



ΠΡΩΤΟΚΟΛΛΟ ΔΙΕΞΑΓΩΓΗΣ ΔΙΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΟΥ ΣΧΗΜΑΤΟΣ

1 ΓΕΝΙΚΑ

Η Μονάδα Ελέγχου Ποιότητας Μικροβιολογικών Αναλύσεων, η οποία ανήκει στο Εργαστήριο Μικροβιολογίας της Ιατρικής Σχολής του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών (ΕΚΠΑ), σχεδιάζει και διοργανώνει Διεργαστηριακό Σχήμα Δοκιμής Ικανότητας (Εξωτερικός Έλεγχος Ποιότητας) για μικροβιολογικές αναλύσεις. Το Διεργαστηριακό Σχήμα συνίσταται στην αποστολή «υποτιθέμενων κλινικών δειγμάτων» στα οποία περιέχονται ένα ή περισσότερα μικροβιακά στελέχη από τη Συλλογή του Εργαστηρίου Μικροβιολογίας της Ιατρικής Σχολής ΕΚΠΑ. Τα δείγματα συνοδεύονται και από κλινικές πληροφορίες.

2 ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ - ΣΚΟΠΙΜΟΤΗΤΑ

Η συμμετοχή σε ένα διεργαστηριακό σχήμα δοκιμής ικανότητας είναι γενικά προαιρετική, με εξαίρεση τις περιπτώσεις όπου κάποιο Εργαστήριο είναι διαπιστευμένο ή υπό διαπίστευση οπότε και αποτελεί απαίτηση υποχρεωτικής εφαρμογής βάσει των προτύπων ISO/IEC 17025 ή ISO 15189. Σε κάθε περίπτωση όμως η συμμετοχή σε διεργαστηριακά σχήματα δοκιμών ικανότητας, παρέχει στο συμμετέχων Εργαστήριο ένα αντικειμενικό μέσο αξιολόγησης και τεκμηρίωσης της αξιοπιστίας των αποτελεσμάτων που αυτό παράγει. Στα πλαίσια αυτά, το Εργαστήριο Μικροβιολογίας της Ιατρικής Σχολής ΕΚΠΑ έχει αναλάβει το σχεδιασμό, την ανάπτυξη και την υλοποίηση ενός προγράμματος διεργαστηριακής δοκιμής μικροβιολογικών αναλύσεων, το οποίο λειτουργώντας σύμφωνα με τις απαιτήσεις του προτύπου ISO/IEC 17043: 2010 “Conformity assessment – General requirements for proficiency testing” ως σκοπό έχει να βοηθήσει τα Μικροβιολογικά Εργαστήρια να διαπιστώσουν την ικανοποιητική ή όχι λειτουργία τους και να συμβάλει έτσι στην αναβάθμιση της ποιότητας των μικροβιολογικών εξετάσεων στη χώρα μας.

3 ΣΥΜΜΕΤΟΧΗ - ΣΥΧΝΟΤΗΤΑ

Ο ετήσιος κύκλος του διεργαστηριακού σχήματος περιλαμβάνει 4 αποστολές η καθεμία από τις οποίες περιλαμβάνει 3 δείγματα. Οι περίοδοι των αποστολών είναι: Φεβρουάριος, Μάιος, Σεπτέμβριος και Δεκέμβριος κάθε έτους.



Κάθε δείγμα αντιστοιχεί σε κάποιο κλινικό δείγμα και περιέχει κανένα (αρνητική καλλιέργεια), ένα ή περισσότερα μικροβιακά στελέχη (βακτήρια ή/και μύκητες) από τη Συλλογή Μικροβίων του Εργαστηρίου Μικροβιολογίας της Ιατρικής Σχολής, που θα πρέπει να ταυτοποιηθούν και, όπου απαιτείται, να γίνει και έλεγχος ευαισθησίας του απομωνούμενου μικροοργανισμού (αντιβιογράμμα). Παράλληλα, αποστέλλεται ένα μικρό ιστορικό προέλευσης του κάθε μικροβιολογικού δείγματος, για την ορθότερη αξιολόγηση του αποτελέσματος της καλλιέργειας. Οι συμμετέχοντες χρησιμοποιούν μέθοδο απομόνωσης και ταυτοποίησης της επιλογής τους, την οποία και πρέπει να περιγράψουν στο έντυπο των απαντήσεων. Ο μέγιστος χρόνος αποστολής αποτελεσμάτων είναι 15 εργάσιμες ημέρες από την παραλαβή των δειγμάτων, ενώ η αποστολή των βαθμολογιών και της αξιολόγησης των συμμετεχόντων Εργαστηρίων γίνεται 20 εργάσιμες ημέρες μετά την λήξη του χρόνου αποστολής αποτελεσμάτων. Τα αποτελέσματα τα οποία είναι εκτός της καταληκτικής ημερομηνίας αποστολής των αποτελεσμάτων δε γίνονται δεκτά και το Εργαστήριο δε βαθμολογείται.

Το κόστος συμμετοχής ανέρχεται στα 500€ καθαρά ετησίως, ενώ δηλώσεις συμμετοχής γίνονται μέσω του εντύπου «Αίτηση Συμμετοχής» το οποίο είναι διαθέσιμο και στον ιστότοπο του Εργαστηρίου Μικροβιολογίας <http://microbiology.med.uoa.gr>. Για τη χρέωση των υπηρεσιών της Μονάδας, παρέχεται τιμολόγιο παροχής υπηρεσιών, σύμφωνα με τους οικείους κανονισμούς του Ειδικού Λογαριασμού Κονδυλίων Έρευνας (ΕΛΚΕ) του ΕΚΠΑ. Σε περίπτωση εγγραφής μετά την έναρξη του ετήσιου κύκλου, οι συμμετέχοντες λαμβάνουν και τα δείγματα προηγούμενων διανομών μαζί με τα αναμενόμενα αποτελέσματά τους.

4 ΕΜΠΙΣΤΕΥΤΙΚΟΤΗΤΑ

Οι απαντήσεις του συμμετέχοντος Εργαστηρίου (το οποίο έχει σημανθεί με κάποιον απόρρητο κωδικό αριθμό) καταχωρούνται σε βάση δεδομένων, όπου επεξεργάζονται στατιστικά. Στη συνέχεια, τα ποσοστά επιτυχίας, ατομικά και συνολικά, ανακοινώνονται, πάντα υπό πλήρη εχεμύθεια, στο κάθε ένα από τα συμμετέχοντα Εργαστήρια, μαζί με τα αναμενόμενα αποτελέσματα καλλιέργειας και, αν έχει ζητηθεί, αντιβιογράμματος, με απώτερο στόχο τη διαπίστωση της ικανοποιητικής ή όχι λειτουργίας του Εργαστηρίου από τους ίδιους τους συμμετέχοντες. Σε καμία περίπτωση δε δημοσιοποιούνται τα συγκεκριμένα αποτελέσματα, ούτε γίνονται γνωστοί οι απόρρητοι κωδικοί αριθμοί των συμμετεχόντων Εργαστηρίων. Η εμπιστευτικότητα των πληροφοριών ενδέχεται να αρθεί μόνο σε συμφωνία με τους ίδιους τους συμμετέχοντες. Τα δεδομένα, τα αποτελέσματα και οι βαθμολογίες των Εργαστηρίων μπορούν να χρησιμοποιηθούν μόνο για την αξιολόγηση της επίδοσής τους. Το προσωπικό του Εργαστηρίου Μικροβιολογίας της Ιατρικής Σχολής



δεσμεύεται να λειτουργεί με αμεροληψία, εχεμύθεια και εμπιστευτικότητα και για το λόγο αυτό έχει υπογράψει σχετική δήλωση

5 ΕΙΔΗ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ - ΜΕΤΡΟΥΜΕΝΕΣ ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ - ΔΙΑΝΟΜΗ

Στα συμμετέχοντα εργαστήρια αποστέλλονται λυοφιλοποιημένα (GEL) ή υγρά παρασκευάσματα με προσομοίωση κλινικού δείγματος και κλινικές πληροφορίες. Οι συμμετέχοντες πρέπει να καταγράψουν τα στελέχη τα οποία θα αξιολογούσαν και σε ένα πραγματικό κλινικό δείγμα. Η αναφορά σε συνυπάρχοντα μικρόβια, μη αξιολογούμενα, είναι προαιρετική. Στον Πίνακα που ακολουθεί αναφέρονται οι μικροοργανισμοί οι οποίοι μπορεί να περιλαμβάνονται σε δείγματα που αποστέλλονται:

Πίνακας 1: Λίστα μικροοργανισμών (βακτήρια και μύκητες) που περιλαμβάνονται στα μικροβιολογικά δείγματα

<i>Acinetobacter</i> spp.	<i>Enterococcus avium</i>	<i>Salmonella typhimurium</i>
<i>Acinetobacter baumannii</i>	<i>Enterococcus durans</i>	<i>Serratia marcescens</i>
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Scopulariopsis brevicaulis</i>
<i>Acinetobacter lwoffii</i>	<i>Enterococcus faecium</i>	<i>Shigella flexneri</i>
<i>Arcanobacterium haemolyticus</i>	<i>Enterococcus gallinarum</i>	<i>Shigella sonnei</i>
<i>Aspergillus flavus</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>Aspergillus fumigatus</i>	<i>Escherichia coli</i> O157	<i>Staphylococcus capitis</i>
<i>Aspergillus niger</i>	<i>Fusobacterium necrophorum</i>	<i>Staphylococcus cohnii</i>
<i>Aspergillus terreus</i>	<i>Fusarium</i> spp.	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
<i>Bacillus</i> spp.	<i>Haemophilus influenza</i>	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>
<i>Bacteroides fragilis</i>	<i>Haemophilus parainfluenzae</i>	<i>Staphylococcus hominis</i>
<i>Bordetella pertussis</i>	<i>Klebsiella</i> spp.	<i>Staphylococcus ludgunensis</i>
<i>Burkholderia cepacia</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>
<i>Campylobacter coli</i>	<i>Klebsiella oxytoca</i>	<i>Staphylococcus sciuri</i>
<i>Campylobacter jejuni</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Staphylococcus warneri</i>
<i>Candida</i> spp.	<i>Microsporum</i> spp.	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>
<i>Candida albicans</i>	<i>Microsporum canis</i>	<i>Streptococcus</i> spp.
<i>Candida glabrata</i>	<i>Microsporum gypseum</i>	<i>Streptococcus agalactiae</i>
<i>Candida krusei</i>	<i>Moraxella catarrhalis</i>	<i>Streptococcus bovis</i>
<i>Candida parapsilosis</i>	<i>Morganella morganii</i>	<i>Streptococcus durans</i>
<i>Candida tropicalis</i>	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	<i>Streptococcus mitis</i>
<i>Candida guilliermondii</i>	<i>Neisseria meningitidis</i>	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
<i>Citrobacter diversus</i>	<i>Pasteurella multocida</i>	<i>Streptococcus pyogenes</i>
<i>Citrobacter freundii</i>	<i>Penicillium</i> spp.	<i>Streptococcus salivarius</i>
<i>Citrobacter koseri</i>	<i>Proteus mirabilis</i>	<i>Streptococcus sanguis</i>
<i>Citrobacter youngae</i>	<i>Proteus vulgaris</i>	<i>Streptococcus viridans</i>
<i>Clostridium difficile</i>	<i>Providencia stuartii</i>	<i>Trichosporon asahii</i>
<i>Corynebacterium acnes</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Trichophyton</i> spp.
<i>Corynebacterium diphtheria</i>	<i>Rhizomucor</i> spp.	<i>Trichophyton rubrum</i>
<i>Cryptococcus neoformans</i>	<i>Salmonella</i> spp.	<i>Trichophyton tonsurans</i>



<i>Enterobacter</i> spp.	<i>Salmonella enteritidis</i>	<i>Trichophyton interdigitale</i>
<i>Enterobacter aerogenes</i>	<i>Salmonella heidelberg</i>	<i>Yersinia enterocolitica</i>
<i>Enterobacter cloacae</i>	<i>Salmonella paratyphi</i>	<i>Alcaligenes xylosoxidans</i>
<i>Enterococcus</i> spp.	<i>Salmonella typhi</i>	<i>Ochrobacterium anthropi</i>

Το Εργαστήριο Μικροβιολογίας εφαρμόζει τεκμηριωμένες διαδικασίες με στόχο την αξιολόγηση της σταθερότητας και της ομοιογένειας των δειγμάτων που προετοιμάζει, ώστε να διασφαλισθεί ότι όλοι οι συμμετέχοντες λαμβάνουν όσο το δυνατόν όμοια δείγματα και τα δείγματα αυτά παραμένουν σταθερά κατά τη διάρκεια της προετοιμασίας, μεταφοράς και αποθήκευσης τους μέχρι της ανάλυσής τους. Σε κάθε αποστολή πραγματοποιούνται δέκα (10) διπλές μετρήσεις σε δέκα (10) τυχαία επιλεγμένα δείγματα (δοκιμή ομοιογένειας). Τα αποτελέσματα των δοκιμών ομοιογένειας αξιολογούνται και μόνο αν ικανοποιούνται συγκεκριμένα κριτήρια (πλήρης ανάπτυξη στο 90% των δειγμάτων) τα δείγματα αποστέλλονται στους συμμετέχοντες. Επιπλέον, στο τέλος της προθεσμίας αποστολής των αποτελεσμάτων πραγματοποιούνται τρεις (3) διπλές μετρήσεις σε τρία (3) τυχαία επιλεγμένα δείγματα ώστε να αξιολογηθεί και η σταθερότητα των δειγμάτων. Η ακολουθούμενη διαδικασία είναι σύμφωνη με τις βασικές αρχές που περιγράφονται στα τυποποιητικά έγγραφα **ISO 13528: Statistical Methods for Use in Proficiency Testing by Interlaboratory Comparisons** και **IUPAC TR: The International Harmonized Protocol for the Proficiency Testing of Analytical Chemistry Laboratories**.

Η διανομή των δειγμάτων πραγματοποιείται είτε από στελέχη του Εργαστηρίου Μικροβιολογίας είτε από εταιρεία ταχυμεταφορών. Τα δείγματα συνοδεύονται από έγγραφο οδηγιών (στο οποίο αναφέρονται λεπτομερείς οδηγίες σχετικά με το χειρισμό τους) και το έντυπο αποτελεσμάτων το οποίο θα πρέπει να συμπληρωθεί και να επιστραφεί στο Εργαστήριο Μικροβιολογίας της Ιατρικής Σχολής. Αποτελεί ευθύνη των συμμετεχόντων να ενημερώσουν εντός 24 ωρών το Εργαστήριο Μικροβιολογίας αν υπάρχει κάποιο πρόβλημα με τα παραληφθέντα δείγματα ή τη συσκευασία τους. Μόνο, στην τελευταία περίπτωση υπάρχει δυνατότητα για εκ νέου αποστολή δειγμάτων και πάντα μετά από έγγραφη απαίτηση του συμμετέχοντος εργαστηρίου και συμπλήρωσης και αποστολής της φόρμας «**Παράπονα και Ενστάσεις**». Η εκ νέου αποστολή ενός ή περισσότερων δειγμάτων θα αναφέρεται στο πεδίο «Σχόλια» του εντύπου των αποτελεσμάτων. Μετά το πέρας των 24 ωρών δεν υπάρχει δυνατότητα επανάληψης αποστολής.

Εάν η αποστολή δειγμάτων καθυστερήσει με ευθύνη του διοργανωτή, οι συμμετέχοντες ενημερώνονται σχετικά.



6 ΒΑΘΜΟΛΟΓΙΑ - ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

Η βαθμολόγηση των εργαστηρίων γίνεται ακολουθώντας παρακάτω κριτήρια:

Βαθμολόγηση δειγμάτων με ένα μικροοργανισμό

Απάντηση	Βαθμολογία
Ταυτοποίηση σε επίπεδο γένους και είδους	2
Ταυτοποίηση μόνο σε επίπεδο γένους	1
Σωστή ταυτοποίηση και λάθος ορότυπος	1
Λάθος ταυτοποίηση σε επίπεδο είδους	0
Αρνητικό αποτέλεσμα	0
Μη αναμενόμενο παθογόνο	-1
Μη αναμενόμενο παθογόνο, ορθή αξιολόγηση	1
Επιπλέον μη αναμενόμενο παθογόνο	-1
Μη ταυτοποιούμενο παθογόνο*	0

* σε περίπτωση αναερόβιου μικροοργανισμού: 1

Βαθμολόγηση δειγμάτων με δύο μικροοργανισμούς

Απάντηση	Βαθμολογία
Σωστή ταυτοποίηση σε επίπεδο γένους και είδους (και για τα δύο)	2
Σωστή ταυτοποίηση μόνο σε επίπεδο γένους (και για τα δύο)*	1
Σωστή ταυτοποίηση (και για τα δύο) και λάθος ορότυπος	1
Λάθος ταυτοποίηση σε επίπεδο είδους (και για τα δύο παθογόνα)	0
Λάθος ταυτοποίηση σε επίπεδο είδους (για το ένα παθογόνο)	1
Αρνητικό αποτέλεσμα	0
Μη αναμενόμενο παθογόνο	-1
Επιπλέον μη αναμενόμενο παθογόνο	-1
Απομόνωση και ταυτοποίηση ενός παθογόνου (σωστή σε επίπεδο γένους και είδους)	1
Μη ταυτοποιούμενο παθογόνο**	0

* σε είδη που η ταυτοποίηση σε επίπεδο είδους απαιτεί μοριακές τεχνικές: 2

** σε περίπτωση αναερόβιου μικροοργανισμού: 1

Βαθμολόγηση δειγμάτων με κανένα μικροοργανισμό

Απάντηση	Βαθμολογία
Αρνητική καλλιέργεια	2
Μη αναμενόμενο παθογόνο	-1
Μη αναμενόμενο παθογόνο, ορθή αξιολόγηση	1

**Βαθμολόγηση αντιβιογράμματος
(ΔΕΝ ΣΥΜΜΕΤΕΧΕΙ ΣΤΗΝ ΣΥΝΟΛΙΚΗ ΒΑΘΜΟΛΟΓΙΑ)**

Απάντηση	Βαθμολογία
Σωστός χαρακτηρισμός (ευαισθησία/αντοχή) σε έναστο αντιβιοτικό και σωστός φαινότυπος αντοχής	2
Σωστός χαρακτηρισμός (ευαισθησία/αντοχή) σε έναστο αντιβιοτικό	1
Σωστός φαινότυπος αντοχής	1
Λάθος χαρακτηρισμός (ευαισθησία αντί αντοχή και αντίθετα)	-1
Λάθος φαινότυπος αντοχής	-1
Μη έλεγχος φαινοτύπου αντοχής	-1
Έλεγχος αντοχής που απαιτεί μέθοδο αναφοράς (προσδιορισμός MIC)	ΔΕΝ βαθμολογείται

Το παραπάνω σύστημα βαθμολόγησης με δεδομένο ότι κάθε αποστολή περιλαμβάνει 3 δείγματα οδηγεί σε μία μέγιστη βαθμολογία ίση με 6. Το αναμενόμενο αποτέλεσμα για κάθε δείγμα είναι γνωστό, καθώς τα δείγματα έχουν προετοιμαστεί χρησιμοποιώντας μικροβιακά στελέχη από τη Συλλογή του Εργαστηρίου Μικροβιολογίας της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Αθηνών. Για το λόγο αυτό η επεξεργασία των αποτελεσμάτων και η αξιολόγηση τους είναι ανεξάρτητη του αριθμού των συμμετεχόντων Εργαστηρίων. Όταν αυτό κρίνεται απαραίτητο γίνεται αξιολόγηση της επίδοσης λαμβάνοντας υπόψη και τη μεθοδολογία που ακολουθήθηκε από τους συμμετέχοντες.

Μετά την επεξεργασία των αποτελεσμάτων κάθε αποστολής συντάσσονται ατομικές αναφορές αποτελεσμάτων που περιλαμβάνουν τη βαθμολογία του κάθε συμμετέχοντος Εργαστηρίου, καθώς και συγκεντρωτικά αποτελέσματα (με τη μορφή πινάκων ή γραφημάτων) όλων των συμμετεχόντων Εργαστηρίων. Η αναφορά διανέμεται ηλεκτρονικά σε μορφή pdf, ενώ με στόχο την διατήρηση της ανωνυμίας στο έγγραφο γίνεται αναφορά μόνο στον κωδικό που έχει αποδοθεί στο συμμετέχον εργαστήριο και βρίσκεται στην αποκλειστική του γνώση.

6 ΕΠΙΚΟΙΝΩΝΙΑ

Για οποιαδήποτε πληροφορία ή διευκρίνιση οι συμμετέχοντες μπορούν να απευθύνονται στο τηλέφωνο 210-7462129, κα Γεωργία Βρυώνη Αναπληρώτρια Καθηγήτρια - Συντονίστρια Σχήματος (ή κα Θεοδώρα Κολιού - Τεχνολόγος, 210 - 7462154) και ηλεκτρονικά στο mail: piotikos.iatriki@gmail.com