

© А. П. Сердюк, В. Н. Малахов, 2011  
УДК 616.97-07

**А. П. Сердюк**  
канд. мед. наук

**В. Н. Малахов**  
докт. биол. наук

Научно-производственный центр внешнего контроля качества клинических лабораторных исследований, Москва  
Государственный научно-исследовательский центр профилактической медицины, Москва

## Качество микроскопического выявления возбудителей трихомониаза и гонореи в лабораториях России

Дана оценка качества микроскопической диагностики возбудителей трихомониаза и гонореи в лабораториях РФ, участвующих в разделах Федеральной системы внешней оценки качества клинических лабораторных исследований. Проведен анализ правильности микроскопического выявления трихомонад и гонококков в разделах, посвященных микроскопической диагностике гонореи и трихомониаза по микрофотографиям, виртуальным препаратам и препаратам, изготовленным самими лабораториями РФ. Рассчитаны критерии достоверности и проанализированы возможные причины ошибок микроскопической диагностики гонореи и трихомониаза. Подавляющее большинство лабораторий РФ ставят правильный диагноз по исследуемому материалу. Анализ данных внешнего контроля качества по микрофотографиям показал, что при выявлении трихомонад лабораториями среди неправильных преобладала доля ложноположительных результатов, а при выявлении гонококков — доля ложноотрицательных.

**Ключевые слова:** гонококки, трихомонады, качество микроскопической диагностики, урогенитальные инфекции

Инфекции, передаваемые половым путем (ИППП), являются серьезной проблемой здравоохранения, что обусловлено их повсеместным распространением, значительным влиянием на уровень здоровья населения, а также их социальной ролью [1, 2]. Микроскопическое скрининговое выявление возбудителей трихомониаза и гонореи остается одним из традиционных и менее дорогостоящих способов диагностики данных заболеваний по сравнению с серологическими, культуральными и молекулярно-биологическими методами. Однако этот метод требует высококвалифицированного врачебного персонала, поэтому остро стоит проблема повышения качества микроскопического выявления возбудителей трихомониаза и гонореи в клиничко-диагностических лабораториях.

В рамках Федеральной системы внешней оценки качества клинических лабораторных исследований (ФСВОК) имеется несколько разделов по микроскопической диагностике *Trichomonas vaginalis* и *Neisseria gonorrhoeae*. С 2001 г. существуют разделы «Микроскопия трихомонад» и «Микроскопия гонококков», в которых в качестве контрольных материалов используют микрофотографии. В 2007 г. экспертами ФСВОК были введены разделы по оценке качества микроскопического выявления *T. vaginalis* и *N. gonorrhoeae* в урогенитальных мазках, приготовленных и исследованных самой лабораторией-участницей ФСВОК. В 2010 г. в ФСВОК появились разделы по виртуальной микроскопии *T. vaginalis* и *N. gonorrhoeae*, в которых предоставляется возможность просмотра множественных полей зрения препарата на экране компьютера. Целью настоящей работы была оценка качества микроскопической диагностики возбудителей трихомониаза и гонореи в лабораториях РФ по данным ФСВОК, полученным за 2007–2010 гг.

Анатолий Павлович Сердюк  
e-mail: aserdyuk@fsvok.ru

## Материалы и методы

Разделы ФСВОК «Микроскопия трихомонад» и «Микроскопия гонококков» состоят из трех циклов (при использовании микрофотографий как контрольных материалов) или двух циклов (при использовании виртуальных препаратов) оценки качества микроскопического выявления возбудителей трихомониаза и гонореи, рассылаемых участникам в течение года с интервалом 2–3 месяца. В каждом цикле участники раздела получали набор из четырех микрофотографий или четырех виртуальных препаратов, сделанных при микроскопии мазков отделяемого слизистой оболочкой уrogenитального тракта при ув. 1 000, инструкции по их анализу и бланки для представления полученных результатов. В разделе «Микроскопия трихомонад» для изготовления микрофотографий использовали урогенитальные мазки, окрашенные метиленовым синим и по Романовскому–Гимзе, а в разделе «Микроскопия гонококков» — мазки, окрашенные по Граму. Участникам разделов предлагалось определить, присутствуют ли на микрофотографиях изображения трихомонад и гонококков, и заполнить соответствующие бланки. После получения результатов от участников им высылали анализ их результатов в сравнении с экспертными результатами по соответствующему разделу, а также комментарии экспертов к каждой микрофотографии.

Участники раздела «Экспертная оценка качества выявления трихомонад в отделяемом слизистой оболочкой уrogenитального тракта» в соответствии с предоставленной им инструкцией высылали в адрес ФСВОК десять приготовленных и исследованных рутинных препаратов, окрашенных метиленовым синим или

по Романовскому–Гимзе. В семи препаратах лабораториями были выявлены возбудители трихомониаза, а три препарата не содержали трихомонад. Соответственно, участники раздела «Экспертная оценка качества выявления гонококков в отделяемом слизистой оболочкой уrogenитального тракта» высылали десять препаратов, окрашенных по Граму: в семи препаратах были выявлены гонококки, а три препарата содержали иную кокковую флору. Высланные препараты участники раздела сопровождали собственными результатами выявления трихомонад/гонококков на бланке, который используется ими в повседневной практике, с указанием пола пациента и места взятия мазка (цервикальный канал, влагалище или уретра). Препараты были повторно исследованы двумя независимыми экспертами ФСВОК, причем результаты самой лаборатории-участницы раздела им не были известны. При наличии несовпадения между двумя экспертами спорные препараты направляли третьему независимому эксперту. Затем препараты возвращали лаборатории вместе с результатами повторного исследования, заключением о качестве приготовления и исследования препаратов, рекомендациями по повышению качества выполняемых исследований.

## Результаты и обсуждение

Общее количество лабораторий РФ, зарегистрировавшихся в разделах ФСВОК «Микроскопия трихомонад (микрофотографии)» и «Микроскопия гонококков (микрофотографии)», в 2007–2010 гг. составляло около тысячи участников ежегодно в каждом разделе (табл. 1). По результатам опроса лабораторий, 98,9 % участников раздела «Микроскопия

Таблица 1

Доля правильных результатов, полученных при анализе микрофотографий разделов «Микроскопия трихомонад» и «Микроскопия гонококков»

Год	Раздел			
	«Микроскопия трихомонад»		«Микроскопия гонококков»	
	Общее число участников	Доля правильных результатов, %	Общее число участников	Доля правильных результатов, %
2007	1 002	92,1	968	83,5
2008	1 177	96,1	1 103	90,9
2009	1 088	92,4	991	90,7
2010	1 023	92,3	953	86,1

трихомонад» было удовлетворено качеством присланных для контроля фотографий, аналогичная цифра для участников раздела «Микроскопия гонококков» — 98,4 %. Результаты своих исследований, в зависимости от цикла оценки качества, предоставили 81,6–91,3 % и 79,6–90,3 % участников разделов «Микроскопия трихомонад» и «Микроскопия гонококков», соответственно. Уровень сложности предоставленных для анализа микрофотографий в данных разделах в 2007–2010 гг. был сопоставим. Доля правильных результатов при выявлении трихомонад составляла более 92 % (см. табл. 1). По итогам 2010 г., из 7,7 % неверных результатов по выявлению трихомонад доля ложноположительных результатов почти в 2 раза превышала долю ложноотрицательных (5,0 против 2,7 %). Основной ошибкой участников, предоставивших ложноположительные результаты в данном разделе, была неспособность дифференцировать трихомонады от клеточных элементов окрашенного мазка. В разделе «Микроскопия гонококков» доля правильных результатов составляла 83,5–90,9 % в зависимости от года (см. табл. 1). При этом в 2010 г. доля ложноположительных результатов при выявлении гонококков была несколько ниже (5,4 %) по сравнению с долей ложноотрицательных (8,5 %).

На рис. 1 показана средняя доля участников, предоставивших разное количество правильных результатов по высланным для анализа микрофотографиям. Так, в разделах «Микроско-



**Рис. 1. Средняя доля участников разделов «Микроскопия трихомонад» и «Микроскопия гонококков» с указанным числом правильных результатов в цикле**

пия трихомонад» и «Микроскопия гонококков» более половины всех участников дали правильные ответы по всем четырем микрофотографиям. Три правильных результата из четырех возможных в цикле прислали в среднем 33,4 и 30,0 % участников при выявлении трихомонад и гонококков, соответственно. Остальные участники прислали два и менее правильных ответа по микрофотографиям. К сожалению, в разделе «Микроскопия гонококков» были две лаборатории, не давшие ни одного правильного результата.

С 2010 г. в ФСВОК были введены разделы «Виртуальная микроскопия трихомонад» и «Виртуальная микроскопия гонококков», в которых имитируются условия просмотра реальных препаратов через окуляры микроскопа с перемещением множественных полей зрения и сменой увеличения. При съемке виртуальных препаратов урогенитальных мазков с помощью специальной компьютерной технологии соседние поля зрения точно состыкуются без потери информации, создавая непрерывную панораму. Зарегистрировавшиеся в данных разделах участники ФСВОК весьма благожелательно восприняли переход на новые компьютерные разделы — все 37 участников раздела «Виртуальная микроскопия трихомонад» отметили удовлетворительное качество высланных для контроля препаратов. Из 32 участников раздела «Виртуальная микроскопия гонококков» 31 лаборатория оценила качество высланных препаратов как удовлетворительное. При выявлении трихомонад правильные результаты предоставили 94,5 % участников, а при выявлении гонококков — 92,9 %. К сожалению, количество участников этих разделов пока невелико, что свидетельствует о значительной инертности перехода лабораторий на новые технологии, а возможно и о недостаточном уровне их компьютеризации. Тем не менее, мы рассматриваем данные разделы как весьма перспективные, поскольку использование виртуальных препаратов для диагностики урогенитальных инфекций позволяет существенно улучшить качество высланных для контроля препаратов, снять проблему обнаружения возбудителей ИППП по одному полю зрения микрофотографии и обеспечить более объективный внешний контроль качества выявления возбудителей трихомониаза и гонореи.

Еще одним сравнительно новым подходом к обеспечению внешнего контроля качества в рамках ФСВОК являются разделы по эксперт-

ной оценке качества выявления трихомонад и гонококков в препаратах отделяемого слизистой оболочкой уrogenитального тракта, изготовленных самими участниками [3]. В данных разделах предоставляется возможность не только провести оценку качества микроскопического выявления *T. vaginalis* и *N. gonorrhoeae* в уrogenитальных мазках, приготовленных и исследованных лабораторией, но и охарактеризовать качество изготовления препаратов (окраска, толщина мазков, качество взятия материала).

Результаты экспертной оценки качества выявления трихомонад и гонококков в препаратах участников ФСВОК за 2007–2010 гг. представлены в табл. 2. Как видно из таблицы, за этот период экспертами ФСВОК было проанализировано 562 препарата, полученных от участников по разделу «Экспертная оценка качества выявления трихомонад», и 485 — по разделу «Экспертная оценка качества выявления гонококков». Подавляющее большинство участников дали правильные результаты при выявлении трихомонад и гонококков — 93,8 и 96,5 %, соответственно. Вместе с тем, количество ложноположительных результатов превышало количество ложноотрицательных как при выявлении трихомонад (5,7 против 0,5 %), так и при выявлении гонококков (3,1 против 0,4 %). Следует сказать, что окраска препаратов по Романовскому–Гимзе для выявления трихомонад является более предпочтительной по сравнению с окраской метиленовым синим, поскольку позволяет идентифицировать жгутики и аксостиль, окрашивающиеся в розовый цвет, а также базальное тельце, окрашивающееся в сиреневый цвет. Окраска метиленовым синим не позволяет прокрасить эти элементы клетки трихомонады, что снижает чувствительность и специфичность микроскопического исследования [4].

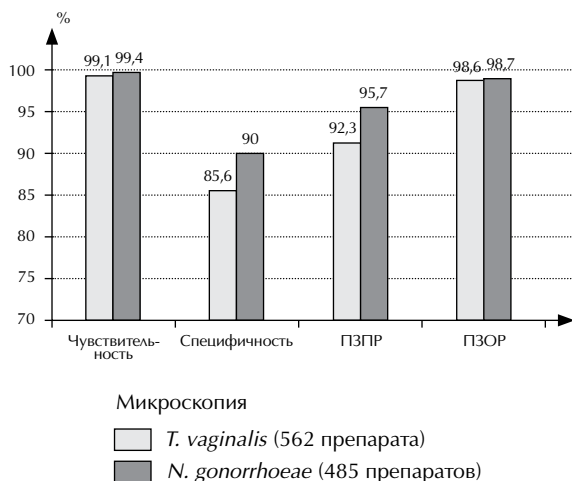
К сожалению, к высланным некоторыми участниками препаратам у экспертов было достаточное количество замечаний по качеству их приготовления. При этом даже в таких препаратах эксперты ФСВОК пытались провести оценку качества выявления возбудителей ИППП, приходя иногда к противоречивым результатам (см. табл. 2). В таких случаях спорные препараты направляли третьему эксперту, а результаты экспертной оценки всех трех экспертов затем направляли участнику. Однако 22 препарата, присланные для экспертной оценки выявления гонококков, и 22 — для выявления трихомонад не отвечали никаким критериям по качеству приготовления. Данные препараты не подлежали экспертной оценке.

Поскольку микроскопическое обнаружение уrogenитальных инфекций является качественным анализом и не характеризуется количественно, основными критериями диагностической достоверности данного исследования являются его чувствительность (степень вероятности выявления данным тестом положительного результата у больного) и специфичность (степень вероятности выявления отрицательного результата у пациента, не имеющего заболевания) [5, 6]. По итогам экспертной оценки 562 препаратов при выявлении трихомонад и 485 — при выявлении гонококков, чувствительность микроскопической диагностики была весьма высокой и превышала 99,1 % (рис. 2). Вместе с тем, специфичность данного теста была существенно ниже при микроскопическом выявлении гонококков (90,0 %) и, в особенности, трихомонад (85,6 %). Сообщается, что чувствительность метода при микроскопической диагностике уrogenитальных инфекций, как правило, не превышает 80 % из-за сравнительно низкой разрешающей способности световой микроскопии [7]. Однако вероятность ложноположительных и ложноотрицательных

Таблица 2

**Результаты экспертной оценки качества выявления трихомонад и гонококков в отделяемом слизистой оболочкой уrogenитального тракта за 2007–2010 гг.**

Экспертная оценка качества выявления	Число участников, выславших препараты	Число проанализированных препаратов	Результаты участников (экспертная оценка), абс. число (%)			Число препаратов без оценки из-за их неудовлетворительного качества	Несовпадение оценок 1-го и 2-го экспертов
			правильные	ложноположительные	ложноотрицательные		
Трихомонад	61	562	527 (93,8)	32 (5,7)	3 (0,5)	22	17
Гонококков	52	485	468 (96,5)	15 (3,1)	2 (0,4)	22	18



**Рис. 2. Критерии достоверности выявления трихомонад и гонококков в отделяемом слизистой оболочки урогенитального тракта по результатам экспертной оценки за 2007–2010 гг.**

результатов микроскопического исследования снижается при неоднократном проведении исследования.

В качестве дополнительных прогностических критериев диагностической надежности исследования часто используют расчетные показатели предсказательной значимости положительных результатов (ПЗПР — степени вероятности наличия заболевания при положительном результате теста) и предсказательной значимости отрицательных результатов (ПЗОР — степени вероятности отсутствия заболевания при отрицательном результате теста) [8]. В случае экспертной оценки, ПЗПР при выявлении гонококков несколько превышала ПЗПР при выявлении трихомонад и составляла 95,7 и 92,3 %, соответственно (см. рис. 2). В то же время, ПЗОР была высокой как при микроскопии трихомонад, так и при микроскопии гонококков, превышая 98,6 %. Как известно, существует проблема одновременного достижения максимально высоких по-

казателей чувствительности и специфичности, равно как и одинаково высоких показателей ПЗПР и ПЗОР для разных методик выявления возбудителей урогенитальных инфекций [9]. Это означает, что лабораторная диагностика большинства ИППП должна основываться на применении комплекса методик, имеющих различные характеристики по критериям диагностической достоверности.

Помимо заключения о правильности выявления самими участниками возбудителей трихомониаза и гонореи в препаратах, эксперты ФСВОК проводили оценку качества окраски препаратов, толщины мазков и качества взятия материала для препаратов, а также давали свои рекомендации по улучшению микроскопической диагностики урогенитальных инфекций. Экспертная оценка качества препаратов, подготовленных лабораториями для микроскопического выявления трихомонад и гонококков, представлена в *табл. 3*. Наиболее частой причиной неправильных результатов было неудовлетворительное качество окраски мазков, которое составляло 13,0 % из препаратов для выявления трихомонад и 43,4 % — гонококков. Это было связано с плохой фиксацией мазка, неравномерностью окраски, наличием толстых участков с непрокрашенными клетками. В некоторых препаратах при выявлении гонококков не были соблюдены критерии окраски по Граму — мазки были недообесцвечены или переобесцвечены, в результате чего становилась невозможной дифференциация грамположительных и грамотрицательных микроорганизмов. Четыре лаборатории выслали препараты для экспертной оценки выявления гонококков, окрашенные метиленовым синим, однако при микроскопической диагностике гонореи данная окраска является лишь ориентировочной и позволяет охарактеризовать диплококки только по морфологическим, но не тинкториальным свойствам. При экспертной оценке были также претензии

*Таблица 3*

**Качество приготовления препаратов для выявления трихомонад и гонококков в отделяемом слизистой оболочки урогенитального тракта за 2007–2010 гг., % от общего числа участников**

Экспертная оценка качества выявления	Качество окраски препаратов		Толщина мазков			Качество взятия материала	
	удовлетворительное	неудовлетворительное	нормальный	толстый	тонкий	удовлетворительное	неудовлетворительное
Трихомонад	87,0	13,0	74,9	19,9	5,2	74,9	25,1
Гонококков	56,6	43,4	73,8	21,1	5,1	78,0	22,0

и к толщине мазков для анализа. Около трех четвертей участников прислали нормальные по толщине мазки (см. табл. 3). Среди неудовлетворительных преобладали толстые мазки с плотно лежащим и плохо просматриваемым материалом — 19,9 % случаев при микроскопии трихомонад и 21,1 % — гонококков. Более чем в 5 % случаев участники присылали тонкие мазки со скудным количеством материала и отсутствием диагностически значимых мест. Качество взятия материала иногда также оставляло желать лучшего: в некоторых препаратах материал был распределен неравномерно, было много разрушенных элементов, лизированных клеток и слизи (25,1 и 22,0 % для трихомонад и гонококков, соответственно). На многих мазках не было указано место взятия материала (цервикальный канал, влагалище или уретра). Одной из рекомендаций экспертов было предложение проводить адекватную наружную обработку перед взятием материала из уретры и цервикального канала для исключения попадания несвойственной микрофлоры и повышения качества диагностики ИППП. Участникам также было предложено высылать препараты с соблюдением критериев окраски диагностического материала и с обязательной маркировкой стекол специальными маркерами.

Экспертная оценка препаратов показала, что световая микроскопия при выявлении гонококков и трихомонад как тест с достаточно высокой чувствительностью была более эффективной для исключения заболевания, поскольку вероятность получения ложноотрицательного результата в таком случае сводилась к минимуму. При экспертной оценке выявления гонококков и трихомонад среди неправильных результатов в большинстве случаев имела место гипердиагностика исследуемого материала. Данное обстоятельство может быть обусловлено недостаточным знанием морфологического строения возбудителей и особенностей их визуальной идентификации в кли-

ническом материале, а также, судя по препаратам, высланным некоторыми участниками для анализа, их некачественным приготовлением. При микроскопической диагностике трихомониаза и гонореи, наряду с качеством используемой в лаборатории оптики, важнейшим является наличие высококвалифицированного медицинского персонала, обеспечивающего взятие материала для анализа и окраску подготовленных препаратов, наличие врачей-лаборантов с высоким уровнем профессиональной подготовки, а также правильная организация внутрилабораторного и внешнего контроля качества микроскопической диагностики урогенитальных инфекций.

## Выводы

Подавляющее большинство лабораторий РФ, участвующих в разделах ФСВОК, посвященных микроскопической диагностике гонореи и трихомониаза, ставили правильный диагноз по исследуемому материалу.

Анализ данных внешнего контроля качества по микрофотографиям показал, что при выявлении трихомонад лабораториями среди неправильных результатов преобладала доля ложноположительных результатов, а при выявлении гонококков — доля ложноотрицательных.

Экспертная оценка качества выявления трихомонад и гонококков в препаратах, изготовленных в лабораториях, выявила преобладание ложноположительных результатов над ложноотрицательными, а также большую чувствительность данных тестов и их несколько меньшую специфичность.

Гипердиагностика при выявлении возбудителей гонореи и трихомониаза в препаратах лабораторий может быть обусловлена их некачественным приготовлением — нарушением критериев окраски, аномальной толщиной мазка и некачественным взятием клинического материала.

## Литература

1. Дмитриев Г. А. Лабораторная диагностика бактериальных урогенитальных инфекций. М., Мед. книга; Н. Новгород: НГМА, 2003.
2. Fenton K. A., Lowndes C. M. Recent trends in the epidemiology of sexually transmitted infections in the European Union // Sex Transm. Infect. 2004. Vol. 80. P. 255–263.
3. Сердюк А. П., Малахов В. Н. Экспертная оценка качества выявления возбудителей гонореи и трихомониаза как альтернативный подход к осуществлению внешнего контроля качества лабораторной диагностики урогенитальных инфекций // В сб.: Матер. III Междисциплинарной науч.-практич. конф. «Урогенитальные инфекции и репродуктивное здоровье:

- клинико-лабораторная диагностика и терапия». М., 2010. С. 69–70.
4. Коликова Т. Г., Мирзоянц Т. А., Пивоварова Н. С. Повышение достоверности микроскопического исследования на влагалищную трихомонаду // В сб.: Матер. III Междисциплинарной науч.-практич. конф. «Урогенитальные инфекции и репродуктивное здоровье: клинико-лабораторная диагностика и терапия». М., 2010. С. 40.
  5. Карманный справочник по диагностическим тестам / Под ред. В. С. Камышникова. М., 2004.
  6. Меир Л., Моррони С., Линк Б. Вклад ошибки измерения в исследованиях инфекций, передаваемых половым путем // ИППП. 2004. № 4. С. 41–43.
  7. Andrews H., Acheson N., Huengsberg M., Radcliffe K. W. The role of microscopy in the diagnosis of sexually transmitted infections in women // Genitourin Med. 1994. Vol. 70. № 2. P. 118–120.
  8. Морс С. А., Бек-Сагю К. М., Мардох П. А. Рекомендации по лабораторной диагностике заболеваний, передающихся половым путем // Под ред К. Холмса. М., 1998. № 4. С. 3–16.
  9. Марданлы С. Г., Куляш Г. Ю. Проблемы достоверности и объективной оценки результатов лабораторной диагностики гонореи, трихомониаза и урогенитального хламидиоза: Учеб.-метод. пособие. Электрогорск, 2007.

**A. P. Serdyuk, V. N. Malakhov**

Center for External Quality Control in Laboratory Medicine, Moscow  
National Research Center for Preventive Medicine, Moscow

**The quality of microscopic diagnostics of *Trichomonas vaginalis* and *Neisseria gonorrhoeae* in laboratories of Russian Federation**

The aim of the study was to estimate quality of microscopic diagnostics of *T. vaginalis* and *N. gonorrhoeae* in laboratories of Russian Federation participating in the Federal external quality assessment system. The analysis of correctness of microscopic revealing of *T. vaginalis* and *N. gonorrhoeae* in the sections devoted to its microscopic diagnostics on microphotos, virtual samples and the samples prepared by the Russian Federation laboratories was carried out. Criteria of reliability were calculated and the possible reasons of errors in microscopic diagnostics were analyzed. The overwhelming majority of laboratories made the correct diagnosis on the analyzed samples. The analysis of the data of external quality assessment of microphotos has shown that among incorrect results the part of false positive results was prevailed in *T. vaginalis* revealing and the part of false negative results was prevailed in the revealing of *N. gonorrhoeae*. The expert quality estimation of *T. vaginalis* and *N. gonorrhoeae* revealing in the preparations made by the participants, has showed the prevalence of false positive results over false negative as for as the big sensitivity of these tests and their a bit smaller specificity. The hyperdiagnostics in most cases was caused by poor quality of the preparations.

**Key words:** *Neisseria gonorrhoeae*, *Trichomonas vaginalis*, quality of microscopic diagnostic, sexually transmitted diseases