораторий в программе ВКК МАКМАХ является добровольным, не может быть заменой обязательной программы ФСВОК и служит дополнительной мерой оценки профессионализма персонала лаборатории, прежде всего при обнаружении микроорганизмов, обладающих механизмами приобретенной резистентности к антибиотикам. Контрольные материалы для проведения программы ВКК МАКМАХ предоставляются лабораториям бесплатно, вся инфор-

мация обрабатывается и сообщается им в условиях строгой конфиденциальности. При успешном выполнении предложенных заданий лаборатория получает документ, подтверждающий участие в программе ВКК МАКМАХ [12, 13, 24].

В настоящее время возможно участие микробиологических лабораторий в международных программах внешнего контроля качества лабораторных исследований, организованных ВОЗ [29, 30]. Программы внешнего контроля качества, проводимые под эгидой ВОЗ, позволяют выявить лаборатории, правильно определяющие видовую принадлежность и чувствительность микроорганизмов к антибиотикам, что обеспечивает получение достоверной информации в различных странах мира для создания всемирного банка данных по антибиотикорезистентности (AR Infobank) [14]. Одна из таких программ – Система внешней оценки качества Глобальной сети наблюдения за возбудителями сальмонеллезов и другими энтеропатогенами (WHO Global Salm-Surv External Quality Assurance System – WHO GSS EQAS) [28].

Участие в EQAS считается важным инструментом для получения надежных лабораторных результатов и обеспечения хорошего качества исследований. EQAS ежегодно предлагает серотипирование и определение антибиотикорезистентности восьми изолятов сальмонелл, видовую идентификацию двух изолятов *Campylobacter* и идентификацию одного неизвестного бактериального образца. Все испытания должны выполняться методами, обычно используемыми лабораторией. К участию в EQAS приглашены референс-лаборатории, проводящие работу с сальмонеллами и другими энтеропатогенами, заинтересованные в участии в программе контроля качества. Главная цель EQAS заключается в оказании помощи лабораториям в серотипировании и определении чувствительности возбудителей кишечных инфекций человека (прежде всего сальмонелл), оценке и при необходимости улучшении качества проводимых исследований, а также сравнении результатов серотипирования и определения чувствительности в различных лабораториях. В 2004 г. был проведен пятый цикл EQAS, в котором приняли участие более 170 лабораторий из 76 стран мира, в их числе две лаборатории из Беларуси – Гомельского областного центра гигиены и эпидемиологии и Гомельского государственного медицинского университета. В октябре 2004 г. в лаборатории были направлены контейнеры с культурами микроорганизмов для выполнения тестов – штаммы сальмонелл WHO5.1 - WHO5.8, штаммы кампилобактерий, контрольный штамм *Escherichia coli* ATCC 25922 и штамм с маркировкой «Enterobacteriaceae» для проведения идентификации. Финансовые затраты лабораторий, участвующих в этой программе, включали только расходы на таможенное оформление. В остальном финансирование осуществлялось ВОЗ.

После выполнения требуемых исследований их ре-

зультаты были предоставлены координаторам программы – Датскому институту пищи и ветеринарных исследований (Копенгаген) и Координирующему центру ВОЗ по изучению заболеваний, передающихся с пищей (Атланта, США), через веб-сайт WHO GSS. Доступ к персональным страницам участников был защищен предоставленным организаторами паролем. Обработка микробиологических отчетов и сообщение о результатах участникам программы были сделаны с соблюдением конфиденциальности.

Отмечен достаточно высокий уровень выполнения тестов лабораториями-участницами из Беларуси (до 100% совпадающих ответов по идентификации и более 90% совпадающих ответов по определению антибиотикорезистентности). Даны рекомендации по устранению возможных дефектов в проведении микробиологических исследований.

Участие белорусских лабораторий в EQAS еще раз обозначило проблему серотипирования сальмонелл в Беларуси и в целом на постсоветском пространстве. Система серотипирования сальмонелл является наилучшей из существующих фенотипических систем эпидемиологического типирования этих микроорганизмов. Она имеет множество преимуществ и обеспечивает систему надзора за инфекцией, несет важную эпидемиологическую информацию. Метод широко используется, является экономичным, быстрым, дает сопоставимые результаты в различных лабораториях [3]. Серотипирование проводится в соответствии со схемой антигенных формул сальмонелл Кауфмана–Уайта, редактируемой и издаваемой Референс-центром ВОЗ по изучению сальмонелл (Институт Пастера, Париж). В настоящее время доступно 8-е издание схемы [23], содержащее сведения об антигенных формулах 2501 серотипа, известного на 31 декабря 2000 г. Ежегодное приложение к схеме Кауфмана–Уайта, содержащее перечень новых серотипов, идентифицированных в течение года, публикуется в «Research in Microbiology» [22]. К сожалению, на постсоветском пространстве до сих пор широко используется схема Кауфмана–Уайта, содержащая сведения об антигенных формулах, известных по состоянию на 31 декабря 1970 г., опубликованная в «Кратком определителе бактерий Берги» [4]. Эта схема с различными неточностями технического характера приведена и в различных отечественных микробиологических руководствах, выпущенных в 1980–90-х годах.

При выполнении серотипирования тест-культур мы имели возможность пользоваться 8-м изданием схемы Кауфмана–Уайта (2001), любезно предоставленным директором Референс-центра ВОЗ по изучению сальмонелл проф. М. У. Poroff.

В заключение отметим, что в республике назрела необходимость создания централизованной референс-лаборатории, которая контролировала бы закупленные питательные среды и диагностические препараты, а также осуществляла постоянный контроль правильно-

сти работы клинических микробиологических лабораторий. Создание централизованной референс-лаборатории, разработка соответствующих нормативных документов и стандартов по проведению контроля качества микробиологических исследований позволит обеспечить наиболее экономное расходование средств, выявить и устранить ошибки, а также предупредить затраты на повторные исследования. Политика систем внешней оценки качества, проводимая референс-лабораторией, должна строиться на недопущении каких-либо прямых административных санкций по результатам оценки. Информация о качестве выполнения контрольных исследований в проверяемой лаборатории должна быть конфиденциальной и сообщаться только ее заведующему. Она может доводиться до других лиц при условии использования указанной информации только конфиденциально и только для выявления лабораторий, наиболее остро нуждающихся в оказании им методической помощи. Основная цель программы внешней оценки качества – обеспечить уверенность клиницистов, эпидемиологов и в целом населения республики в том, что качество микробиологической диагностики гарантированно высокое.

Оптимизация работы сотрудников микробиологической лаборатории, обеспечение лаборатории современным оборудованием и расходными материалами, внедрение системы контроля качества, улучшение нормативной базы взаимодействия клиницистов, микробиологов и эпидемиологов будут способствовать выявлению и предотвращению инфекционных заболеваний, повысят терапевтическую и экономическую эффективность лечения больных.

ЛИТЕРАТУРА

1. ГОСТ Р ИСО/МЭК 17025-2000. Общие требования к компетентности испытательных и калибровочных лабораторий. – М.: Изд-во стандартов, 2000.
2. Зубков М.Н. // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. – 2004. – Т. 6, № 2. – С. 143–154.
3. Изоляция, идентификация и лекарственная устойчивость *Salmonella*. Протокол лабораторных исследований. Программа ВОЗ по надзору за сальмонеллезом. – 3-е изд. – 2002.
4. Краткий определитель бактерий Берги. – М.: Мир, 1980. – С. 147–186.
5. Малахов В.Н. Федеральная система внешней оценки качества клинических лабораторных исследований: приглашение к сотрудничеству. – 1997. <http://www.clinlab.ru/win/Qualit/Malakhov1.htm>
6. Межрегиональная ассоциация по клинической микробиологии и антимикробной химиотерапии. Программа внешнего контроля качества (ВКК) работы микробиологических лабораторий в России. – 2004. <http://www.iacsmc.ru/iacsmc/ru/rosnet>
7. Методические рекомендации по контролю питательных сред по биологическим показателям. – М., 1980.
8. Михайлова В.С., Хайдукова И.Л., Малахов В.Н. // Клиническая лабораторная диагностика. – 2000. – № 9. – С. 32.
9. Преаналитический этап обеспечения качества лабораторных исследований: Справ. пособие / Под ред. В.В. Меньшикова. – М.: Лабинформ, 1999.
10. Рекомендации EAL. Руководство по аккредитации для лабораторий, проводящих микробиологическое тестирование. – 1996.
11. Стефанюк Э. Некоторые элементы системы качества в клинической микробиологической лаборатории. – 2003. www.bivaxn.com.ua/bivaxn/news/2003/3-19/3-19-1.pdf

12. Стецюк О.У., Кречикова О.И., Рябкова Е.Л. и др. // Клин. лабор. диагностика. – 2001. – N 9. – С. 26.
13. Стецюк О.У., Решедько Г.К., Кречикова О.И., Рябкова Е.Л. // Клин. микробиология и антимикробная химиотерапия. – 2000. – N 2. – Прилож. 1. – С. 38.
14. Страчунский Л.С., Стецюк О.У. // Клин. лабор. диагностика. – 2000. – N 9. – С. 32.
15. Федеральная система внешней оценки качества клинических лабораторных исследований. – 2003. <http://www.fsvok.ru>
16. Burnett D. Practical guide to accreditation in laboratory medicine. – London, 2002.
17. EURACHEM / EA Guide 04/10. Accreditation for microbiological laboratories, 2002.
18. ISO 9000. Quality management systems - fundamentals and vocabulary.
19. ISO/IEC 17025. General requirements for the competence of testing and calibration laboratories.
20. Manual for the laboratory detection of antimicrobial resistance among community acquired bacterial pathogens of public health concern. – WHO, 2001.
21. NCCLS GP2-A4: Clinical laboratory technical procedure manuals. – 4th ed. Approved Guideline. NCCLS: Wayne, PA., 2002.
22. Popoff M.Y., Bockemuhl J., Gheesling L.L. // Research in Microbiology. – 2003. – V. 154. – P. 173–174.
23. Popoff M.Y., Minor L. L. Antigenic formulas of the Salmonella serovars, 8th revision. WHO Collaborating Centre for Reference and Research on Salmonella, Institut Pasteur. – Paris, 2001.
24. Stetsiouk O.U., Rjabkova E.L., Galkin D.V. et al. The results of IACMAC External quality assurance (EQA) program for identification and antimicrobial susceptibility testing (AST) of Gram-positive bacteria in Russia 22nd ICC, Amsterdam, 2001. – Abstr. 373.
25. The importance of quality in clinical laboratories. A letter intended for authorities in areas with insufficient quality assurance activities. Committee on Analytical Quality, part of the IFCC Education and Management Division // EQA news. – 1995. – V. 6, N 1. – P. 11–14.
26. Vandepitte J., Engbaek K., Piot P., Heuck C.C. Основные методы лабораторных исследований в клинической бактериологии/Пер. с англ. – Женева: ВОЗ, 1994.
27. Vandepitte J., Engbaek K., Piot P., Heuck C.C. Basic laboratory procedures in clinical bacteriology / 2nd ed. – Geneva: WHO, 2003.
28. WHO Global Salm-Surv External Quality Assurance System (EQAS). – 2003. <http://www.who.int/salmsurv/en>
29. World Health Organization, Quality Assurance for Developing Countries. WHO, Regional Office of South East Asia. In the series Technology and Organization of Laboratory Services. – WHO SEARO: Singapore, 1995.
30. World Surveillance Standards for Antimicrobial Resistance. WHO 2001.5