

Miłosz Parczewski<sup>1</sup>, Kazimierz Madaliński<sup>2</sup>, Magdalena Leszczyszyn-Pynka<sup>1</sup>, Anna Boroń-Kaczmaraska<sup>1</sup>

## OCENA JAKOŚCI PROCEDUR DIAGNOSTYCZNYCH ZWIĄZANYCH Z ZAKAŻENIEM HIV W POLSCE

### EVALUATION OF QUALITY OF HIV DIAGNOSTIC PROCEDURES IN POLAND

<sup>1</sup> Katedra i Klinika Chorób Zakaźnych i Hepatologii Pomorskiej Akademii Medycznej, Szczecin;

<sup>2</sup> Pracownia Immunopatologii Zakażeń Hepatotropowych, Zakład Wirusologii

Narodowego Instytutu Zdrowia Publicznego - Państwowego Zakładu Higieny w Warszawie

#### STRESZCZENIE

Celem niniejszej pracy była ocena jakości procedur diagnostycznych związanych z zakażeniem HIV w Polsce z próbą określenia zasobów materiałowych i ludzkich, oraz stosowanej praktyki diagnostycznej. Do ośrodków prowadzących badania diagnostyczne zakażeń HIV rozesłano 60 ankiet w celu uzyskania danych jakościowych z następnym badaniem jakości przeprowadzonych badań serologicznych w kierunku zakażenia HIV-1/2 za pomocą zakodowanych zestawów kontrolnych. Otrzymano 31 wypełnionych ankiet (50,8%). Ankietowane laboratoria wykonują rocznie od 350 do 5500 testów przesiewowych w kierunku zakażenia HIV. W większości dostępne są testy 4 generacji (70,5%), a Centra Krwiodawstwa i Krwiolecznictwa wykonują obok badań serologicznych, jakościowe oznaczanie HIV-RNA, odznaczające się dużą czułością. Certyfikacja: laboratoria WSSE oraz akademickie posiadają akredytację ISO/IEC 17025 lub ISO 9001:2001. Pięć ośrodków posiada certyfikat *Labquality*, a dwa certyfikację QCMD (*Quality Control in Molecular Diagnostics*). Kontrola jakości: Wyniki oznaczeń zestawu kontrolnego otrzymano z 21 ośrodków. Laboratoria wykonały ogółem 194 oznaczenia; uzyskano 91 wyników prawdziwie ujemnych, 2 wyniki fałszywie ujemne (2%); odpowiada to 98% swoistości. Otrzymano 96 wyników prawdziwie dodatnich i 5 fałszywie dodatnich (5,2%); odpowiada to ~95% czułości.

Wnioski: W Polsce brak jest jednoznacznych wytycznych dotyczących kontroli jakości badań diagnostycznych zakażenia HIV; celowe jest rozwinięcie krajowego programu kontroli jakości takich badań w oparciu o instytucję centralną. Krajowa certyfikacja powinna być obowiązkowa dla wszystkich laboratoriów i mieć na celu poprawę wiarygodności i jakości wydawanych wyników badań.

**Słowa kluczowe:** Diagnostyka HIV, testy anty-HIV, kontrola jakości badań, diagnostyka laboratoryjna

#### ABSTRACT

The aim of this work was quality assessment of HIV diagnostic procedures in Poland, including human and technical resources as well as laboratory practice. Sixty questionnaires were distributed among diagnostic centers to obtain qualitative data. Basing on the survey data serological control using coded panels of HIV-1/2 samples was performed. Thirty-one filled questionnaires were received (50.8%). Surveyed laboratories perform from 350 to 5500 serological screening tests per year. In most of laboratories fourth generation assays are available, while Blood Donation Centers screen the blood both with serological assays and by HIV-RNA detection. Sanitary and Epidemiological Stations and academic laboratories hold the ISO/IEC 17025 or ISO 9001:2001 accreditation, five of the surveyed centers participate in *Labquality* assurance and two in *Quality Control in Molecular Diagnostics* programs. Data of control serological testing were received from 21 centers. In the quality control assessment 194 analyses were performed with 91 true negative, 2 false negative, 96 true positive and 5 false positive results. False negative rate of % and false positive rate of 5.2% was noted for this study.

Conclusions: Currently, virtually no guidelines related to the HIV-diagnostics quality assurance and control in Poland are delineated. Development of the national unified quality control system, basing on the central institution is highly desirable. National certification within the frames of the quality control and assurance program should be mandatory for all the diagnostic labs, and aim at improvement of reliability of the result distributed among clinicians and patients.

**Key words:** HIV diagnostics, HIV testing, quality assurance, quality control

## WSTĘP

Wprowadzenie wytycznych dotyczących stosowania badań laboratoryjnych w kierunku wykrycia zakażenia wirusem HIV w praktyce klinicznej tak, aby traktowane były na równi z innymi badaniami wykonywanymi w trakcie diagnostyki szpitalnej, ma na celu zwiększenie wcześniejszej wykrywalności zakażenia HIV (1). Obecnie sugerowane jest stosowanie badania opartego na zasadzie *opt-out*, z możliwością rezygnacji z testu po uprzednim poinformowaniu pacjenta, ale bez konieczności uzyskania osobnej pisemnej zgody (2). Takie testowanie jest szczególnie korzystne w populacjach o przewadze przenoszenia HIV drogą seksualną, z dużą liczbą nowych rozpoznań późnych u osób z głębokim niedoborem odporności. W Polsce zwiększa się liczba osób z zakażeniem HIV wykrytym dopiero w stadium AIDS lub osób, u których rozwija się AIDS w ciągu 3 miesięcy od diagnozy, obserwuje się podwyższenie wieku w momencie rozpoznania oraz stały wzrost liczby zakażeń drogą płciową (3, 4). Obecnie w kraju testy przesiewowe wykrywające przeciwciała anti-HIV wykonuje się w około 800-1000 laboratoriów, publicznych i niepublicznych – dane Krajowej Izby Diagnostów Laboratoryjnych (informacja ustna) oraz dane uzyskane poprzez przeszukiwanie informacji internetowych dotyczących oferty diagnostycznej w laboratoriach niepublicznych, natomiast częstość testowania w populacji pozostaje jedną z najniższych w Europie (5, 6). Częstość testowania prawdopodobnie ulegnie znaczącemu zwiększeniu w najbliższej przyszłości w wyniku wdrożenia programów zapobiegania, natomiast zwraca uwagę fakt, że w Polsce brak jest wytycznych dotyczących kontroli jakości diagnostyki laboratoryjnej zakażenia HIV, co może za sobą nieść ryzyko zwiększenia częstości błędów diagnostycznych.

Krajowe programy kontroli jakości w diagnostyce laboratoryjnej mają na celu zapewnienie wysokiej wiarygodności wyniku, co jest szczególnie istotne w wykrywaniu zakażenia HIV, ponieważ zarówno wynik fałszywie ujemny, jak fałszywie dodatni, niesie za sobą poważne konsekwencje dla pacjenta. Aby poprawić jakość diagnostyki, wprowadza się programy zapewniania jakości i jej kontroli (*Quality Assurance/Quality Control programs*) w oparciu o instytucję centralną - krajowe laboratorium referencyjne, mające na celu rozprowadzanie paneli kontrolnych, zbieranie i weryfikację wyników oraz ich certyfikację. Nadrzędnymi celami takich programów kontrolnych są: regularna ocena jakości wydawanych wyników oraz zapewnienie ich wysokiej wiarygodności. Wytyczne dotyczące programów kontroli jakości w diagnostyce serologicznej związanej z wykrywaniem zakażenia HIV wydała WHO w 1996 roku (7). Krajowe programy kontroli jakości funkcjonują w oparciu o referencyjne laboratorium

centralne w wielu krajach; zestawy kontrolne rozsyłane są co najmniej raz do roku, wyniki można wysłać i zweryfikować drogą elektroniczną (8, 9). Za koniecznością wprowadzenia kontroli jakości przemawia również fakt, iż znacząca liczba testów w Polsce wykonywana jest anonimowo, bez możliwości ewentualnego odszukania osoby badanej. Wprowadzenie w przyszłości programu kontroli jakości wymaga opracowania systemu-sieci, po uzyskaniu szczegółowych danych ilościowych i jakościowych z laboratoriów medycznych.

Celem niniejszej pracy była ocena jakości procedur diagnostycznych z zakresu wykrywania zakażenia HIV w Polsce, wraz z próbą określenia zasobów materiałowych i ludzkich oraz stosowanej praktyki diagnostycznej. Publikacja ta stanowi podsumowanie części dotyczącej procedur diagnostycznych związanych z wykrywaniem zakażenia HIV Programu „Opracowanie, doskonalenie i wdrożenie wysokospecjalistycznych procedur diagnostycznych w chorobach o podłożu immunologicznym” (PBZ-KBN 119/P05/2005), wykonanego w latach 2006-2008 na zlecenie Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego, pod kierunkiem prof. dr hab. med. Jana Żeromskiego.

## MATERIAŁ I METODY

W ramach badania zbierano dane ilościowe i jakościowe z wybranych ośrodków prowadzących diagnostykę zakażenia HIV w Polsce.

**Dane ilościowe.** Dla pozyskania danych ilościowych zaprojektowano ankietę, które rozesłano do ośrodków prowadzących badania diagnostyczne związane z wykrywaniem zakażenia HIV, z uwzględnieniem następujących sektorów:

- 1 - laboratoria publiczne współpracujące z ośrodkami lecznictwa zamkniętego i ambulatoryjnego oraz ośrodkami akademickimi - 15 ankiet,
- 2 - laboratoria publiczne współpracujące z punktami anonimowego testowania oraz przy wojewódzkich stacjach sanitarno-epidemiologicznych (WSSE) - 10 ankiet,
- 3 - laboratoria przy Wojewódzkich Stacjach Krwiodawstwa i Krwiolecznictwa (RCKiK) - 15 ankiet,
- 4 - laboratoria niepubliczne, zarówno współpracujące z zakładami prowadzącymi leczenie (NZOZ), jak i działające samodzielnie - 21 ankiet.

Ankiety zawierały pytania związane z kwalifikacjami personelu, posiadaniem sprzętem niezbędnym do wykonywania badań związanych z diagnostyką zakażenia HIV, rodzajem i liczbą wykonywanych badań, certyfikacją, organizacją pracy laboratorium, prowadzeniem badań w ramach profilaktyki poekspozycyjnej oraz zabezpieczenia danych. Do ośrodków rozesłano 61

ankiet; otrzymano zwrot 31 wypełnionych formularzy (odsetek zwrotu ankiet - 50,8%). Dla poszczególnych kategorii odsetek zwrotu ankiet wynosił odpowiednio: 80% dla grupy 1; 66% dla grupy 2; 53% dla grupy 3 i 24% dla grupy 4.

**Dane jakościowe.** Na podstawie uzyskanych ankiet wybrano laboratoria do przeprowadzenia w nich pilotażowego programu kontroli jakości badań serologicznych w kierunku zakażenia HIV-1/2 (panel testowy QCMD). Rozesłano 31 paneli kontrolnych do ośrodków, od których otrzymano ankiety. Panele składały się z zestawu 6 zakodowanych próbek do oznaczenia (3 dodatnie, 3 ujemne). Uzyskano dane z 21 ośrodków. Następujące ośrodki wzięły udział w badaniu:

1. Instytut Hematologii i Transfuzjologii w Warszawie,
2. Pracownia Diagnostyki Molekularnej, SP ZOZ Wojewódzki Szpital Zakaźny, ul. Wolska 37, Warszawa
3. Pracownia Diagnostyki Molekularnej Wielospecjalistycznej Przychodni Lekarskiej AM, ul. Koszarowa 5, Wrocław
4. Wojskowe Centrum Krwiodawstwa i Krwiolecznictwa, ul. Szaserów 128, Warszawa
5. Zakład Diagnostyczny Centrum Leczenia Chorób Przenoszonych Drogą Płciową, ul. Koszykowa 82, Warszawa
6. Centralne Laboratorium Analityczne Warszawa - Ursynów
7. WSSE Łódź
8. WSSE Warszawa, ul. Żelazna 79
9. WSSE Dział Laboratoryjny - Oddział Mikrobiologii i Parazytologii Lekarskiej, Bydgoszcz
10. WSSE, Oddział Mikrobiologii i Parazytologii, Gorzów
11. WSSE, Laboratorium Badań Epidemiologiczno-Klinicznych, Olsztyn
12. WSSE, Oddział Laboratoryjny Epidemiologii, Szczecin
13. Laboratorium Przychodni Skórno-Wenerologicznej, Kielce
14. Laboratorium Analityki Ogólnej, SPZOZ Szpital Specjalistyczny, Chorzów
15. Laboratorium Mikrobiologiczno-Serologiczne i Parazytologii, Rzeszów
16. NZOZ Laboratoria Medyczne Diagnostyka, Częstochowa
17. NZOZ „Medis”, Centralne Laboratorium, Szczecin
18. Oddział Laboratoryjny Powiatowej Stacji Sanitarno-Epidemiologicznej, Koszalin
19. Śląskie Laboratorium Analityczne sp. z o.o., Katowice
20. Zakład Diagnostyki Laboratoryjnej Laboratorium Analityczne, Szpital Wojewódzki, ZOZ Zielona Góra

21. Laboratorium Mikrobiologiczne Samodzielny Publiczny Wojewódzki Szpital Zespolony, Szczecin

Dane dotyczące kontroli jakości diagnostyki obejmowały wynik oznaczenia danej próbki oraz rodzaj i producenta stosowanego testu diagnostycznego. Zastosowanie zestawów kontrolnych miało za zadanie zarówno sprawdzenie jakości wykonywania testów, jak również ocenę możliwości wdrożenia programu kontroli jakości diagnostyki serologicznej zakażenia HIV w Polsce.

## WYNIKI

1. *Dane ilościowe.* Wszystkie ankietowane laboratoria znajdowały się na liście Krajowej Izby Diagnostów Laboratoryjnych. Wśród ośrodków prowadzących diagnostykę związaną z zakażeniem HIV znajdowały się laboratoria prowadzące przesiewową diagnostykę serologiczną z zastosowaniem testów EIA.

Wśród laboratoriów przyszpitalnych i WSSE badania serologiczne (wykrywanie przeciwciał anti-HIV) w trybie pilnym można wykonać w 66,6% ośrodków; w większości przypadków próbki są kodowane (numerem lub kodem kreskowym) – 86,6%. W pozostałych laboratoriach opisywane są imieniem i nazwiskiem, lub brak jest jednoznacznych wytycznych. W 66,6% ankietowanych laboratoriów pacjent/klient podpisuje odrębną zgodę na badanie. Czas przechowywania próbek wynosi od 0 (brak możliwości przechowywania próbek) do 3 miesięcy (laboratoriów przyszpitalnych, WSSE i NZOZ), a w przypadku stacji krwiodawstwa - do 10 lat.

2. *Wykonywanie testów przesiewowych i poradnictwo okołotestowe.* Liczba wykonywanych rocznie testów przesiewowych w kierunku zakażenia HIV waha się w poszczególnych laboratoriach od kilkuset (350 dla Śląskiego Centrum Chorób Serca, Pracownia Krzepnięcia Krwi i HBs/HIV) do kilku tysięcy (5588 dla Zakładu Diagnostycznego Centrum Leczenia Chorób Przenoszonych Drogą Płciową). Używane były następujące testy przesiewowe wykrywające zakażenie wirusem HIV:

- ABBOTT IMx,
- ABBOTT AxSym,
- ABBOTT Architect 2000 SR HIV Ag/Ab Combo,
- Biomerieux Vironostika HIV assays (z i bez antygenem p24),
- Biomerieux VIDAS DUO,
- BIO-RAD Genscreen HIV Ag-Ab ultrassay,
- VITROS Eci Anti-HIV 1 & 2.

W większości ankietowanych laboratoriów dostępne są testy 4 generacji (70,5%), wykrywające zarówno przeciwciała anti-HIV, jak i antygen p24, co umożliwia skrócenie trwania okienka serologicznego do 10-28 dni.



Centra Krwiodawstwa i Krwiolecznictwa wykonują oznaczanie HIV-RNA metodą jakościową za pomocą systemów GENPROBE Procleix Tigris lub Roche Cobas Amplicor, w ramach badań krwiodawców przy oddawaniu krwi. Poradnictwo przed testem i po teście, zgodnie z wytycznymi krajowego centrum d.s. AIDS wykonują wyłącznie laboratoria współpracujące z punktami anonimowego testowania. W innym przypadku jest ono wykonywane przez lekarza kierującego na badanie, w jednym przypadku odbyła się konsultacja z psychologiem lub też konsultacja z osobą przeszkoloną.

3. *Testy potwierdzenia.* Diagnostyka w kierunku zakażenia wirusem HIV wymaga testu potwierdzenia metodą western blot. Aktualnie w Polsce takie badanie można wykonać w 12 ośrodkach. Są to:

Centralne Laboratorium ZWPS w Katowicach, Wojewódzki Specjalistyczny Szpital im. dr Biegańskiego w Łodzi; Pracownia Diagnostyki Nabytych Niedoborów Odporności, Wojewódzkiego Szpitala Zakaźnego w Warszawie; Pracownia Diagnostyki Molekularnej Wielospecjalistycznej Przychodni Lekarskiej Fundacji Akademii Medycznej we Wrocławiu, Instytut Hematologii i Transfuzjologii w Warszawie, Wojskowy Instytut Medyczny - Wojskowe Centrum Krwiodawstwa i Krwiolecznictwa w Warszawie, Zakład Transfuzjologii CSK MON w Warszawie, WSSE w Warszawie, Szpital Uniwersytecki Kraków, Pracownia Serologii Wojewódzkiej Stacji Sanitarno-Epidemiologicznej w Lublinie, Wojewódzki Szpital Zakaźny w Bydgoszczy, Pomorskie Centrum Chorób Zakaźnych i Gruźlicy w Gdańsku, Centrum Diagnostyki i Leczenia Chorób Przenoszonych Drogą Płciową AM w Warszawie.

Dane ankietowe otrzymano z 6 ośrodków wykonujących testy potwierdzenia. Laboratoria wykonują kilkaset testów potwierdzenia rocznie (do 400 w Pracowni Diagnostyki Molekularnej Wielospecjalistycznej Przychodni Lekarskiej Fundacji Akademii Medycznej we Wrocławiu). Testy potwierdzenia wykonywane są za pomocą następujących zestawów:

- Bio-Rad New LAV Blot I, *Biorad*
- INN-LIA HIV I/II Score, *Innogenetics*,
- HIV Blot 2.2 MP, *Genelabs Diagnostics*

Laboratoria wykonujące w/w testy mają zasięg ogólnopolski.

4. *Certyfikacja i akredytacja.* Laboratoria WSSE oraz akademickie posiadają akredytację ISO/IEC 17025 lub ISO 900:2001. Tylko 5 ośrodków (Pracownia Diagnostyki Molekularnej Wielospecjalistycznej Przychodni Lekarskiej AM we Wrocławiu, Zakład Diagnostyczny Centrum Leczenia Chorób Przenoszonych Drogą Płciową w Warszawie, NZOZ „Medis” - Centralne Laboratorium Szczecin, Laboratorium analityki ogólnej - SPZOZ Szpital Specjalistyczny w Chorzowie, oraz Laboratorium WSSE w Łodzi posiadają certyfikat *Labquality*). Dwa ośrodki posiadają dodatkową certy-

fikację do biologii molekularnej – QCMD (Pracownia Diagnostyki Molekularnej Wielospecjalistycznej Przychodni Lekarskiej AM we Wrocławiu oraz Pracownia Diagnostyki Molekularnej, SP ZOZ Wojewódzki Szpital Zakaźny w Warszawie; dane na koniec roku 2008).

5. *Dane jakościowe.* Laboratoria biorące udział w pilotażowym programie kontroli jakości wykonały ogółem 199 oznaczeń rozesłanych zestawów kontrolnych przygotowanych zgodnie z zasadami zewnętrznej kontroli jakości (*External Quality Assessment Scheme*) firmy MCA Lab, Holandia; w niektórych laboratoriach zestaw był oznaczany kilkakrotnie różnymi testami diagnostycznymi. Używano następujących testów: Vironostika (Biomerieux), Genscreen, Axsym, IMx i Architect (Abbott), Vitros Eci, Vidas (Biomerieux). W ramach programu wykonano 194 oznaczenia. Uzyskano 91 wyników prawdziwie ujemnych, 2 fałszywie ujemne (odsetek wyników ujemnych: 2%), w 3 przypadkach wyników nie podano oraz było 96 wyników prawdziwie dodatnich, 5 fałszywie dodatnich (odsetek wyników fałszywie dodatnich: 5,2%), z jednym wynikiem niewprowadzonym do systemu. Dla wszystkich wykonanych testów dodatnia wartość

Tabela I. Wyniki pilotażowego badania wykrywania przeciwciał anti-HIV metodą serologiczną w poszczególnych laboratoriach

Table I. Results of the pilot serological quality control assessment for anti-HIV testing for each laboratory

	Identyfikator laboratorium	Wyniki prawdziwie dodatnie	Wyniki prawdziwie ujemne	Wyniki fałszywie dodatnie	Wyniki fałszywie ujemne
1	8036	6	6	0	0
2	8046	3	3	0	0
3	8053	3	3	0	0
4	8054	6	6	0	0
5	8057	6	6	0	0
6	8061	3	3	0	0
7	8062	6	6	0	0
8	8063	6	6	0	0
9	8064	6	6	0	0
10	8065	3	3	0	0
11	8066	6	5	1	0
12	8067	10	10	2	2
13	8070	2	2	0	0
14	8071	3	3	0	0
15	8072	3	3	0	0
16	8073	3	2	1	0
17	8074	6	3	1	0
18	8075	6	6	0	0
19	8076	3	3	0	0
20	8077	3	3	0	0
21	Mxx	3	3	0	0
	Ogółem	96	91	5	2

predykcja wyniosła 95,05%, a ujemna wartość predykcja - 97,85%. Wyniki niewprowadzone do bazy danych zostały uznane za nieoznaczone. Oba wyniki fałszywie ujemne uzyskano przy użyciu metody Vitros Eci, natomiast fałszywie dodatnie metodami Vitros Eci i Vidas. W tabeli I przedstawiono zestawienie wyników uzyskanych z poszczególnych laboratoriów, a w tabeli II zestawienie wyników poszczególnych testów.

Tabela II. Wyniki pilotażowego badania wykrywania przeciwciał anti-HIV metodą serologiczną dla poszczególnych testów diagnostycznych

Table II. Results of the serological quality control assessment for anti-HIV testing and the screening test used

Metoda	Wyniki prawdziwie dodatnie (%)	Wyniki prawdziwie ujemne (%)	Wyniki fałszywie dodatnie (%)	Wyniki fałszywie ujemne (%)
Biorad Genscreen HIV1/2, EIA	6 (100%)	6 (100%)	0	0
Biomerieux Vironostika HIV Uni Form II Ag/Ab, EIA	18 (100%)	17 (100%)	0	0
Abbott IMix HIV-1/HIV-2 III Plus, MEIA	3 (100%)	3 (100%)	0	0
Abbott Architect HIV Ag/Ab Combo, CMIA	11 (100%)	11 (100%)	0	0
Abbott AxSYM HIV Ag/Ab Combo, MEIA	36 (100%)	36 (100%)	0	0
Biomerieux Vidas HIV DUO Quick, ELFA	18 (100%)	14 (82.4%)	3 (17.6%)	0
Ortho Vitros Anti-HIV 1+2, immunoassay	4 (66.6%)	4 (66.6%)	2 (33.3%)	2 (33.3%)

## DYSKUSJA

Ocena procedur diagnostycznych związanych z zakażeniem HIV w ramach programu „Opracowanie, doskonalenie i wdrożenie wysokospecjalistycznych procedur diagnostycznych w chorobach o podłożu immunologicznym” było zadaniem trudnym ze względu na fakt, że diagnostyka odbywa się na kilku poziomach. Pierwszym poziomem są badania przesiewowe, oparte na metodach serologicznych (ELISA, EIA i ELFA) wykonywane w kilkuset ośrodkach publicznych i niepublicznych na terenie całej Polski (ryc. 1). Trudno jest dokładnie określić liczbę laboratoriów, w których można wykonać test anti-HIV, gdyż często dane podawane na stronach internetowych nie są zgodne z danymi podawanych w ofercie drukowanej w formie pisemnej, a ilość ankiet otrzymanych z sektora niepublicznego była znikoma. Kolejny poziom to testy potwierdzenia metodami immunoblot lub immunoassay; ponadto w ramach diagnostyki kompleksowej u osób zakażonych HIV oznacza się rutynowo liczbę limfocytów CD3 z

określeniem subpopulacji CD4 i CD8 metodami cytometrii przepływowej. Stosuje się również szereg testów wykorzystujących techniki amplifikacji materiału genetycznego – wykrywanie HIV-RNA, prowirusowego DNA, genotypowanie HIV czy oznaczanie wariantów genetycznych związanych z farmakogenetyką czy progresją zakażenia HIV.

### Ośrodki prowadzące diagnostykę przesiewową w kierunku zakażenia HIV



Rycina 1. Ośrodki prowadzące diagnostykę przesiewową w kierunku zakażenia HIV w Polsce (RCKiK – Regionalne Centra Krwiodawstwa i Krwiolęcznictwa)

Figure 1. Centers with capacity for HIV screening in Poland (RCKiK – Regional Blood Donation and Blood Treatment Centers)

Należy zauważyć, że serologiczne testowanie przesiewowe stanowi podstawę całego systemu diagnostyki związanej z wykrywaniem zakażenia HIV. Powinno to być związane z poradnictwem okołotestowym – poradą przed i po teście – przeprowadzonym przez wyszkolonego pracownika (10). Zgodnie z danymi ankietowymi uzyskanymi z badanych ośrodków, takie poradnictwo przeprowadzane jest wyłącznie w ośrodkach współpracujących z punktami anonimowego testowania (25 ośrodków), w ośrodkach przyszpitalnych i przyklinicznych oraz w przypadku uzyskania wyników dodatnich - w Regionalnych Centrach Krwiodawstwa i Krwiolęcznictwa (21 ośrodków). Nie otrzymano danych na temat poradnictwa okołotestowego z ambulatoryjnych laboratoriów przyklinicznych, jednak doświadczenie kliniczne w pracy z osobami zakażonymi HIV wskazuje, że nie jest ono prowadzone. Zanotowano wydawanie wyników badań przesiewowych drogą internetową, po zalogowaniu osobistym kodem pacjenta, ale nie uzyskano danych, czy w taki sposób wydawane są również wyniki dodatnie.

Opisane testy przesiewowe, dostępne na polskim rynku, są testami sprawdzonymi, posiadającymi certyfikaty Unii Europejskiej CE IVD, a wymóg wykonania testu potwierdzenia ogranicza ryzyko wydania wyniku fałszywie dodatniego. Testy potwierdzenia wykony-

wane są w laboratoriach z dużym doświadczeniem, najczęściej posiadających certyfikat ISO/IEC 17025, ISO 9001:2001 lub Labquality. Wymagania dotyczące certyfikacji laboratoriów prowadzących diagnostykę w kierunku zakażenia HIV nie są jednoznacznie określone; prawdopodobnie z tego powodu laboratoria legitymują się szerokim wachlarzem różnych certyfikatów.

Pilotażowy program kontroli jakości przeprowadzono w ośrodkach, które mogą tworzyć sieć ośrodków referencyjnych w zakresie diagnostyki zakażenia HIV. Były to laboratoria posiadające certyfikaty, w których personel podlegał corocznym szkoleniom, z wewnętrznymi procedurami postępowania poekspozycyjnego, często ściśle współpracujące z ośrodkami leczącymi osoby zakażone HIV. W wyniku przeprowadzonej kontroli zanotowano wyniki zarówno fałszywie dodatnie (5,2%), jak i fałszywie ujemne (2%). W praktyce testy dodatnie byłyby wykluczone testem potwierdzenia, jednakże wynik testu fałszywie ujemnego zostałby wydany osobie zakażonej HIV pozostawiając ją niezdiagnozowaną. Wykonawcom projektu udało się zebrać dane jedynie z niewielkiej części ośrodków prowadzących diagnostykę związaną z zakażeniem HIV w Polsce. W większości były to laboratoria duże, zatrudniające od kilku do kilkunastu diagnostów, nie udało się uzyskać danych ani przeprowadzić badania kontrolnego w mniejszych laboratoriach niepublicznych. Nie ma więc danych na temat jakości prowadzonych badań w takich ośrodkach.

Wdrożenie krajowego programu kontroli jakości z corocznie przeprowadzaną obowiązkową certyfikacją z pewnością przyczyniłoby się do poprawy jakości diagnostyki laboratoryjnej w kierunku zakażenia HIV; jednakże taki program musiałby podlegać w tym zakresie jednej centralnej instytucji, która byłaby odpowiedzialna za całość procesu kontroli i poprawy jakości. Programy kontroli jakości powinny obejmować całą diagnostykę związaną z wykrywaniem zakażenia HIV - od testów przesiewowych, poprzez badania poziomu wirusii HIV i liczby limfocytów CD3 (CD4 oraz CD8), oraz badania molekularne - badania lekooporności, testy HLA B5701 czy inne testy genetyczne (11). Kontrola jakości powinna uwzględniać zmiany i bieżące tendencje w diagnostyce laboratoryjnej i oferować spójny system certyfikacji (12). Centralna instytucja kontroli jakości miałaby za zadanie zapewnienie ciągłości programu oraz dostosowanie paneli kontrolnych tak, aby nadążały za aktualnymi kierunkami epidemiologicznymi i diagnostycznymi.

Tworzenie sieci laboratoriów certyfikowanych wymusza poprawę jakości diagnostyki i zapewnia wiarygodność wyniku, co jest szczególnie istotne przy diagnostyce związanej z zakażeniem HIV (13). Potwierdzono skuteczność programów poprawy jakości nie tylko dla podwyższenia jakości oferowanych usług

laboratoryjnych, ale również dla identyfikacji metod i testów komercyjnych, których jakość można poprawić (14). W przypadku nieprawidłowych wyników danego testu możliwa jest wielośrodkowa identyfikacja wadliwej serii czy metody, co dodatkowo poprawia jakość diagnostyki oferowanej przez laboratoria. Modelowym przykładem działania programu kontroli jakości w diagnostyce zakażenia HIV jest sytuacja w Australii, gdzie dokonuje się centralnej wewnątrz krajowej oceny testu diagnostycznego przed dopuszczeniem na rynek; zarządzanie zestawami kontroli jakości i ich wynikami odbywa się drogą internetową z uwzględnieniem stosowanych w laboratorium metod i sprzętu; odbywa się monitoring czułości testów; wdrożono programy konsultacyjne i szkoleniowe dla diagnostów (8). Tak zaprojektowany system zapewnia wysoką jakość diagnostyki laboratoryjnej i stały nadzór nad nią.

Według autorów tego opracowania, w Polsce jest możliwe wdrożenie kompleksowego programu kontroli jakości w diagnostyce związanej z zakażeniem HIV; przetestowane laboratoria stanowiłyby podstawę sieci laboratoriów referencyjnych, która ulegałaby rozszerzeniu w miarę włączania się laboratoriów do programu. Prawdopodobny wzrost częstości zakażeń HIV i innych zakażeń przenoszonych drogą płciową wymaga wdrożenia nowoczesnego nadzoru nad jakością oferowanej diagnostyki (15).

## PODSUMOWANIE I WNIOSKI

Na podstawie przeprowadzonych badań sformułowano następujące wnioski.

1. W Polsce brak jest jednoznacznych wytycznych dotyczących kontroli jakości diagnostyki związanej z zakażeniem HIV. Dotyczy to zarówno ośrodków publicznych jak i niepublicznych.
2. Celowe jest rozwinięcie krajowego programu kontroli jakości w diagnostyce związanej z zakażeniem HIV na podstawie powołania instytucji centralnej. Zadaniem instytucji byłyby jednorodna certyfikacja w oparciu o systematycznie rozsyłane zestawy kontrolne. Ponadto, instytucja certyfikująca miałaby za zadanie zweryfikować jakość oferowanego przez laboratorium poradnictwa okołotestowego i określić wytyczne na temat sposobu wydawania wyników badań - dodatnich i ujemnych.
3. Krajowa certyfikacja w diagnostyce związanej z zakażeniem HIV powinna być obowiązkowa dla wszystkich laboratoriów.
4. Krajowy program kontroli jakości w diagnostyce związanej z zakażeniem HIV miałby na celu nie tylko poprawę wiarygodności wyniku, ale również pozwoliłby ocenić jakość testów stosowanych w Polsce.



## PIŚMIENNICTWO

1. British HIV Association, British Association of Sexual Health and HIV. British Infection Society UK National Guidelines for HIV Testing 2008. <http://www.bhiva.org>
2. Branson BM, Handsfield HH, Lampe MA, i in. Revised recommendations for HIV testing of adults, adolescents, and pregnant women in health-care settings. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). *MMWR Recomm Rep* 2006;55:1-17.
3. Rosińska M, Current trends in HIV/ AIDS epidemiology in Poland, 1999 - 2004 *EuroSurveill* 2006;20:11(4). <http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx/ArticleId=618>
4. Bander D, Leszczyszyn-Pynka M, Boroń-Kaczmarska A. Późne wykrywanie AIDS u osób hospitalizowanych w Klinice Chorób Zakaźnych i Hepatologii PAM w latach 2003-2007. *Przegl Epid* 2009;63: 61-66.
5. UNAIDS. Report on the global AIDS epidemic. 2008. [http://www.unaids.org/en/KnowledgeCentre/HIVData/GlobalReport/2008/2008\\_Global\\_report.asp](http://www.unaids.org/en/KnowledgeCentre/HIVData/GlobalReport/2008/2008_Global_report.asp)
6. EuroHIV Steering Group, STI/HIV/AIDS programme of the WHO Regional Office for Europe, European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC). EuroHIV 2006 survey on HIV and AIDS surveillance in the WHO European Region. 2006. [http://www.eurohiv.org/reports/eurohiv\\_2006\\_survey\\_report/eurohiv\\_2006\\_survey\\_report.pdf](http://www.eurohiv.org/reports/eurohiv_2006_survey_report/eurohiv_2006_survey_report.pdf)
7. UNAIDS. Guidelines for organizing national external quality assessment schemes for HIV serological testing. 1996. [http://www.who.int/diagnostics\\_laboratory/quality/en/](http://www.who.int/diagnostics_laboratory/quality/en/)
8. Gust A, Walker S, Chappel RJ, Dax E. Anti-HIV quality assurance programs in Australia and the southeast Asian and Western Pacific region: Proficiency testing in analytical chemistry, microbiology and laboratory medicine. *Accred Qual Assur* 2001;6:168-172.
9. Gupta SM, Bala M, Muralidhar S, i in. Evaluation of test results of microbiology laboratories of North India for standard tests for syphilis under an external quality assurance scheme. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2009;28(5):461-8.
10. Konieczny G, Lipniacki A, Piasek A, i in. Diagnostyka zakażenia HIV Wskazówki dla osób pracujących w Punktach Anonimowego Testowania. 2003. [http://www.aids.gov.pl/files/publikacje/Diagnostyka\\_zakazenia\\_HIV.pdf](http://www.aids.gov.pl/files/publikacje/Diagnostyka_zakazenia_HIV.pdf)
11. Niesters HG. Standardization and quality control in molecular diagnostics. *Expert Rev Mol Diagn* 2001;1(2):129-31.
12. Peter TF, Shimada Y, Freeman RR, i in. The need for standardization in laboratory networks. *Am J Clin Pathol* 2009;131(6):867-74.
13. Sushi MK, Jacob M, Parameshwari S, Viswanath R, Samuel NM. Importance of external quality control scheme for HIV testing in resource limited settings - India. International Conference on AIDS. *Int Conf AIDS*. 2002 Jul 7-12; 14: Abstract number. C11056.
14. Kim J, Swantee C, Lee B, i in. Identification of Performance Problems in a Commercial HIV-1 EIA by Multi-User External Quality Control Monitoring and Real-Time Data Analysis. *J Clin Microbiol* 2009. <http://jcm.asm.org/cgi/reprint/JCM.00892-09v1/view=long&pmid=19641055>
15. Peeling RW, Mabey D, Herring A, i in. Why do we need quality-assured diagnostic tests for sexually transmitted infections? *Nat Rev Microbiol* 2006;4(12):909-21.

Otrzymano: 1.10.2009.

Zaakceptowano do druku: 9.11.2009

**Adres do korespondencji:**

Dr n.med. Miłosz Parczewski

Katedra i Klinika Chorób Zakaźnych i Hepatologii  
Pomorskiej Akademii Medycznej, Arkońska 4,  
71-455 Szczecin

e-mail: mparczewski@yahoo.co.uk

tel: 091 813 9441