

Стандартизация в клинической микробиологии: потребности и возможности

В.В. Меньшиков, В.С. Михайлова

Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова, Москва, Россия

Лабораторные диагностические исследования биологических материалов организма человека, пораженного патологическим процессом, преследуют цели объективной оценки изменчивых биологических объектов. Поэтому выбор и обеспечение стандартных, проверенных условий лабораторного исследования для получения аналитически, биологически и клинически достоверной информации является настоятельной необходимостью современной лабораторной медицины во всех ее разделах. В клинической микробиологии ситуация характеризуется особенно высокой изменчивостью объектов исследования – микроорганизмов и их чувствительностью к малейшим изменениям условий проведения диагностики. В качестве мер преодоления факторов вариации, влияющих

на результаты анализа, используются способы регламентации различных сторон организации и содержания деятельности лабораторий, в том числе методические указания, стандарты, стандартизованные аналитические технологии, внутрилабораторный контроль и внешняя оценка качества. результатов исследований в соответствии с действующими нормативными документами. Обосновывается необходимость продолжения разработки стандартизованных технологий, упорядочения и систематической работы референтной системы в сфере клинической микробиологии.

Ключевые слова: лабораторная информация, достоверность, стандарты, аналитические технологии, референтная система.

Standardization in Clinical Microbiology: Needs and Possibilities

V.V. Menshikov, V.S. Mikhailova

I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, Russia

Laboratory diagnostics are performed for variety of biological materials and are pursuing a purpose of objective evaluation of variable biological objects. Therefore the selection and provision of stable, verified conditions for obtaining analytically, biologically and clinically reliable information is the obligate necessity in all disciplines of modern laboratory medicine. The situation in clinical microbiology is especially complicated by the high variability of microorganisms and by their sensitivity to

minimal changes of assays performance conditions. As the measures against the influences of variation factors deflecting results of microbiological studies we need to use a number of standard procedures in laboratory diagnostics. In connection with that in the paper we listed normative documents that are present at the moment. The necessity of standardized technologies development and of referent system activities in the field of clinical microbiology ordering are noted.

Key words: laboratory information, reliability, standards, standardized technologies, reference system.

Контактный адрес:
Вадим Владимирович Меньшиков
Эл. почта: menshikov@mma.ru

Результаты клинико-микробиологических исследований составляют важный раздел диагностической лабораторной информации. В ряде клинических ситуаций данные микробиологических исследований определяют как диагноз, так и служат основой мониторинга эффективности лечебных мероприятий. Задача обеспечения **достоверности** лабораторной информации, а значит и безопасности ее клинического применения – это глобальная проблема, общая для всех разделов лабораторной диагностики.

Поэтому, как и другие разделы лабораторной медицины, клиническая микробиология нуждается в надежной системе мер, обеспечивающих при выполнении клинико-микробиологических исследований получение в клинико-диагностической лаборатории любого медицинского учреждения достоверной информации, позволяющей клиницисту уверенно принимать диагностические и лечебные решения. В основу разработки и осуществления таких мер должно быть положено четкое понимание факторов, влияющих на вариабельность результатов лабораторных исследований.

Факторы, влияющие на вариабельность результатов лабораторных исследований

Предмет деятельности клинической лаборатории – изучение биологических объектов в организме пациента с целью обнаружения их достоверного отклонения от нормы, доказательно связанного с клиническим состоянием, с конкретной формой патологии.

Конечной целью этой деятельности является удовлетворение интересов пациента, касающихся его здоровья, путем точной оценки состояния его внутренней среды для диагностики патологии, мониторинга эффективности лечебных мер, прогноза развития процесса и его исхода.

Исходные условия исследования биологических объектов:

- постоянно расширяющийся диапазон анализов;
- разнообразие структур и свойств (биохимические и клеточные объекты, микроорганизмы, их эндогенное и экзогенное происхождение);
- факторы биологической среды (матрица, интерференты, биологическая вариация);
- лабильность *in vivo*, нестабильность *in vitro*;
- разнообразие свойств применяемых аналитических технологий, оборудования и других средств анализа, условий выполнения исследований;
- возрастающая клиническая значимость лабораторной информации.

Исходя из общих положений относительно условий исследования любых компонентов в био-

материалах человека, принято рассматривать влияние следующих факторов вариации результатов клинических исследований:

- биологическая вариация (изменчивость, присущая изучаемому организму и объекту, проявляющаяся в отдельном индивидууме или в группе индивидуумов; результат биологического цикла, его суточных, месячных и сезонных колебаний);
- патологическая вариация (отражающая изучаемый патологический процесс);
- ятрогенная вариация (влияние диагностических и лечебных процедур);
- аналитическая вариация (условия выполнения исследования; особенности применяемой технологии, реагентов, оборудования; человеческий фактор);
- факторы внешней среды (температура, свет, вибрация и т.п.).

Эти факторы в значительной мере сказываются и при выполнении микробиологических исследований, хотя проявления их могут иметь существенные отличия, принимая во внимание особенности свойств изучаемого микроорганизма, взаимоотношения макро- и микроорганизма, наличие иммунного ответа, степень толерантности и т.п.

Факторы вариации микробиологических исследований:

- различия свойств микроорганизма в зависимости от рода и вида;
- чувствительность к факторам внешней среды: к составу биологического материала, наличию влияющих веществ, температуре, содержанию кислорода;
- влияние состава питательных сред;
- изменчивость микроорганизма, отличия в поведении индивидуальных клеток, мутации.

Таким образом, анализ условий выполнения клинико-лабораторных исследований демонстрирует реальное существование и влияние факторов, осложняющих получение достоверной информации. Эта констатация требует действий. В настоящее время, как на международном, так и на национальном уровне признана необходимость регламентации общих и частных аспектов деятельности клинико-диагностических лабораторий с целью получения аналитически и клинически достоверной лабораторной информации и сопоставимости лабораторных результатов, получаемых в различных лабораториях.

Действия для обеспечения достоверности лабораторной информации

Регламентация различных сторон деятельности клинико-диагностических лабораторий осуществляется в разнообразных формах, среди них:

- международные и национальные стандарты;
- стандартизованные аналитические технологии;

- стандартизованные операционные процедуры;
- гармонизация различающихся методик исследования одних и тех же объектов;
- верификация методик и средств анализа в лабораториях;
- внутрилабораторный контроль и внешняя оценка качества лабораторных исследований.

Как видно из данного перечня, в значительной мере регламентация реализуется путем стандартизации. Согласно Федеральному закону «О техническом регулировании» (2002 г.), стандартизация представляет собой деятельность по установлению правил и характеристик в целях их добровольного многократного использования, направленная на достижение упорядоченности в сферах производства и обращения продукции и повышения конкурентоспособности продукции, работ и услуг. Поскольку в процессе лабораторного исследования применяются различные виды промышленной продукции (реагенты, оборудование, различные приспособления и расходные материалы), а результатом процесса исследования является медицинская услуга – предоставление диагностической информации, то в сфере лабораторной медицины принцип стандартизации приемлем полностью, хотя и имеет ряд особенностей, вытекающих из специфических условий этой сферы деятельности.

При формулировании нормативных документов в области лабораторной медицины принято исходить из следующих целевых требований к лабораторным результатам:

- достоверность (аналитическая, биологическая, медицинская);
- сопоставимость (независимо от времени, места, методики анализа);
- оперативность (с учетом темпа патологического процесса, сроков клинических решений и лечебных действий);
- эффективность (соотношение расхода ресурсов и медицинского эффекта).

Сфера клинических микробиологических исследований достаточно широка, и результаты исследований весьма востребованы в клинике. В медицинских организациях действует около 1000 специализированных микробиологических лабораторий, из которых свыше 260 выполняет роль централизованных. Кроме того, в клинко-диагностических лабораториях функционируют свыше 4100 отделов и кабинетов микробиологии. Суммарное количество микробиологических исследований в год составляет около 170 млн анализов. Учитывая эту разветвленность сети клинко-микробиологических лабораторий, помимо общих положений, определяемых научными основами и практическими аналитиче-

скими аспектами, нормативные документы должны учитывать реальные условия применения способов и средств лабораторной медицины, в том числе:

- условия деятельности в медицинской среде (взаимодействие с клиническим персоналом, взаимоотношения с пациентами);
- конкретные условия лабораторного обеспечения медицинской помощи (больница, поликлиника, помощь в экстремальном состоянии пациента, помощь на дому, централизованное лабораторное обеспечение);
- необходимость обеспечения не только аналитической, но и клинической достоверности результатов.

Так, число микробиологических кабинетов в клинко-диагностических лабораториях центральных районных больниц РФ превышает 800. Понятно, что условия выполнения микробиологических исследований в учреждениях небольшого размера и с ограниченным числом высококвалифицированных специалистов должны требовать особого внимания и наличия четких инструкций для обеспечения достоверности результатов.

Естественно, что каждая дисциплина лабораторной медицины реализует эти действия в соответствии со специфическими особенностями объектов своих исследований. В микробиологии ситуация осложняется значительным разнообразием свойств в зависимости от вида и рода микроорганизмов, высокой изменчивостью объектов исследования – микроорганизмов и их чувствительностью к малейшим изменениям в условиях проведения исследования (состав питательной среды, температура, реакция среды, наличие влияющих веществ и т. п.). Сами по себе микробиологические исследования связаны в большинстве случаев с многоэтапностью аналитического процесса, необходимостью сочетать различные аналитические принципы для получения наиболее надежной информации (табл. 1).

В отечественной практике с целью регламентации микробиологических исследований обычно применяются нормативные документы статуса методических указаний и рекомендаций Роспотребнадзора [1–3].

Международный опыт также свидетельствует об усилиях на этом пути. Изданы международные стандарты выполнения ряда микробиологических исследований. На их основе разработаны некоторые отечественные нормативные документы. Росстандарт утвердил и ввел в действие ГОСТ Р 52905-2007 (ИСО 15190:2003) «Лаборатории медицинские. Требования безопасности», ГОСТ Р ИСО 20776-2010, часть 1. «Референтный метод лабораторного исследования активности антимикробных агентов против быстрорастущих аэроб-

Таблица 1. Виды исследований микроорганизмов

Вид исследования	Свойства микроорганизмов	Способ регистрации и оценки
Культуральное	Способность роста на средах определенного состава	Визуальное наблюдение вида, числа и характера роста колоний
Морфологическое	Форма и структура	Визуальное наблюдение формы и структуры
Биохимическое	Состав химических компонентов	Характерные химические реакции
Иммунологическое	Состав антигенов	Иммунодиагностика
Молекулярно-биологическое	Генетическая структура	Характерная структура гена, типичные последовательности нуклеотидов

ных бактерий, вызывающих инфекционные болезни», часть 2. «Оценка эксплуатационных характеристик устройств для испытания антимикробной чувствительности», ГОСТ Р ЕН 12 322-2010 «Изделия медицинские для диагностики *in vitro*. Питательные среды для микробиологии. Критерии эксплуатационных характеристик питательных сред». Стандартизации условий преаналитического этапа микробиологических исследований способствует выполнение положений ГОСТ Р 53079.4-2008 «Технологии медицинские лабораторные. Обеспечение качества клинических лабораторных исследований. Часть 4. Правила ведения преаналитического этапа».

Практика показывает, что помимо восприятия ценных международных документов, необходимо также дополнительное согласование содержащихся в них положений с установками действующих отечественных документов, отсутствие которого иногда вызывает трудности при реализации требований документов в рутинных лабораториях.

Проводится разработка стандартизованных аналитических технологий микробиологических исследований. На общероссийской научно-практической конференции в октябре 2012 г. одобрена и рекомендована для предпочтительного применения в клинко-диагностических лабораториях стандартизованная технология бактериологического анализа мочи, разработанная рабочей группой в составе специалистов ряда московских, смоленских, ставропольских и омских медицинских организаций [4]. Сборник «Стандартизация аналитических технологий лабораторной медицины» (Выпуск 2), где планируется опубликовать текст этого документа, будет распространен среди подписчиков журнала «Клиническая лабораторная диагностика» в текущем году.

Задача заключается в том, чтобы на основе имеющихся данных разработать четкие и реальные установки стандартизованных аналитических технологий для клинко-диагностических лабораторий, выполняющих микробиологические исследования наиболее часто изучаемых патогенов в

различных биологических материалах, неукоснительное следование которым способно обеспечить получение надежных результатов, позволяющих клиницистам принимать правильные и своевременные лечебные решения.

Одним из важных условий реальной стандартизации и гармонизации аналитических технологий в любой области лабораторной медицины является наличие референтной системы. Референтная система, элементами которой являются эталоны, референтные методы и референтные лаборатории служат ключевым инструментом, задающим уровень требований к функциональным характеристикам методик и средств анализа при стандартизации и контроле качества. Для микробиологических исследований реализацию функций такой системы призваны, в значительной степени, выполнять созданные в соответствии с приказом Роспотребнадзора № 88 от 2008 г. национальные центры верификации диагностической деятельности и национальные центры, осуществляющие функции государственных коллекций; региональные центры по мониторингу за возбудителями инфекционных и паразитарных болезней II–IV групп патогенности; референс-центры по мониторингу за возбудителями инфекционных и паразитарных болезней.

В микробиологии роль эталонов и образцов сравнения выполняют референтные штаммы микроорганизмов. Референтные штаммы могут быть получены из государственных коллекций микроорганизмов (табл. 2) или референтных коллекций АТСС и NTСС, относящихся к ЕССО или WFCC. Референтные штаммы (эталонные культуры) применяются для идентификации микроорганизмов.

Непременным условием получения надежных результатов лабораторных исследований является повседневное проведение внутрилабораторного контроля [5] и участие в периодически проводимых циклах межлабораторной внешней оценки качества [6–8].

Применяемые при проведении контроля качества микробиологических исследований контрольные штаммы получают на основе референтных штаммов.

Таблица 2. Перечень национальных центров верификации диагностической деятельности и национальных центров, осуществляющих функции государственных коллекций, Роспотребнадзора*

Учреждение	Референс-функции	Хранение коллекционных штаммов, охраноспособное и авторское депонирование, эталонные культуры
	референтные штаммы	
ФГУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора	Возбудители вирусных инфекций, риккетсиозов	Возбудители вирусных инфекций, риккетсиозов
ФГУН «ГНЦ прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора	Генетически модифицированные микроорганизмы. Возбудители «новых» бактериальных инфекций	Генетически модифицированные микроорганизмы. Возбудители «новых» бактериальных инфекций
ФГУЗ «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб»	Возбудители особо опасных бактериальных инфекций I–II групп патогенности	Возбудители особо опасных бактериальных инфекций I–II групп патогенности
Государственный НИИ стандартизации и контроля медицинских биологических препаратов им.Л.А.Тарасевича	Нет	Возбудители бактериальных инфекций III–IV групп патогенности

Примечание. *Извлечение из приказа Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека от 17.03.2008 № 88 (в модификации)

При использовании референтных и контрольных штаммов нельзя не учитывать высокую степень изменчивости микроорганизмов и их чувствительность к изменению условий хранения. Признается, что универсальный метод успешного сохранения и содержания всех микроорганизмов отсутствует. Хранение суспензий контрольных штаммов рекомендуется осуществлять глубоко замороженными или лиофилизированными, а также на стеклянных или керамических шариках.

Данные внешней оценки качества лабораторных исследований постоянно доказывают наличие реальных трудностей в достижении адекватных результатов микробиологических исследований во многих российских клинико-диагностических лабораториях. Клинико-микробиологические исследования выполняются не только в специа-

лизированных микробиологических лабораториях. Поэтому разработка стандартов условий выполнения исследований и стандартизованных аналитических технологий для микробиологических исследований является важным делом специалистов клинической микробиологии.

Наряду с разработкой стандартизованных технологий, ориентированных на применение в практических лабораториях медицинских учреждений, необходимо также озаботиться и установлением референтных методик для исследования определенных видов микроорганизмов. Представляется, что возможности решения этих задач имеются, нужна лишь определенная организационная работа по формированию системы и рациональное использование доступных источников финансирования.

Литература

1. Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам. Методические указания МУК 4.2.1890-04.
2. Методы контроля бактериологических питательных сред. Методические указания МУК 4.2.2316-08.
3. Безопасность работы с микроорганизмами III–IV групп патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней. Санитарно-эпидемиологические правила. СП 1.3.2322-08, Москва, 2009.
4. Козлов Р.Г., Меньшиков В.В., Михайлова В.С., Шуляк Б.Ф., Долгих Т.И., Круглов А.Н., Алиева Е.В., Маликов В.Е. Стандартизованная технология «Бактериологический анализ мочи» (проект). Проблемы стандартизации в здравоохранении 2012; (5-6):45-61.
5. Михайлова В.С., Поляк М.С., Суханова С.М. О роли внутрилабораторного контроля качества в стандартизации питательных сред для микробиологических исследований в клинико-диагностических лабораториях. Проблемы стандартизации в здравоохранении 2009; (5-6):8-15.
6. Михайлова В.С., Хайдукова И.Л., Малахов В.Н. Пятилетний опыт проведения внешней оценки качества (ВОК) микробиологических исследований. Клиническая лабораторная диагностика 2000; (9):32-3.
7. Михайлова В.С., Меньшиков В.В., Хайдукова И.Л., Малахов В.Н., Александрова Н.В. Десятилетний опыт проведения внешней оценки качества микробиологических исследований при гнойно-септических и внутрибольничных инфекциях. Клиническая лабораторная диагностика 2005; (10):60-1.
8. Михайлова В.С., Хайдукова И.Л., Шульгина М.В., Александрова Н.В., Малахов В.Н. Роль внешнего контроля качества гемофильных бактерий в совершенствовании микробиологической диагностики в лабораториях клинической микробиологии. Клиническая лабораторная диагностика 2011; (10):26-7.