

ОРГАНИЗАЦИЯ ЛАБОРАТОРНОЙ СЛУЖБЫ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2020

Борисова О.Ю.¹, Гадуа Н.Т.¹, Пименова А.С.¹, Афанасьев С.С.¹, Афанасьев М.С.², Миронов А.Ю.¹, Алёшкин В.А.¹

СОСТОЯНИЕ И ПРОБЛЕМЫ БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКИ ДИФТЕРИЙНОЙ ИНФЕКЦИИ В РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

¹ФБУН «Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г. Н. Габричевского» Роспотребнадзора, 125212, Москва, Россия;

²ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Минздрава РФ, 119991, Москва, Россия

*Цель работы – оценка состояния бактериологической диагностики дифтерийной инфекции в России для установления возможных причин снижения выделяемости *C. diphtheriae*. Референс-центром по мониторингу за возбудителями кори, краснухи, эпидемического паротита, коклюша и дифтерии в 2018 г. в 85 субъектах России проведено анкетирование лабораторий лечебно-профилактических организаций и Центров гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, осуществляющих бактериологические исследования на дифтерийную инфекцию. Установлено, что количество проведенных исследований за пятилетний период сократилось в 1,2 раза. Тенденция уменьшения количества бактериологических исследований на дифтерию прослеживается на территориях практически всех федеральных округов. Учреждения ФБУЗ ЦГиЭ и ЛПО в 99% и 29% случаев используют в своей работе документы, регламентирующие бактериологические исследования на дифтерию. На ряде территорий в перечне используемых документов фигурируют документы, утратившие силу или не определяющие такие исследования. Большинство учреждений при обследовании на дифтерию используют сухие тампоны, однако 13,1% и 53,4% учреждений Роспотребнадзора и ЛПО (соответственно) применяют коммерческие транспортные среды, что не соответствует нормативной документации. Анализ качества работы бактериологических лабораторий показал недостатки на этапе приготовления сред первичного посева (применение донорской крови или отсутствие добавления крови и теллурита калия), пробы на токсигенность (добавление в среду лошадиной сыворотки или отсутствие сыворотки), постановка неполного биохимического ряда (отсутствие тестов на уреазу и нитратредуктазу), отсутствие контрольных типовых штаммов, неполный объем проведения внутрилабораторного контроля качества. Учитывая продолжающуюся циркуляцию возбудителя в различных странах мира и в РФ, возможность завозных случаев инфекции из эндемичных регионов, проведенный анализ направлен на привлечение внимания специалистов к проблеме улучшения качества лабораторной диагностики дифтерии в России.*

Ключевые слова: *C. diphtheriae*; бактериологическая диагностика; определение токсигенности; Российская Федерация.

Для цитирования: Борисова О.Ю., Гадуа Н.Т., Пименова А.С., Афанасьев С.С., Афанасьев М.С., Миронов А.Ю., Алёшкин В.А. Состояние и проблемы бактериологической диагностики дифтерийной инфекции в Российской Федерации. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2020; 65 (11): 717-723. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2020-65-11-717-723>

Borisova O.Yu.¹, Gadua N.T.¹, Pimenova A.S.¹, Afanasiev S.S.¹, Afanasiev M.S.², Mironov A.Yu.¹, Aleshkin V.A.¹

STATUS AND PROBLEMS OF BACTERIOLOGICAL DIAGNOSIS OF DIPHTHERIA INFECTION IN THE RUSSIAN FEDERATION

¹G. N. Gabrichevsky Research Institute of Epidemiology and Microbiology, 125212, Moscow, Russian Federation;

²I.M. Sechenov First Moscow State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation, 119991, Moscow, Russian Federation

*The purpose of the work was to assess the state of bacteriological diagnosis of diphtheria infection in Russia in order to establish possible reasons for the decrease in the release of *C. diphtheriae*. The Reference Center for Monitoring the Pathogens of Measles, Rubella, Mumps, Pertussis and Diphtheria in 2018 in 85 subjects of Russia conducted a questionnaire of laboratories of medical organizations and the Centers for Hygiene and Epidemiology of Rosпотребнадзор, carrying out bacteriological studies for diphtheria infection. It was found that the number of studies conducted over the five-year period decreased by 1.2 times. The tendency to decrease the number of bacteriological studies for diphtheria is observed in the territories of almost all federal districts. In 99% and 29% of cases, the institutions of the FBUZ Centers for Hygiene and Epidemiology and medical organizations (MO) and use in their work documents regulating bacteriological studies for diphtheria infection. In a number of territories, the list of documents used includes documents that are invalid or do not define such studies. Most organizations use dry tampons when examining for diphtheria, however, 13.1% and 53.4% of FBUZ Centers for Hygiene and Epidemiology and medical organizations (respectively) use commercial transport environments, which does not comply with regulatory documentation. Analysis of the quality of work of bacteriological laboratories showed shortcomings at the stage of preparation of media (use of donor blood, or absence of addition of blood and potassium tellurite), Elek tests (addition of horse serum or absence of serum to the medium), setting of incomplete biochemical series (absence of tests for urease and nitrate reductase), absence of standard control strains, incomplete volume of internal laboratory quality control. Given the continuing circulation of the pathogen in various countries of the world and in our country, as well as the possibility of imported cases of infection*

Для корреспонденции: Борисова Ольга Юрьевна, д-р мед. наук, проф., рук. лаб. диагностики дифтерийной и коклюшной инфекций; e-mail: olgaborisova@mail.ru

from endemic regions, the analysis was aimed at drawing the attention of specialists to the problem of improving the quality of laboratory diagnosis of diphtheria in Russia.

Key words: *C. diphtheriae; bacteriological diagnosis; detection of toxigenicity; Russian Federation.*

For citation: Borisova O.Yu., Gadua N.T., Pimenova A.S., Afanasiev S.S., Afanasiev M.S., Mironov A.Yu., Aleshkin V.A. Status and problems of bacteriological diagnosis of diphtheria infection in the Russian Federation. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics)*. 2020; 65 (11): 717-723 (in Russ.). DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2020-65-11-717-723>

Information about authors:

Borisova O.Yu., <https://orcid.org/0000-0001-6316-5046>;
Gadua N.T., <https://orcid.org/0000-0001-6247-6176>;
Pimenova A.S., <https://orcid.org/0000-0002-6914-3531>;
Afanasiev S.S., <https://orcid.org/0000-0001-6497-1795>;
Afanasiev M.S., <https://orcid.org/0000-0002-5860-4152>;
Mironov A.Yu., <https://orcid.org/0000-0002-8544-5230>;
Aleshkin V.A., <https://orcid.org/0000-0002-2701-431X>.

For correspondence: Borisova O.Yu., doctor of medicine (MD), professor, head of laboratory of diagnostic of diphtheria and pertussis infections' e-mail: olgborisova@mail.ru

Acknowledgment. *The study had no sponsorship.*

Conflict of interest. *The authors declare no conflict of interest.*

Received 03.09.2020
Accepted 07.09.2020

Введение. Несмотря на успехи вакцинопрофилактики, дифтерия по-прежнему является серьёзной проблемой общественного здравоохранения и причиной детской смертности в странах с недостаточным уровнем охвата населения профилактическими прививками [1]. По данным ВОЗ и CDC в Индии, Индонезии, Пакистане, Иране, Непале, Гане, Бразилии, Гаити, Доминиканской Республике дифтерия по сей день остается эндемичным заболеванием, течение которого характеризуется многообразием клинических форм и различной локализацией. В течение последних пяти лет регистрируются локальные вспышки в Таиланде, Лаосе, странах Африки [1, 2, 3]. Наряду с этим в странах Европы стали появляться сообщения о случаях заболевания дифтерией среди мигрантов и туристов, посетивших эндемичные по этой инфекции территории [1].

Широкая иммунизация детей АКДС-вакциной против дифтерии в России начала проводиться с 1959 года. Достиженные результаты подтвердили значимость массовой специфической иммунопрофилактики среди населения для поддержания в стране санитарно-эпидемиологического благополучия по этой инфекции [4]. В России в течение последних 30 лет были отмечены два периода усиления эпидемического процесса [4 – 7], последний из которых был зарегистрирован в 90-е годы [4, 5]. В настоящее время в условиях поддержания высокого уровня привитости (95% и более) достигнута стабилизация заболеваемости, регистрируются единичные случаи заболевания и бактерионосительства, в структуре клинических форм преобладают лёгкие локализованные формы дифтерии [6-10].

Актуальность проблемы дифтерийной инфекции в условиях единичных случаев заболеваний сохраняется по сей день [6-10]. Во-первых, утрачивается опыт клинического и бактериологического распознавания дифтерии. Во-вторых, сохраняется резервуар возбудителя в форме бактерионосительства. В-третьих, эпидемический процесс протекает среди привитого населения. При этом продолжают регистрировать случаи заболеваний как среди непривитых детей, так и среди взрослых (на данный момент около 3-х млн человек не привиты

против дифтерии) [10]. В условиях спорадической заболеваемости главная роль в распространении инфекции отводится бактерионосителям токсигенных коринебактерий, поскольку они являются резервуаром возбудителя и поддерживают его существование как биологического вида.

Лабораторная диагностика дифтерийной инфекции на территории РФ осуществляется с помощью культурального метода, который считается «золотым стандартом», и порядок проведения которого строго регламентирован действующими нормативными и методическими документами – санитарно-эпидемиологическими правилами СП 3.1.2.3109-13 «Профилактика дифтерии» и методическими указаниями МУК 4.2.3065-13 «Лабораторная диагностика дифтерийной инфекции».

Система бактериологической диагностики дифтерии в РФ создавалась и разрабатывалась на протяжении десятилетий несколькими поколениями микробиологов, среди которых ведущая роль принадлежит сотрудникам Московского НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г. Н. Габричевского. Основной задачей является идентификация возбудителя дифтерии в максимально сжатые сроки (3-4 дня от начала исследования) с помощью минимального количества диагностических тестов. Культуральный метод диагностики дифтерии является эффективным и наиболее точным. При выделении из биологического материала возбудителя заболевания изучаются его токсигенные и биохимические свойства с целью определения у него способности к продукции дифтерийного токсина и биовара. Продолжительность исследования составляет от трёх до пяти рабочих дней (МУК 4.2.3065-13 «Лабораторная диагностика дифтерийной инфекции»). Эффективность любого исследования определяется не только качеством проводимых бактериологических тестов, но и напрямую зависит от правильности взятия биологического материала у обследуемого и соблюдения условий доставки его в лабораторию, что составляет преаналитический этап [11].

В Российской Федерации в течение более 20 лет проводится эпидемиологический надзор за дифтерийной инфекцией [12], который в настоящее время регламен-

тирован действующими методическими указаниями МУ 3.1.3018-12 «Эпидемиологический надзор за дифтерийной инфекцией». В рамках эпидемиологического надзора осуществляется микробиологический мониторинг возбудителя, включающий слежение за выделяемостью токсигенных и нетоксигенных штаммов, и наблюдение за их биологическими свойствами. Результаты проведения эпидемиологического надзора за дифтерийной инфекцией ежегодно публикуются в виде информационно-методических материалов, включающих данные о заболеваемости дифтерией, уровне напряжённости антитоксического иммунитета, биологических свойствах циркулирующих штаммов [8 – 10]. Согласно проведённым исследованиям [8 – 10], отмечается тенденция к снижению выделяемости не только токсигенных, но и нетоксигенных *Corynebacterium diphtheriae* (*C. diphtheriae*), что может свидетельствовать о возможных нарушениях на всех этапах проведения лабораторной диагностики дифтерийной инфекции.

Цель работы – оценка состояния лабораторной диагностики дифтерийной инфекции в России для установления возможных причин снижения выделяемости *C. diphtheriae*.

Материал и методы. В соответствии с приказом Роспотребнадзора от 01.12.2017 г. № 1116 «О совершенствовании системы мониторинга, лабораторной диагностики инфекционных и паразитарных болезней и индикации ПБА в Российской Федерации» Референс-центром по мониторингу за возбудителями кори, краснухи, эпидемического паротита, коклюша и дифтерии, действующим на базе ФБУН МНИИЭМ им. Г. Н. Габричевского, в период с июля по сентябрь 2018 г. в 85 субъектах РФ проведено анкетирование клинико-диагностических лабораторий лечебно-профилактических организаций (ЛПО) и Центров гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора (ЦГиЭ), осуществляющих бактериологические исследования на дифтерию. Анкетирование проведено с целью проведения заседания проблемной комиссии Учёного совета Роспотребнадзора «Профилактика инфекций, управляемых средствами вакцинопрофилактики» и оценки состояния бактериологической диагностики дифтерийной инфекции в РФ. В работе использовали методы описательной статистики.

Результаты и обсуждение. Анализ состояния бактериологической диагностики дифтерийной инфекции проведён по трём направлениям – анализ количества обследуемых на дифтерию лиц; качество проведения преаналитического этапа в медицинских организациях; качество проведения бактериологического исследования в лабораториях.

Обследование на дифтерию на территории РФ, согласно СП 3.1.2.3109-13 «Профилактика дифтерии», проводится с диагностической целью, по эпидемиологическим показаниям, с профилактической целью. В ходе анализа установлено, что на территории России в 2013-2017 гг. всего проведено 16 014 252 бактериологических исследований. Количество проведённых исследований за 5-летний период к 2017 г. сократилось в 1,2 раза (рис. 1).

Количество проведённых исследований в ЛПО сохранялось практически на одинаковом уровне, в то время как в учреждениях Роспотребнадзора их число уменьшилось в 1,8 раза (рис. 2).

Большинство (30% и 19%) бактериологических исследований проведено на территории

Центрального (ЦФО) и Сибирского (СФО) федеральных округов соответственно, 8-14% на территориях Приволжского (ПФО), Северо-Западного (СЗФО), Южного (ЮФО) федеральных округов, 5-6% на территориях Уральского (УФО), Северо-Кавказского (СКФО), Дальневосточного (ДВФО) федеральных округов. На территориях всех федеральных округов прослеживалась тенденция уменьшения количества бактериологических исследований на дифтерию (рис. 3).

Анализ тенденции количества обследуемых лиц показал, что на 15,5% территорий количество обследуемых лиц увеличивалось, на 15,5% – не изменялось, на 69% территорий отмечалось уменьшение количества обследуемых на дифтерию лиц. Снижение количества обследуемых лиц по федеральным округам регистрировалось на 30,8% территорий в ЦФО, 33,3% – в СЗФО, 83,3% – в ЮФО, 80% – в СКФО, 55,6% – в ПФО, 75% – в УФО, 77,8% – в СФО, 100% – в ДВФО.

Согласно действующим СП 3.1.2.3109-13 «Профилактика дифтерии» и МУК 4.2.3065-13 «Лабораторная диагностика дифтерийной инфекции», от одного человека при обследовании на дифтерию должно быть взято два анализа. На отдельных территориях это соотношение нарушено – или в сторону увеличения числа анализов (18 территорий), что должно быть аргументировано, так как может свидетельствовать о другой локализации патологического процесса и необходимости взятия дополнительного анализа, или наоборот – взят один анализ от одного человека (42 территории), что является серьёзным нарушением действующих нормативных документов.

Всего за анализируемый период на территории страны выделено 7002 культур *C. diphtheriae*, *Corynebacterium ulcerans* (*C. ulcerans*), *Corynebacterium pseudotuberculosis* (*C. pseudotuberculosis*). Из них 95 токсигенных (из них 21 штамм *C. diphtheriae*) и 6907 – нетоксигенных штаммов (из них 2294 штаммов *C. diphtheriae*) (рис. 4).

При обследовании по различным показаниям большинство (93,7%) выделенных культур принадлежали к *Corynebacterium spp.* (см. таблицу).

На втором месте по количеству выделенных культур с диагностической целью и по эпидпоказаниям были штаммы *C. pseudotuberculosis* (4,03% и 8,9% соответственно), с профилактической целью – *C. diphtheriae* (3,7%). С диагностической целью на

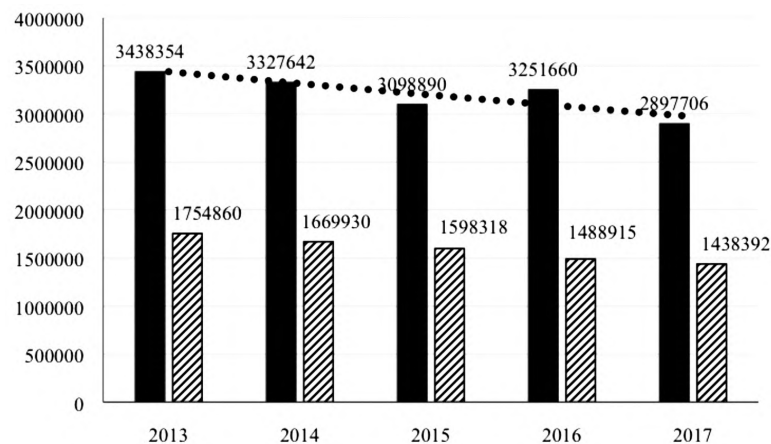


Рис. 1. Количество проведённых бактериологических исследований и обследованных на дифтерийную инфекцию лиц в РФ.

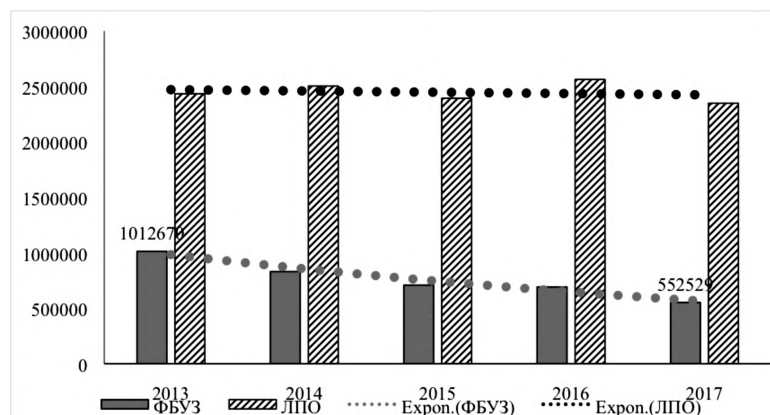


Рис. 2. Количество проведённых анализов на дифтерийную инфекцию в лабораториях ЛПО и ФБУЗ ЦГиЭ.

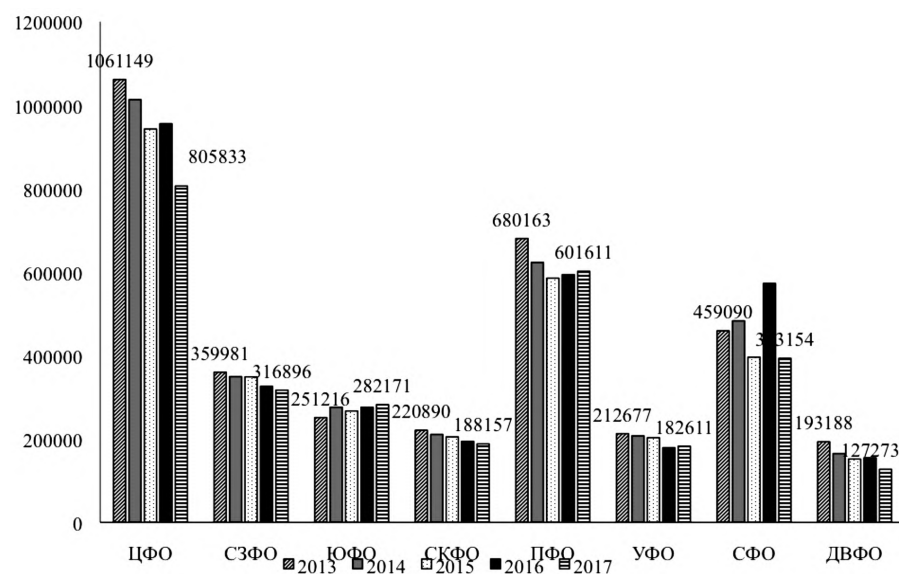


Рис. 3. Количество проведённых анализов на дифтерийную инфекцию в лабораториях федеральных округов.

третьем месте по частоте выделения были штаммы *S. diphtheriae* (1,7%) и с профилактической целью – *S. pseudotuberculosis* (3,1%), по эпидпоказаниям – *S. ulcerans* (5,2%). По данным верификации присланных в Референс-центр штаммов коринебактерий в 2018-2020 гг., все штаммы *S. pseudotuberculosis* идентифицированы как *S. ulcerans*.

Проведение бактериологических исследований на дифтерию регламентируется СП 3.1.2.3109-13 «Профилактика дифтерии» и МУК 4.2.3065-13 «Лабораторная диагностика дифтерийной инфекции». На одной из территорий в ФБУЗ ЦГиЭ использовались нерегламентированные нормативные документы, в ЛПО на 28,5% территорий – регламентированные документы. На 71,5% территорий информации о том, какой нормативной и методической документацией руководствовались в своей работе, не предоставлено. Среди перечисленных документов, которые использовали в своей работе лаборатории ФБУЗ ЦГиЭ, на 10 территориях в списке были документы, которые утратили силу (МУК 4.2.698-98, Приказ № 36 от 03.02.1997 г.), и на 10 территориях – документы, которые не регламентируют проведение исследований на дифтерию (Приказ № 535 от 22.04.1985 г.,

МР 28-6/31, Клинические рекомендации 2014 г.). В документах, предоставленных из лабораторий ЛПО, среди перечисленных нормативных документов, в лабораториях на 2-х территориях в списке были устаревшие документы (МУК 4.2.698-98, Приказ № 36 от 03.02.1997 г., Приказ № 450 от 02.04.1986 г.), на 11 территориях – документы, которые не регламентируют проведение исследований на дифтерию (Приказ № 535 от 22.04.1985 г., Приказ № 575 от 11.1982 г., Приказ № 585 от 1985 г., Письмо № 203-н от 10.05.2017 г., МР 4.2.0020-2011, Руководство ВОЗ 1995 г.).

Следующий этап анализа посвящён оценке правильности проведения преаналитического этапа исследования, включающего взятие и транспортировку биологического материала, которые осуществляются в медицинских организациях. Согласно СП 3.1.2.3109-13 «Профилактика дифтерии» и МУК 4.2.3065-13 «Лабораторная диагностика дифтерийной инфекции», взятие биологического материала производится двумя сухими коммерческими или лабораторно-приготовленными тампонами с доставкой в течение 3 часов. Для взятия биологического материала во второй половине дня допускается помещение биологического материала в лабораторно-приготовленные транспортные среды и не допускается использование коммерческих транспортных агаризованных сред, предназначенных для взятия материала на микрофлору.

Анализ присланных документов показал, что на 45,2% территорий в лабораториях ФБУЗ ЦГиЭ взятие материала осуществлялось в первой половине дня, на 1,2% – во второй половине дня, в 53,6% случаях – в течение всего дня; на 29,8% территорий использованы лабораторно-приготовленные тампоны, на 32,1% – коммерческие, на 38,1% – комбинированный вариант (коммерческие и лабораторно-приготовленные тампоны). На 81% территорий в лабораториях ФБУЗ ЦГиЭ не использовались транспортные среды, 5,9% территорий – регламентированные лабораторно-приготовленные транспортные среды, 13,1% (11 территорий) применяли коммерческие транспортные среды, что противоречит действующим нормативным документам. После проведения сравнительных экспериментальных исследований, нами внесены коррективы в раздел использования транспортных сред и прописано, что допускается использование коммерческих только жидких транспортных сред с помещением в определённые условия хранения. Взятие в первой половине дня предполагает, что материал будет доставлен в лабораторию в течение рабочего дня (интервал 3 час), и, по представленным материалам, на 89,5% территорий, где взятие осуществлялось только в первой половине дня, забор биологического материала осуществлялся на сухих тампонах и на 2,6% территорий – на сухих тампонах и в лабораторно-приготовленные транспортные среды. Вызывает вопрос почему на 7,9% территорий для забора материала в пер-

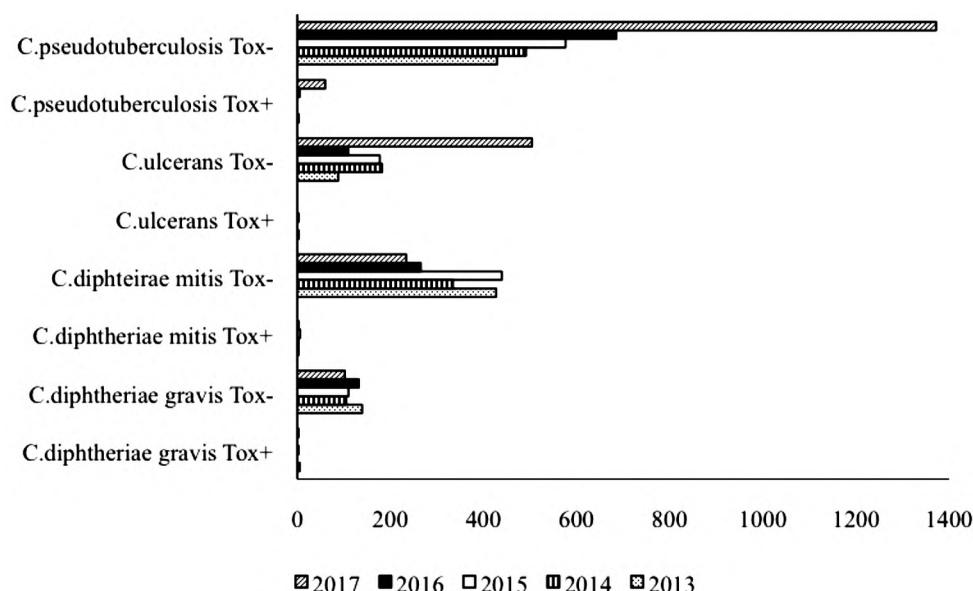


Рис. 4. Количество выделенных токсигенных и нетоксигенных штаммов *C. diphtheriae*, *C. ulcerans*, *C. pseudotuberculosis*.

Количество выделенных культур при обследовании на дифтерийную инфекцию

Годы	Выделение культур											
	<i>C. diphtheriae</i>			<i>C. ulcerans</i>			<i>C. pseudotuberculosis</i>			<i>Corynebacterium spp.</i>		
	ДЦ	ПЦ	ЭП	ДЦ	ПЦ	ЭП	ДЦ	ПЦ	ЭП	ДЦ	ПЦ	ЭП
2013	233	334	6	56	29	6	365	62	5	10049	5170	198
2014	235	195	11	149	26	7	390	97	4	11327	6270	251
2015	309	247	0	152	26	2	405	169	2	11773	5074	108
2016	182	219	3	78	28	3	536	152	2	12313	5899	323
2017	167	172	2	152	299	53	843	481	108	13256	6021	263
Всего	1126	1167	22	587	408	71	2539	961	121	58718	28434	1143

Примечание. ДЦ – диагностическая цель, ПЦ – профилактическая цель, ЭП – эпидемиологические показания.

вой половине дня применяли сухие тампоны и коммерческие транспортные среды (рис. 5,а). Из территорий, где осуществлялось взятие материала в течение всего дня (рис. 5,б), на 70,4% территорий материал забирался сухими тампонами, на 11,4% на сухих тампонах и в лабораторно-приготовленные транспортные среды и на 18,2% (8 территорий) применяли сухие тампоны и коммерческие транспортные среды, однако последний факт противоречит нормативной документации.

По ЛПО предоставлена неполная информация, так как 54 территории (64,3%) не предоставили информацию об этапе взятия материала на дифтерию. Из 30 ЛПО, представивших информацию, на 16,7% территорий использовались лабораторно-приготовленные сухие тампоны, на 33,3% – коммерческие сухие тампоны, на 50% территорий – комбинация тампонов; на 43,3% территорий транспортные среды не применялись, на 1 территории (3,3%) использовали регламентированную лабораторно-приготовленную транспортную среду, на 53,4% (16 территорий) – коммерческие транспортные среды, что противоречит действующей нормативной документации. В ЛПО 23,8% территорий обследование на дифтерию проводили весь день, на 11,9% – только в первой половине (рис. 6, а,б). Обследование в первой половине дня сухими тампонами проводили 50% ЛПО, 50%

ЛПО – с помощью сухих тампонов и в коммерческие транспортные среды (рис. 6,а). В ЛПО 45% территорий, которые проводили обследование весь день, биологический материал забирали сухими тампонами, однако в ЛПО на 55% (11) территорий взятие материала весь день осуществляли как сухими тампонами, так и в коммерческие транспортные среды (рис. 6,б), что противоречит действующей нормативной документации.

Следующий этап анализа включал оценку качества работы бактериологических лабораторий. В лабораториях ФБУЗ ЦГиЭ на 17,8% территорий использовались лабораторно-приготовленные питательные среды для первичного посева, 46,4% – только коммерческие, 35,8% – комбинацию сред (лабораторно-приготовленные и коммерческие). В лабораторно-приготовленные среды первичного посева – кровяно-теллуриновые – обязательным является добавление крови. 15,5% лабораторий используют коммерческую кровь, 39,3% – не добавляют кровь, 45,2% лабораторий применяют препараты крови или донорскую кровь (в т. ч. с истекшим сроком годности), последний факт противоречит Федеральному закону № 125 статья 16 «О донорстве крови и её компонентов». Применение Коринебакагара (КБА) не предполагает использование крови, так как содержит необходимый набор факторов роста, исключающих её добавление. Кровь не добавляют в КБА

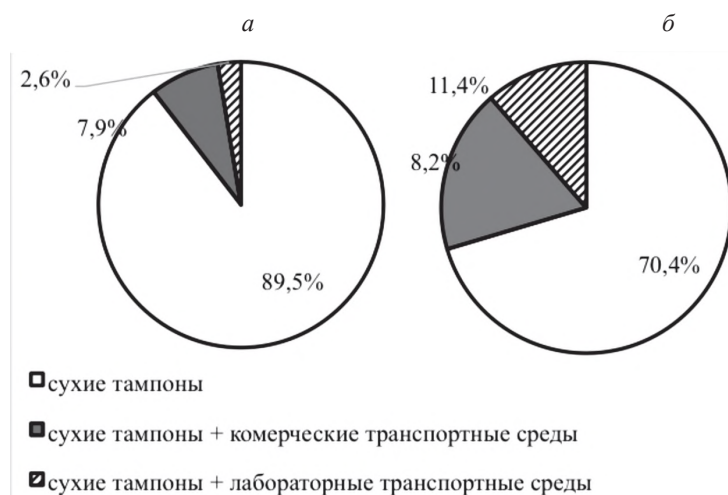


Рис. 5. Виды материалов, используемых для взятия биологического материала на дифтерийную инфекцию в ФБУЗ ЦГиЭ в первой (а) половине дня и в течение всего дня (б).

– 28,6% лабораторий, 19% лабораторий её применяют в качестве добавки, 35,7% лабораторий – в сочетании КБА + лабораторно-приготовленные среды + кровь, что провоцирует вопрос о результатах проведения внутрилабораторного контроля качества сред первичного посева в этих лабораториях и тех аргументах, которые служат основой для внесения крови в среду, которая не предполагает её использование. Три лаборатории (3,6%), по присланным документам, не добавляют кровь в лабораторно-приготовленные среды, что полностью противоречит рецепту приготовления кровяно-теллуритовых сред первичного посева. На 4 территориях (4,8%) в лабораториях не добавляют в среды первичного посева теллурит калия, что является обязательным этапом при их приготовлении, так как этот реактив придает колониям характерные культуральные свойства (окраска колоний в серо-чёрный цвет).

По материалам, предоставленным из лабораторий ЛПО, 2,4% территорий используют лабораторно-приготовленные питательные среды для первичного посева, 9,5% – только коммерческие, 21,4% – комбинацию сред, на 56 (66,7%) территориях информация о используемых пита-

тельных средах отсутствует. В лабораторно-приготовленные среды первичного посева (кровяно-теллуритовые) обязательным является добавление крови. 3,7% лабораторий используют коммерческую кровь, 25,9% – не добавляют кровь, 70,4% территорий применяют препараты крови или донорскую кровь (в т. ч. с истекшим сроком годности). Кровь не добавляют в КБА – 41,7% территорий, 27,8% территорий её используют, 27,8% территорий – в сочетании КБА + лабораторно-приготовленные среды + кровь, что провоцирует вопрос о результатах проведения внутрилабораторного контроля качества. На одной территории, согласно присланным документам, не добавляют кровь в лабораторно-приготовленные среды, что полностью противоречит технологии приготовления кровяно-теллуритовых сред первичного посева.

Основной задачей бактериологической диагностики дифтерийной инфекции является выявление токсигенности (продукции дифтерийного токсина) у возбудителя, которая проводится в реакции преципитации в агаре с дифтерийным антитоксином. Для постановки пробы на токсигенность в лабораториях ФБУЗ ЦГиЭ 90,5% территорий используют коринетоксагар, 22,6% – ОТДМ. В среду на токсигенность регламентировано добавление сыворотки крупного рогатого скота. Её используют 79,8% лабораторий, 25% лабораторий – добавляют лошадиную сыворотку, что противоречит МУК 4.2.3065-13 «Лабораторная диагностика дифтерийной инфекции». 4 лаборатории вообще не добавляли сыворотку в среду на токсигенность, что вызывает сомнения в качестве постановки пробы на токсигенность. Информация о постановке пробы на токсигенность, которую проводят в лабораториях ЛПО, отсутствует с 59 территорий РФ. По информации, предоставленной из лабораторий 30 учреждений ЛПО, для постановки пробы на токсигенность 54% лабораторий используют коринетоксагар, 13% – ОТДМ, 1% – импортную среду; 36% лабораторий применяют сыворотку крупного рогатого скота, в 20% лабораторий в среду добавляют лошадиную сыворотку, что является нарушением нормативной документации. 12% учреждений вообще не добавляют сыворотку в среду на токсигенность, в 1 лаборатории для постановки пробы на токсигенность используют КБА, в 1 лаборатории – среду Пизу. Данные факты могут свидетельствовать о нарушении правил постановки пробы на токсигенность.

Важной составляющей работы каждой лаборатории является проведение внутрилабораторного контроля качества, который осуществляется с помощью контрольных типовых штаммов, регламентированных действующими нормативными документами. 83% лабораторий ФБУЗ ЦГиЭ имеют необходимый набор контрольных штаммов, в 17% лабораторий – набор штаммов не соответствует нормативной документации; в ЛПО (из представленной информации 30-ти учреждений) – 8% лабораторий имеют необходимый набор штаммов, 42% – не соответствуют требованиям.

Внутрилабораторный контроль качества при проведении бактериологических исследований должен осуществляться на всех этапах, включая контроль сред первичного посева, постановку пробы на токсигенность, биохимическую идентификацию. Контроль качества сред первичного посева с регламентированным набором контрольных штаммов проводят только 55% лабораторий, постановку про-

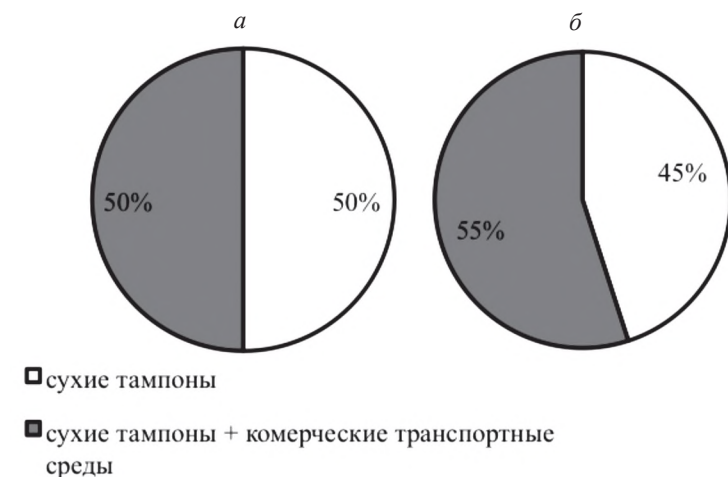


Рис. 6. Виды материалов, используемых для взятия биологического материала на дифтерийную инфекцию в ЛПО в первой половине дня (а) и в течение всего дня (б).

бы Пизу – 44% лабораторий, пробу на токсигенность – только 54% лабораторий.

Биохимическая идентификация возбудителя дифтерии осуществляется путём обязательного определения сахаролитической (ферментация глюкозы, сахарозы и крахмала) и уреазной активности, при положительном результате последнего теста проводится определение нитратредуктазной активности. Вместе с тем, 13% лабораторий не определяли уреазную и 25% лабораторий – нитратредуктажную активности.

В рамках последипломного образования и с целью поддержания квалификации необходимым условием работы специалистов, проводящих бактериологические исследования на дифтерийную инфекцию, является прохождение повышения квалификации, которое осуществляется по соответствующей специальности и в виде периодического тематического усовершенствования каждые три года (МУК 4.2.3065-13 «Лабораторная диагностика дифтерийной инфекции»). Согласно при- сланным документам, специалисты 58% лабораторий ФБУЗ ЦГиЭ и только специалисты 14% лабораторий ЛПО проходили тематическое усовершенствование по лабораторной диагностике дифтерийной инфекции, что может свидетельствовать о возможной утрате практических навыков при проведении данных исследований.

Заключение. Проведенный анализ состояния лабораторной диагностики дифтерийной инфекции выявил проблемы на всех этапах его осуществления – снижение количества обследованных лиц и анализов на дифтерию, нарушения на этапе взятия биологического материала, в работе бактериологических лабораторий, что в целом может отражаться на снижении выделяемости штаммов *C. diphtheriae*. Несмотря на благополучную эпидемиологическую обстановку, возбудитель дифтерии продолжает циркулировать на территории РФ, существует скрытое бактерионосительство, в связи с увеличением транспортных связей имеется возможность завозных случаев инфекции из эндемичных регионов. Всё это свидетельствует о необходимости усиления внимания к лабораторной диагностике дифтерии для поддержания её на высоком уровне. Полученные результаты послужили основанием для пересмотра действующей нормативной документации по лабораторной диагностике дифтерийной инфекции.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА (пп. 1-3 см. REFERENCES)

1. Маркина С. С., Тымчаковская И. М., Максимова Н. М., Сухорукова Н. Л. Эпидемический процесс дифтерийной инфекции в РСФСР в условиях внедрения эпидемиологического надзора. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии*. 1989; 5: 38-40.
2. Маркина С. С., Максимова Н. М., Котова Е. А., Жилина Н. Я. Заболеваемость дифтерией в России в 1993-1995 гг. *Эпидемиология и инфекционные болезни*. 1997; 4: 8-10.
3. Максимова Н. М., Маркина С. С., Яцковский К. А., Черкасова В. В., Корженкова М. П., Сафронова А. В. и др. Дифтерия в России в 2005-2009 годах. *Эпидемиология и вакцинопрофилактика*. 2010; 3: 31-6.
4. Якимова Т. Н., Маркина С. С., Максимова Н. М. Дифтерия сегодня. *Здоровье населения и среда обитания*. 2013; 12: 18-9.
5. О заболеваемости дифтерией, мониторинге за возбудителем и состоянием антитоксического противодифтерийного иммунитета населения России. *Информационное письмо № 01/13216-17-27 от*

6. 29.09.2017 г. *Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (Роспотребнадзор)*.
7. О заболеваемости дифтерией, мониторинге за возбудителем и состоянием антитоксического противодифтерийного иммунитета населения России. *Информационное письмо № 01/16590-2018-27 от 19.12.2018 г. Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (Роспотребнадзор)*.
8. О заболеваемости дифтерией и состоянии антитоксического противодифтерийного иммунитета населения России. *Информационное письмо № 02/14390-2019-27 от 10.10.2019 г. Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (Роспотребнадзор)*.
9. Национальный стандарт Российской Федерации. Технологии лабораторные клинические. Обеспечение качества клинических лабораторных исследований. Часть 4. Правила ведения преаналитического этапа. *Лабораторная служба*. 2013;(2): 19-63.
10. Фаворова Л.А., Сухорукова Н.Л., Иванова Л.М. Об эпидемиологическом надзоре. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии*. 1981; 8: 8-13.

REFERENCES

1. World Health Organization. Who vaccine-preventable diseases: *Monitoring system 2020 global summary*. https://apps.who.int/immunization_monitoring/globalsummary (дата обращения: 18.07.2020).
2. Centers for Disease Control and Prevention. Diphtheria [Электронный ресурс] // *Manual for the surveillance of vaccine-preventable diseases*. – Atlanta: Centers for Disease Control and Prevention. – Chap. 1. – URL: <https://www.cdc.gov/vaccines/pubs/surv-manual/chpt01-dip.pdf> (дата обращения: 18.07.2020).
3. Centers for Disease Control and Prevention. Diphtheria [Электронный ресурс] // *Yellow Book 2020: health information for international travel*. – New York: Oxford University Press, 2020. – Chap. 4. – URL: <https://wwwnc.cdc.gov/travel/yellowbook/2020/travel-related-infectious-diseases/diphtheria> (дата обращения: 18.07.2020).
4. Markina C. S., Tymchakovskaya I. M., Maximova N. M., Sukhorukova N. L. Epidemic process of diphtheria infection in the RSFSR in the context of the introduction of epidemiological supervision. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii*. 1989; 5: 38-40. (in Russian)
5. Markina S. S., Maximova N. M., Kotova E. A., Zhilina N. Ya. The incidence of diphtheria in Russia in 1993-1995. *Epidemiologiya i infektsionnye bolezni*. 1997; 4: 8-10. (in Russian)
6. Maksimova N. M., Markina S. S., Yatskovsky K. A., Cherkasova V. V., Korzhenkova M. P., Safronova A. V. and others. Diphtheria in Russia in 2005-2009. *Epidemiologiya i vaksinoprofilaktika*. 2010; 3: 31-6. (in Russian)
7. Yakimova T. N., Markina S. S., Maximova N. M. Diphtheria today. *Zdorov'e naseleniya i sreda obitaniya*. 2013; 12: 18-9. (in Russian)
8. On the incidence of diphtheria, monitoring the causative agent and the state of antitoxic antidiphtheria immunity of the Russian population. *Information letter № 01/13216-17-27 от 29.09.2017 Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing (Rosпотребнадзор)*. (in Russian)
9. On the incidence of diphtheria, monitoring the causative agent and the state of antitoxic antidiphtheria immunity of the Russian population. *Information letter № 01/16590-2018-27 от 19.12.2018 Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing (Rosпотребнадзор)*. (in Russian)
10. On the incidence of diphtheria and the state of antitoxic antidiphtheria immunity of the Russian population. *Information letter № 02/14390-2019-27 от 10.10.2019 Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing (Rosпотребнадзор)*. (in Russian)
11. National standard of the Russian Federation. Laboratory clinical technologies. Quality assurance of clinical laboratory studies. Part 4. Rules for conducting the preanalytic stage. *Laboratornaya sluzhba*. 2013; (2): 19-63. (in Russian)
12. Favorova L. A., Sukhorukova N. L., Ivanova L. M. On epidemiological supervision. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii*. 1981; 8: 8-13. (in Russian)

Поступила 03.09.20

Принята к печати 07.09.20