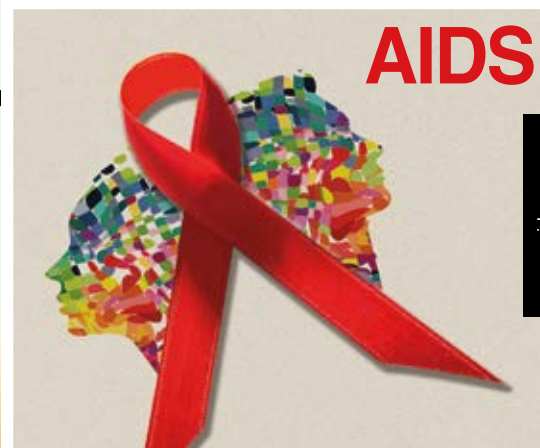


Ελληνικά Αρχεία

# AIDS

Hellenic Archives

**26** Πανελλήνιο Συνέδριο



www.aids.org.gr

**28/11-30/11**  
Divani Caravel Hotel  
Αθήνα 2014

Γραμματεία Συνεδρίου  
Focus on Health Ε.Π.Ε.  
Ιωάννου Γοναθίου 16 - 11521 Αθήνα  
T: 210 7223046 | F: 210 7223220  
| info@focusonhealth.gr



ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΕΤΑΙΡΕΙΑ ΜΕΛΕΤΗΣ ΚΑΙ ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗΣ ΤΟΥ AIDS  
HELLENIC SOCIETY FOR THE STUDY AND CONTROL OF AIDS

Θα πραγματοποιηθούν μέρη Συνεργιστικής Ιατρικής Εκπαίδευσης σύμφωνα με τα κριτήρια της ΕΚΚΜΕ-UEMS

**Πρακτικά Συνεδρίου**



ΕΚΔΟΣΗ ΤΗΣ ΕΛΛΗΝΙΚΗΣ ΕΤΑΙΡΕΙΑΣ ΜΕΛΕΤΗΣ ΚΑΙ ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗΣ ΤΟΥ AIDS  
EDITION OF THE HELLENIC ASSOCIATION FOR THE STUDY AND CONTROL OF AIDS

<http://www.aids.org.gr>  
e-mail: [eemaa@aids.org.gr](mailto:eemaa@aids.org.gr)  
ISSN 1105-8900

Στο άμεσο μέλλον περιμένουμε και σχήμα ενός δισκίου καθώς και συνδυασμό με το Cobicistat ως αναστολέα του P450 αντί της ριτοναβίρης.

## Στρογγυλό Τραπέζι

### Εργαστηριακή διάγνωση και παρακολούθηση

#### Διαπίστευση, πιστοποίηση, έλεγχος ποιότητας των κλινικών εργαστηρίων

*Χ. Κρούπης*

MSc, PhD, EurClinChem,  
Επίκουρος Καθηγητής  
Κλινικής Βιοχημείας-Μοριακής  
Διαγνωστικής, Γ.Π.Ν. «Αττικών»,  
Ιατρική Σχολή Πανεπιστημίου  
Αθηνών

Το ακρωνύμιο της παγκόσμιας οργάνωσης-δικτύου για την προτυποποίηση (International Organization for Standardization) είναι για όλες τις γλώσσες το ίδιο και είναι το **ISO**, το οποίο προήλθε από την ελληνική λέξη «ίσος». Είναι δε ενδεικτικό του στόχου αυτού του παγκόσμιου φορέα, ο οποίος ιδρύθηκε το 1946 και έχει ως μέλη εθνικούς οργανισμούς τυποποίησης: να εκδίδει -μέσω τεχνικών επιτροπών- πρότυπα για την εναρμόνιση των προϊόντων και υπηρεσιών σε διάφορους τομείς της οικονομίας σε όλα τα κράτη-μέλη. Την Ελλάδα αντιπροσωπεύει σε αυτόν τον οργανισμό ο Ελληνικός Οργανισμός Τυποποίησης (ΕΛ.Ο.Τ.).

Η εφαρμογή προτύπων και στα κλινικά εργαστήρια προέκυψε από την ανάγκη για τεκμηρίωση και αμοιβαία αναγνώριση των εργαστηριακών αποτελεσμάτων που διακινούνται και παρέχονται παγκοσμίως. Αυτό οδηγεί σε μια ελεύθερη διακίνηση των υπηρεσιών των κλινικών εργαστηρίων διεθνώς, ισοδυναμία ελέγχων σε όλα τα κράτη-μέλη, εναρμόνιση μέσω ομοιόμορφης εφαρμογής οδηγιών, αποδοχή της αξιοπιστίας αποτελεσμάτων και δημόσιων πιστοποιητικών από όλα τα κράτη και υγιή ανταγωνισμό, ο οποίος αποβαίνει τελικά προς όφελος του «πελάτη-ασθενή».<sup>1</sup>

Στη σύγχρονη ιατρική πρακτική, ο ρόλος του κλινικού εργαστηρίου γίνεται ολοένα και πιο σημαντικός για τη διάγνωση, πρόγνωση, παρακολούθηση και θεραπευτική αγωγή των ασθενών. Η απαίτηση, συνεπώς, για εργαστηριακά αποτελέσματα ακριβή και αξιόπιστα είναι προφανής και αναγκαία.<sup>2</sup>

Ένα κλινικό εργαστήριο πέραν της φήμης του, που ασφαλώς δεν αποτελεί μετρήσιμη και αντικειμενική ιδιότητα, μπορεί να επιδείξει κάποια από τα ακόλουθα επίσημα έγγραφα σε ιατρούς ή ασθενείς, τα οποία θα αποδεικνύουν την αξία του:

**Αδειοδότηση (Licensing):** επίσημη άδεια λειτουργίας από το κράτος σε ένα εργαστήριο ότι με βάση τη νομοθεσία μπορεί να διεξάγει εργαστηριακές μετρήσεις.

**Πιστοποίηση (certification):** γραπτή βεβαίωση από διαπιστευμένο φορέα πιστοποίησης ότι το εργαστήριο «συμμορφώνεται» σε ένα Πρότυπο ή σε μια Οδηγία με την εφαρμογή συστήματος διαχείρισης ποιότητας.

**Διαπίστευση (accreditation):** επίσημη αναγνώριση από τον αρμόδιο Εθνικό φορέα ότι ένα εργαστήριο είναι «τεχνικά επαρκές» να διεξάγει συγκεκριμένες δοκιμασίες.

Μερικά από τα ανωτέρω έγγραφα είναι υποχρεωτικά ανάλογα με τη νομοθεσία κάθε κράτους, ενώ άλλα αναμένεται να γίνουν με την πάροδο του χρόνου, π.χ. στην Ευρώπη είναι υποχρεωτική η διαπίστευση στη Γαλλία και στη Ρουμανία σε όλα τα κλινικά εργαστήρια, στο Βέλγιο και στη Γερμανία μόνο σε εκείνα που παρέχουν γενετικά αποτελέσματα ή/και νεογνικό έλεγχο. Σε άλλα κράτη η κάλυψη ή η αποζημίωση από δημόσιους ή ιδιωτικούς ασφαλιστικούς οργανισμούς για εκτέλεση παραπεμπτικών με εργαστηριακές εξετάσεις γίνεται μόνο όταν αυτές διενεργούνται από διαπιστευμένα εργαστήρια.

Φορείς πιστοποίησης μπορεί να υπάρχουν πολλοί, ωστόσο μόνο ένας αρμόδιος φορέας διαπίστευσης λειτουργεί ανά χώρα. Στην Ελλάδα είναι το Ε.ΣΥ.Δ (Εθνικό Σύστημα Διαπίστευσης) το οποίο έχει ενταχθεί μαζί με τον ΕΛ.Ο.Τ. και το Ε.Ι.Μ. (Ελληνικό Ινστιτούτο Μετρολογίας) στο Εθνικό Σύστημα Υποδομών

Ποιότητας (Ε.Σ.Υ.Π.). Το Ε.Σ.Υ.Δ συμμετέχει σε συμφωνίες αμοιβαίας αναγνώρισης με πολλούς αντίστοιχους εθνικούς φορείς άλλων χωρών, αλλά και με ανώτερους διακρατικούς οργανισμούς, όπως η EA (European co-operation for Accreditation) και η ILAC (International Laboratory Accreditation Cooperation). Οι φορείς πιστοποίησης διαπιστεύονται για πιστοποίηση σε διάφορους τομείς από τον φορέα διαπίστευσης.

Το κατάλληλο πρότυπο για τα κλινικά εργαστήρια είναι το **ISO 15189**, το οποίο αρχικά συντάχθηκε το 2003 από την τεχνική επιτροπή TC 212 για να αναθεωρηθεί στη συνέχεια το 2007 και προσφάτως το 2012.<sup>3,4</sup> Το πρότυπο έχει και διοικητικές και διαχειριστικές απαιτήσεις οι οποίες είναι παρόμοιες με αυτές του προτύπου πιστοποίησης ISO 9001:2000 και από το Σεπτέμβριο του 2009 υπάρχει διεθνή συμφωνία με βάση την οποία θεωρείται ότι τα διαπιστευμένα εργαστήρια πληρούν ταυτόχρονα τις απαιτήσεις πιστοποίησης.

Τα οφέλη της διαπίστευσης ενός κλινικού εργαστηρίου κατά ISO 15189 είναι πολλά για το εργαστήριο, τους ασθενείς και το κράτος:

#### **Για το εργαστήριο:**

- Απόδειξη ότι εφαρμόζει σύστημα ποιότητας, είναι τεχνικά επαρκές και παράγει αξιόπιστα αποτελέσματα σύμφωνα με διεθνή πρότυπα
- Ενισχύεται η αναγνώριση και το κύρος του (marketing)
- Μακροπρόθεσμα περιορίζει το «κόστος ποιότητας»

#### **Για τους ασθενείς:**

- Διασφάλιση αξιοπιστίας αποτελεσμάτων
- Μικρότερη ανάγκη για επανέλεγχο

#### **Για τους κρατικούς φορείς:**

- Αυξημένη εμπιστοσύνη για λήψη αποφάσεων με βάση τεκμηριωμένα δεδομένα
- Μείωση «αβεβαιότητας»
- Αύξηση αποτελεσματικότητας ελέγχων.

Είναι φανερό ότι οι απαιτήσεις του προτύπου ISO 15189 μπορούν να καλυφθούν μόνο από εργαστήρια στα οποία εφαρμόζονται αρχές φιλοσοφίας διαχείρισης και διοίκησης ολικής ποιότητας (Total Quality Management, TQM) όπως αυτές θεμελιώθηκαν το 1950 από τον στατιστικολόγο W.E. Deming και από τον μηχανικό J.M. Juran και περιλαμβάνουν τα 5Q:

1. Σχεδιασμό ποιότητας (Quality planning, QP),
2. Εργαστηριακές διαδικασίες ποιότητας (Quality laboratory process, QLP),
3. Έλεγχο ποιότητας (Quality control, QC),
4. Αποτίμηση ποιότητας (Quality assessment, QA) και
5. Βελτίωση ποιότητας (Quality improvement, QI).

Με την αποτίμηση ποιότητας, ξαναρχίζει ο εσωτερικός αέναος κύκλος PDCA του Deming (Plan, Do, Check, Act) με τελικό στόχο τη βελτίωση ποιότητας.<sup>2,5,6</sup> Η κάλυψη των απαιτήσεων του προτύπου επιφέρει αρχικά οικονομικό «κόστος ποιότητας» στο εργαστήριο, ωστόσο εκτιμάται ότι μέσω των μειωμένων επαναλήψεων των εργαστηριακών εξετάσεων, των μειωμένων άστοχων ενεργειών του εργαστηρίου, αλλά και της αυξημένης ικανοποίησης των ιατρών και των ασθενών, η οποία δημιουργεί αυξημένο κύρος στο εργαστήριο, μακροπρόθεσμα δημιουργούνται οικονομικά οφέλη. Οι περισσότερες από τις **διοικητικές απαιτήσεις** που εξετάζει το πρότυπο **ISO 15189:2012** αναφέρονται στη συνέχεια επιγραμματικά:<sup>1,4</sup>

- Οργάνωση - ορισμός υπευθύνου ποιότητας
- Σύστημα ποιότητας και εγχειρίδιο ποιότητας
- Συμβάσεις, υπηρεσίες και προμήθειες
- Τήρηση και έλεγχος αρχείων
- Αρχείο παραπόνων
- Καταγραφή και έλεγχος μη συμμορφώσεων (non conformities)
- Διορθωτικές και προληπτικές ενέργειες

- Διεξαγωγή εσωτερικών επιθεωρήσεων (internal audits)
- Θέσπιση δεικτών ποιότητας (quality indicators)
- Ανασκόπηση από τη διοίκηση (management review). Η λειτουργία ενός συστήματος ποιότητας ασφαλώς απαιτεί γραφειοκρατική εργασία κατά την εγκατάστασή του, αλλά και τη διατήρησή του, ωστόσο τα **πέντε σημεία** στα οποία πρέπει να επικεντρωθούν οι εργαστηριακοί επιστήμονες και είναι και τα πιο δύσκολα αλλά και τα πιο σημαντικά για την αναγνώριση της «**τεχνικής επάρκειας**» ενός κλινικού εργαστηρίου κατά ISO15189 είναι τα ακόλουθα:<sup>7-9</sup>

**A. Υποδομή εργαστηρίου:** Το **προσωπικό** πρέπει να είναι επαρκές σε αριθμό και γνώσεις και να ακολουθεί πρόγραμμα συνεχιζόμενης εκπαίδευσης. Οι **εγκαταστάσεις** πρέπει να είναι άριστες ως προς την άνεση και την ασφάλεια χώρου και φιλικές ως προς το περιβάλλον (κατάλληλη διαχείριση βιολογικών αποβλήτων). Πρέπει να λαμβάνεται μέριμνα για την ασφάλεια του προσωπικού από δυνητικά επικίνδυνα δείγματα και αντιδραστήρια. Για HIV μοριακές δοκιμασίες πρέπει να λαμβάνεται μέριμνα τουλάχιστον για τον διαχωρισμό των pre-PCR διαδικασιών από τις post-PCR διαδικασίες και επίσης πρέπει ο κάθε χώρος να έχει τον δικό του εξοπλισμό (π.χ. πιπέττες, vortex) ώστε να μην γίνονται μετακινήσεις μικροεξοπλισμού. Ο κρίσιμος μετρητικός εξοπλισμός για τη λειτουργία ενός εργαστηρίου πρέπει να **διακριβώνεται** για την ορθή λειτουργία του. Ψυγεία, καταψύκτες, φυγόκεντροι, vortex, ζυγοί και πεχαμετρικές συσκευές πρέπει να καθαρίζονται και να συντηρούνται.

**B. Επιλογή των κατάλληλων εργαστηριακών μεθόδων** για τις υπό διαπίστευση παραμέτρους (**scope of accreditation**) με βάση τη βιβλιογραφία και συγκεκριμένους στόχους (π.χ. ελάττωση του εργαστηριακού σφάλματος, κλινική χρησιμότητα) και **τα πρακτικά χαρακτηριστικά** της εφαρμογής της (**application characteristics**): είδος και ποσότητα δείγματος, ταχύτητα προσδιορισμού και χρόνος απόκρισης του εργαστηρίου, είδος δοκιμασίας (π.χ. Screening test), απαιτούμενοι χειρισμοί του δείγματος, απαιτούμενες γνώσεις από το προσωπικό, κόστος, συχνότητα βαθμονόμησης εξοπλισμού και μεθόδου, διαθεσιμότητα υλικών ελέγχου ποιότητας (QC controls), δυνατότητα αποθήκευσης του δείγματος κ.λπ.<sup>8-10</sup>

Οι κλινικές δοκιμές που εκτελούνται στα HIV εργαστήρια είναι συνήθως ορολογικές (ανίχνευση αντιγόνου ή αντισώματος), Western blot επιβεβαιωτική μέθοδος, μοριακή ανίχνευση και φυλογενετική ανάλυση για ανίχνευση μεταλλάξεων, κυτταρομετρία ροής (CD4+ κύτταρα κ.λπ.).

Οι μέθοδοι πρέπει να περιγράφονται επαρκώς στο **Εγχειρίδιο των μεθόδων** και να ακολουθεί σύνταξη τυποποιημένων οδηγιών (**SOPs, Standard Operating Procedures**) για την κατάλληλη εφαρμογή τους από το προσωπικό του εργαστηρίου. Η **πιστή εκτέλεση** των ανωτέρω μεθόδων αλλά και των κανόνων της ορθής εργαστηριακής πρακτικής (**GLP, Good Laboratory Practice**) πρέπει να είναι αντικείμενο συχνών **εσωτερικών επιθεωρήσεων (internal audits)**.

Πρέπει να γίνεται προσπάθεια μείωσης της **προ-αναλυτικής διακύμανσης** με κατάλληλες οδηγίες προς το προσωπικό, τους «χρήστες» (ιατρούς) και τους «πελάτες» (ασθενείς) ως προς τη σωστή προετοιμασία του ασθενούς για τη δειγματοληψία στο σωστό χρονικό σημείο αναφορικά με την πορεία της νόσου (specimen timing), τη σωστή επιλογή αντιπηκτικού για το σωληνάριο δειγματοληψίας, τη σωστή ταυτοποίηση του δείγματος, ο σωστός χειρισμός και την ταχεία μεταφορά του δείγματος, τη θερμοκρασία μεταφοράς και αποθήκευσής του έως την ώρα του προσδιορισμού, τη σωστή φυγοκέντρωση κ.λπ.<sup>11</sup> [11]. Επί αρχικού υλικού RNA, απαιτείται είτε άμεση και γρήγορη απομόνωση και αποθήκευσή του στους -80°C είτε προσθήκη κατάλληλων σταθεροποιητών (π.χ. RNAlater).<sup>12,13</sup> Επίσης, ο τρόπος λύσης των ερυθρών αιμοσφαιρίων ή ο τρόπος μονιμοποίησης (π.χ. στα δείγματα από ιστούς έγκλειστους σε παραφίνη) είναι παράμετροι στην **κατεργασία** για την απομόνωση DNA/RNA που μπορεί να οδηγήσει σε μεταβλητότητα του δείγματος προς μοριακή ανάλυση (αναστολή της αντίδρασης PCR).

Επίσης πρέπει να ελέγχονται και οι **μετα-αναλυτικές διαδικασίες**: αφορούν τη σωστή μεταφορά των αποτελεσμάτων (π.χ. ιδανικά μέσω Laboratory Information System), την τήρηση των χρονικών διαστημάτων για τη φύλαξη των πρωτογενών δειγμάτων, των απομονωθέντων DNA/RNA και των ληφθέντων δεδομένων και τέλος, τον σωστό τρόπο παρουσίασης στην έκθεση των αποτελεσμάτων (report).<sup>14</sup> Το πρότυπο περιλαμβάνει επίσης μέριμνα για την ασφάλεια του εργαστηριακού υπολογιστικού συστήματος (Laboratory Information System, LIS) καθώς και τον κώδικα Δεοντολογίας στην εργαστηριακή

ιατρική (συλλογή πληροφοριών και δειγμάτων, ιατρικό απόρρητο, πρόσβαση και διατήρηση αρχείων με εργαστηριακά αποτελέσματα, οικονομικές συναλλαγές εργαστηρίου).

**Γ. Επικύρωση ή επαλήθευση μεθόδων** αναλόγως του εάν είναι εσωτερική (in house) μέθοδος ή προτυποποιημένη μέθοδος κατασκευαστή (kit, κατά προτίμηση CE-IVD) ως προς τα:

**1) Αναλυτικά χαρακτηριστικά (analytical characteristics):**

**i. μεθοδολογικά χαρακτηριστικά (methodology characteristics)** όπως: αναλυτική ευαισθησία και αναλυτική ειδικότητα (analytical sensitivity and specificity)

**ii. χαρακτηριστικά επίδοσης (performance characteristics)** της μεθόδου όπως: πιστότητα (precision), ορθότητα (trueness, bias), ακρίβεια (accuracy), όριο ανίχνευσης και ποσοτικοποίησης (limit of detection and quantification), γραμμικότητα (linearity) και αναλυτικό εύρος μέτρησης (range), ανάκτηση (recovery), παρεμβολή (interference), υπολογισμός αβεβαιότητας (uncertainty), ανθεκτικότητα (robustness) και αντοχή (ruggedness) της μεθόδου, όρια αναφοράς του πληθυσμού (reference values).<sup>15-17</sup>

**2) Κλινικά χαρακτηριστικά:** η μέθοδος προς διαπίστευση πρέπει να δίνει ικανοποιητικά αποτελέσματα ως προς την κλινική αξιολόγηση (**clinical validation**) σε σχέση με το νόσημα (διαγνωστική κλινική ευαισθησία και ειδικότητα, αρνητική και θετική προβλεπτική αξία). Επίσης, να έχει κλινική αξία (**clinical utility**), δηλαδή να είναι χρήσιμη στη διάγνωση και θεραπεία του ασθενούς και όχι να έχει απλά ερευνητική χρήση.<sup>18</sup>

Επίσης πρέπει να αποδεικνύεται όπου είναι δυνατόν η **ιχνηλασιμότητα** (traceability) των μετρήσεων με σύγκριση με μεθόδους αναφοράς και χρήση **πιστοποιημένων υλικών αναφοράς (CRM, certified reference materials)**.<sup>19</sup>

Τα ανωτέρω χαρακτηριστικά αξιολογούνται με βάση βιβλιογραφικά δεδομένα, οδηγίες που έχουν εκδοθεί από τις διάφορες επιστημονικές ενώσεις ή ομάδες εργασίας πάνω σε ένα κλινικό πρόβλημα ή τη διαπίστευση ή από δεδομένα που παρέχουν οι κατασκευαστές διαγνωστικών αντιδραστηρίων ή κιτς.<sup>20-22</sup>

Το εργαστήριο καλείται απλά να **επαληθεύσει (verification)** τις μεθόδους που επιλέγει όταν αυτές είναι **πρότυπες μέθοδοι αναφοράς ή αποδεκτές προτυποποιημένες** (π.χ. εγκεκριμένες από το FDA με IVD/CE αντιδραστήρια ή κιτς), δηλαδή καλείται να αποδείξει ότι στα «δικά του χέρια», στις δικές του εργασιακές συνθήκες, με το δικό του προσωπικό και εξοπλισμό, μπορεί να επιτύχει τα ίδια ή καλύτερα αποτελέσματα στα χαρακτηριστικά επίδοσης από αυτά που αναφέρει ο κατασκευαστής.

Εάν επιλέξει να αναπτύξει δική του εσωτερική **in-house μέθοδο** με αντιδραστήρια που προς το παρόν είναι για ερευνητική χρήση (π.χ. RUO), πρέπει να διεξάγει πειράματα βελτιστοποίησης (**optimization**) και να τα καταγράψει κατάλληλα (**documentation**) και στη συνέχεια:

1. να **επικυρώσει (analytical validation)** τη μέθοδο, διαδικασία που απαιτεί και την τεκμηρίωση των μεθοδολογικών χαρακτηριστικών πέραν των χαρακτηριστικών επίδοσης,
2. να αποδείξει ότι η μέθοδος δίνει ικανοποιητικά αποτελέσματα ως προς την **κλινική αξιολόγηση και αξία** και συνεπώς είναι κατάλληλη για τη χρήση της (**fit for purpose**),
3. να τη **συγκρίνει** με μια πρότυπη μέθοδο αναφοράς (reference method) και
4. εάν παρέχει **όρια αναφοράς** στην έκθεση αποτελεσμάτων, τότε να πραγματοποιήσει μελέτη σε ένα μεγάλο αριθμό τεκμηριωμένα φυσιολογικών ατόμων, ισορροπημένο όσον αναφορά την ηλικία και το φύλο.

Η σύγκριση (**method comparison**) πρέπει να γίνει με ικανοποιητικό αριθμό δειγμάτων, (συνήθως 40), τα οποία πρέπει να καλύπτουν όλο το αναλυτικό εύρος μέτρησης και να μετρηθούν και με τις δύο μεθόδους εις διπλούν και σε βάθος χρόνου. Όταν εκτελείται η μία μέθοδος με ένα δείγμα, τότε πρέπει σε σύντομο χρονικό διάστημα ή παράλληλα να εκτελείται και η δεύτερη μέθοδος. Ακολουθεί στατιστική επεξεργασία των δεδομένων.<sup>8</sup> Εάν τα αποτελέσματα είναι ποιοτικά, πάλι επιλέγονται 40 δείγματα που να είναι ανήκουν και στις τρεις κατηγορίες (αρνητικά, ασθενώς θετικά, θετικά) και εξετάζεται η συμφωνία των μεθόδων (**concordance**) με υπολογισμό του ποσοστού συμφωνίας, αλλά και με στατιστικό τρόπο (McNemar's test). Ενίοτε ένα εργαστήριο απλά τροποποιεί ελαφριά μια πρότυπη

μέθοδο (**assay modification**): σε αυτή την περίπτωση, πάλι απαιτείται σύγκριση των μεθόδων πέραν της επαλήθευσης.

**Δ. Εσωτερικός έλεγχος ποιότητας** εργαστηριακών δοκιμασιών με την ενδεδειγμένη συχνότητα και τη χρήση κατάλληλων δειγμάτων ελέγχου (internal QC controls). Υλικά ελέγχου διατίθενται πλέον από αρκετούς οργανισμούς ή εταιρείες όπως τις JRC-IRMM, WHO, CDC, ATCC/Coriell, NIBSC, NGRL, LGC, Acrometrix, Advanced Biotechnologies, MMQCI κ.λπ. Η επίδοση στον εσωτερικό έλεγχο ποιότητας αξιολογείται με βάση τους κανόνες Westgard σε διαγράμματα Levey-Jennings.<sup>6</sup>

**Ε. Εξωτερικός έλεγχος ποιότητας** με τουλάχιστον ετήσια επιτυχημένη συμμετοχή του εργαστηρίου σε **διεργαστηριακά σχήματα (EQA, external quality assessment ή PT, proficiency testing)**. Ήδη υπάρχει ένας ικανοποιητικός αριθμός διεργαστηριακών σχημάτων για έλεγχο αντισωμάτων, ιικό φορτίο HIV, έλεγχος αντίστασης στην HIV αντιρετροϊκή αγωγή, CD4+ κύτταρα κ.λπ. Αυτά προσφέρονται από οργανισμούς όπως UK-NEQAS, EMQN, CAP, QCMD, UNIQ, INSTAND, EHEQAS κ.λπ. οι περισσότεροι από τους οποίους έχουν προχωρήσει και σε διαπίστευση των διεργαστηριακών σχημάτων που προσφέρουν κατά το πρότυπο ISO 17043. Η επίδοση στον εσωτερικό έλεγχο ποιότητας σε ποσοτικές παραμέτρους αξιολογείται με βάση τον δείκτη **SDI (Standard Deviation Index)** δηλαδή πόσες φορές σε μονάδες τυπικής απόκλισης διαφέρει η μέτρησή που έδωσε από την τιμή στόχο: <2 είναι ικανοποιητικά, 2-3 οριακά, >3 μη ικανοποιητικά.

Η μη επιτυχής επίδοση του εργαστηρίου σε οποιονδήποτε από τους ανωτέρω πέντε τομείς οι οποίοι αποτελούν τους «**πυλώνες της ποιότητας**» αποτελεί σοβαρή **μη συμμόρφωση (non conformity)** και μπορεί να αποτελέσει αιτία για τη μη απονομή ή απώλεια της διαπίστευσης του, είτε κατά την αρχική αξιολόγηση είτε και κατά την ετήσια επιτήρηση ή την επαναξιολόγηση ανά τετραετία, αντίστοιχα.

## Βιβλιογραφία

- Μπακέας ΕΒ. Διαπίστευση Εργαστηρίων Δοκιμών. 1ο Σεμινάριο Συνεχιζόμενης Εκπαίδευσης, Πιστοποίηση-Διαπίστευση Κλινικών Εργαστηρίων. Ελληνική Εταιρεία Κλινικής Χημείας-Κλινικής Βιοχημείας, 2006:7-11.
- Βογιατζάκης ΕΔ. Αξιολόγηση της ποιότητας των εργαστηριακών εξετάσεων. Αρχεία Ελληνικής Ιατρικής 2007;24:58-78.
- Huisman W. European medical laboratory accreditation. Present situation and steps to harmonisation. Clin Chem Lab Med 2012;50:1147-52.
- International Standards Organisation. ISO 15189: Medical Laboratories-particular requirements for quality and competence. 2012.
- Μητρόπουλος Σ. Στόχοι ποιότητας στην Κλινική Χημεία. 1ο Εκπαιδευτικό Σεμινάριο, Αναλυτική Αξιολόγηση Εργαστηριακών Μετρήσεων. Ελληνική Εταιρεία Κλινικής Χημείας-Κλινικής Βιοχημείας, 2003:99-111.
- Westgard JO, Klee GG. Quality Management. In: Burtis CA, Ashwood ER, Bruns DE, editors. Tietz textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics.: Elsevier, 2005:485-529.
- Σταθάκη-Φερδερίγου Α, Πουλάκη Ε, Πρίγκος Ν, Λυκόκα ΕΧ, Πιπεράκη Κ. Οδηγίες διασφάλισης ποιότητας κλινικών εργαστηρίων. 1ο Σεμινάριο Συνεχιζόμενης Εκπαίδευσης, Πιστοποίηση-Διαπίστευση Κλινικών Εργαστηρίων. Ελληνική Εταιρεία Κλινικής Χημείας-Κλινικής Βιοχημείας, 2006:53-6.
- Κρούπης Χ. Διαπίστευση κλινικών εργαστηρίων κατά ISO 15189: εφαρμογή στις δοκιμές κυτταρομετρίας ροής. 5ο Πανελλήνιο Συνέδριο Κυτταρομετρίας, Ελληνική Εταιρεία Κυτταρομετρίας, 2008:19-30.
- Κρούπης Χ. Διαπίστευση εργαστηρίων Μοριακής Διαγνωστικής κατά ISO 15189. 8ο Πανελλήνιο Συνέδριο Κλινικής Χημείας, Ελληνική Εταιρεία Κλινικής Χημείας-Κλινικής Βιοχημείας, 2009:17-24.
- Παναγιωτάκης Ο. Αναλυτικά σφάλματα και υπολογισμός τους. 1ο Εκπαιδευτικό Σεμινάριο, Αναλυτική Αξιολόγηση Εργαστηριακών Μετρήσεων. Ελληνική Εταιρεία Κλινικής Χημείας-Κλινικής Βιοχημείας, 2003:52-85.
- Davis BH, Dasgupta A, Kussick S, Han JY, Estrellado A. Validation of cell-based fluorescence assays: practice guidelines from the ICSH and ICCS-Part II-Preanalytical issues. Cytometry B Clin Cytom 2013;84:286-90.
- Neumaier M, Braun A, Wagener C. Fundamentals of quality assessment of molecular amplification methods in clinical diagnostics. International Federation of Clinical Chemistry Scientific Division Committee on Molecular Biology Techniques. Clin Chem 1998;44:12-26.
- Κρούπης Χ. Μοριακή διάγνωση ιών (και λοιπών παθογόνων μικροοργανισμών). 18ο Εκπαιδευτικό Σεμινάριο, Εφαρμογές Μοριακής Βιολογίας στη Διαγνωστική. Ελληνική Εταιρεία Κλινικής Χημείας-Κλινικής Βιοχημείας, 2005:127-41.
- Barnett D, Louzao R, Gambell P, De J, Oldaker T, Hanson CA. Validation of cell-based fluorescence assays: practice guidelines from the ICSH and ICCS-Part IV-Postanalytical considerations. Cytometry B Clin Cytom 2013;84:309-14.

15. Κουππάρης Μ. Σημειώσεις Χημειομετρίας, Πανεπιστήμιο Αθηνών, 2008.
16. National Pathology Accreditation Advisory Council. Requirements for the validation of in-house in vitro diagnostic devices (IVDs). Australia 2003.
17. Tanqri S, Vall H, Kaplan D, Hoffman B, Purvis N, Porwit A, et al. Validation of cell-based fluorescence assays: practice guidelines from the ICSH and ICCS-Part III-Analytical Issues. *Cytometry B Clin Cytom* 2013;84:291-308.
18. OECD. Guidelines for quality assurance in molecular genetic testing. 2007.
19. Panteghini M. Traceability as a unique tool to improve standardization in laboratory medicine. *Clin Biochem* 2009;42:236-40.
20. Kessler HH, Raggam RB. Quality assurance and quality control in the routine molecular diagnostic laboratory for infectious diseases. *Clin Chem Lab Med* 2012;50:1153-9.
21. Wood B, Jevremovic D, Bene MC, Yan M, Jacobs P, Litvin V. Validation of cell-based fluorescence assays: practice guidelines from the ICSH and ICCS-Part V-Assay Performance Criteria. *Cytometry B Clin Cytom* 2013;84:315-23.
22. Sack U, Barnett D, Demirel GY, Fossat C, Fricke S, Kafassi N, et al. Accreditation of flow cytometry in Europe. *Cytometry B Clin Cytom* 2013;84:135-42.

## Εργαστηριακή ανίχνευση του HIV

Π. Σπυροπούλου

Βιολόγος, MSc, PhD,  
N.Y. Αιμοδοσίας,  
Γ.Ν. Πειραιά «Τζάνειον»

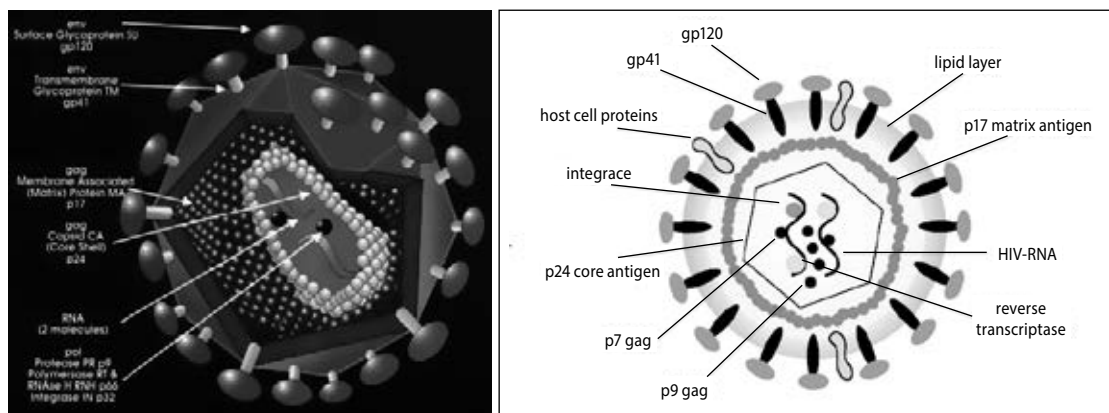
### 1. Εισαγωγή

Εκτιμάται πως 1,2 εκατομμύρια άνθρωποι έχουν μολυνθεί από τον ιό της ανοσοανεπάρκειας στις ΗΠΑ, εκ των οποίων το 20% δεν το γνωρίζει. Κάθε χρόνο συμβαίνουν περισσότερες από 50.000 νέες λοιμώξεις στις ΗΠΑ, ενώ 30%-50% από αυτές εκτιμάται πως έχουν προκληθεί από άτομα που βρίσκονται στην οξεία φάση της νόσου.<sup>1</sup>

Σημαντικές βελτιώσεις έγιναν τα τελευταία χρόνια στις μεθόδους ανίχνευσης της HIV λοίμωξης, οι οποίες μπορούν να συμβάλουν στην ελάττωση του αριθμού των νέων λοιμώξεων. Οι σύγχρονες εργαστηριακές δοκιμασίες ανίχνευσης του HIV, εντοπίζουν τα άτομα με την πρόσφατη λοίμωξη, τα οποία είναι πολύ μολυσματικά σε αυτό το στάδιο της νόσου, έχουν υψηλή ευαισθησία και ειδικότητα, δίνουν αποτελέσματα σε μικρό χρονικό διάστημα και με χαμηλό κόστος.

Η γνώση για τις διαθέσιμες εργαστηριακές μεθόδους ανίχνευσης του HIV, αποτελεί σημαντικό όπλο στον αγώνα ενάντια στη διάδοση του ιού.

### 2. Ο ιός HIV-1



**Εικόνα 1.** Η δομή του ιού HIV-1 (αριστερά) Πηγή: <http://biology.kenyon.edu/slonc/gene-web/Lentiviral/Lentivi2.html><sup>2</sup> (δεξιά) Πηγή: <http://hivbook.com/tag/viral-genome/>.<sup>3</sup>

Φυλογενετικές αναλύσεις κατατάσσουν τον ιό HIV-1 στις ομάδες M (Majority), N (μη-M, μη-O) και O (Outlier).<sup>4,5</sup> Η ομάδα M είναι υπεύθυνη για την παγκόσμια επιδημία. Αντίθετα, οι ομάδες N και O είναι σχετικά σπάνιες και ενδημούν στη δυτική και κεντρική Αφρική. Ωστόσο, μολύνσεις από την ομάδα O