



Státní zdravotní ústav
Expertní skupina pro zkoušení způsobilosti
Poskytovatel programů zkoušení způsobilosti akreditovaný ČIA
Podle ČSN EN ISO/IEC, reg. č. 7001
Šrobárova 48, 100 42 Praha 10 – Vinohrady



Závěrečná zpráva

Zkoušení způsobilosti v lékařské mikrobiologii
(Externí hodnocení kvality)

PT#M/31/2017 (č.987)

Detekce papillomavirů

Praha, prosinec 2017

Obsah

1. Souhrnné informace o přípravě a hodnocení PT (Proficiency Testing)	3
2. Příprava vzorků	4
3. Hodnocení	4
4. Souhrny výsledků	6
5. Závěr	7
6. Příloha – výsledkový protokol jednotlivé laboratoře	

Program zkoušení způsobilosti PT#M/31/2017 byl zaměřen na detekci papillomavirů. Návrh a realizace PT#M/31/2017 byly prováděny podle standardního operačního postupu SOP M/31 na pracovišti Expertní skupiny pro zkoušení způsobilosti (ESPT) Státního zdravotního ústavu (SZÚ). Toto pracoviště je akreditováno Českým institutem pro akreditaci, o.p.s. jako poskytovatel programů zkoušení způsobilosti č. 7001.

S veškerými informacemi dodanými účastníky je zacházeno jako s důvěrnými a nejsou bez souhlasu účastníka poskytovány třetím stranám.

Nedílnou součástí závěrečné zprávy je výsledkový protokol jednotlivé laboratoře.

Za správnost výsledků ručí koordinátor příslušného cyklu EHK.

Koordinátor:

MUDr. Barbora Macková

Tel: 267 082 457

Zprávu vypracoval:

RNDr. Ruth Tachezy, PhD. (NRL pro papillomaviry a polyomaviry, Praha)

Zprávu schválil: MUDr. Barbora Macková**Dne: 18.12.2017****Pracoviště 2 ESPT (AP CEM - Akreditační pracoviště Centra epidemiologie a mikrobiologie):**

www.szu.cz/espt

email: apcem@szu.cz

1. Souhrnné informace o přípravě a hodnocení

Identifikace kola/cyklu:	PT#M/31/2017
Název:	Detekce papillomavirů
Poskytovatel:	SZÚ – Centrum epidemiologie a mikrobiologie - ESPT Šrobárova 48, Praha 10, 100 42
Koordinátor:	MUDr. Barbora Macková
Subdodavatel:	NRL pro papillomaviry a polyomaviry, Ústav hematologie a krevní transfuze, Praha, RNDr. Ruth Tachezy, PhD.
Charakteristika materiálu:	5 vzorků lyofilizovaných obsahující buňky negativní i pozitivní na lidské papillomaviry a/nebo klonovanou DNK lidských papillomavirů různých genotypů
Podstata a účel PT/EHK:	ověřit schopnost účastníků identifikovat přítomnost a určit skupinu a/nebo typ lidských papillomavirů v simulovaných vzorcích cytologických stěrů a správně interpretovat výsledky vyšetření
Kritéria pro účast na PT/EHK:	Znalost a technické vybavení pro vyšetření přítomnosti lidských papillomavirů a určení příslušnosti ke skupině genotypů nízkého a vysokého rizika a eventuelně genotypu viru
Způsob přípravy:	Výchozím materiálem pro přípravu vzorků jsou HPV negativní lidské buňky smíchané s buňkami obsahujícími některé HPV genotypy a/nebo klonovanou DNK lidských papillomavirů v lyofilizované formě
Množství připravovaného test. materiálu:	cca pro 40 laboratoří (a pro ověření homogenity a stability vzorků)
Označení vzorků:	PT#M/31/2017 – EHK 987 a PT#M/31/2017 – EHK 987 Qiagen Hc2 Detekce papillomavirů
Zabezpečení jakosti vzorku:	Manipulace za sterilních podmínek, příprava vzorků v místnosti vyhrazené pro preamplifikační fázi, vhodné skladování, adekvátní transport ke zpracování, testy homogenity
Metrologická návaznost:	klinický materiál
Testy homogenity a stability:	Pro zajištění stability materiálu lyofilizujeme, vzorky nejsou infekční. Vybrané vzorky ze série rozeslané zákazníkům jsou testovány na přítomnost cílového markeru v NRL pro papillomaviry a polyomaviry po jejich přípravě dvěma metodami a dvěma různými operátory. Poté jsou vzorky odeslané do SZÚ k lyofilizaci a skladovány na -20°C až do jejich distribuce. Lyofilizované vzorky jsou znovu ověřované dvěma metodami v NRL.
Podmínky distribuce a uchování vzorků:	Transport při pokojové teplotě, krátkodobé uchování při 2 – 8 °C
Možné zdroje chyb:	Nedodržení správné laboratorní praxe, vadná šarže setu
Počet účastníků:	37 laboratoří
Termín distribuce:	12.9.2017
Způsob distribuce:	Rozvoz přepravní službou Přílohy: formulář pro zápis výsledků a pokyny účastníkům
Předání výsledků:	písemně do 3.10.2017 na předepsaných formulářích
Určení vztažné hodnoty:	Pro hodnocení je za vztažnou hodnotu považován výsledek získaný v NRL.
Způsob vyhodnocení výsledků:	Bodové ohodnocení: za 1 vzorek max 2 body, jeden za správné určení absence či přítomnosti nízkorizikových genotypů (LR) a 1 za určení absence či přítomnosti vysokorizikových genotypů (HR) HPV. Pokud použitý diagnostický test neumožňuje detekci LR HPV, hodnotíme výsledek také dvěma body a v případě chybného výsledku či závažné chyby detekce 0 body. Za nesprávný výsledek - závažnou chybu považujeme falešně pozitivní a falešně negativní výsledek, případně špatnou skupinovou detekci genotypu. Maximálním možným počtem získaných bodů je 10. Laboratořím s menším počtem bodů než 9 doporučujeme vyžádání opravné série vzorků. Laboratořím s jedním chybným výsledkem, dle závažnosti, doporučujeme přetestování daného vzorku.
Určení směrodatné odchylky:	Neprovádí se

2. Příprava vzorků

Vzorky byly připraveny na pracovišti subdodavatele – v Národní referenční laboratoři pro papillomaviry a polyomaviry, v Ústavu hematologie a krevní transfuze, vedoucí: RNDr. Ruth Tachezy, PhD., v termínu od 11.7.2017 do 30.8.2017 dle SOP M/31.

Výchozím materiálem pro přípravu vzorků byly linie lidských buněk negativních na HPV a dále linie obsahujících některé genotypy HPV a klonovaná izolovaná virová DNK různých genotypů HPV.

Vzorky pro EHK byly připraveny jako simulované klinické vzorky odběru stěru z děložního hrdla. Na pozadí HPV negativních buněk v transportním médiu byly i buňky obsahující HPV a klonovaná virová DNK. Vzorky jsou připraveny tak, aby obsahovaly různé genotypy (LR, HR) a různé koncentrace těchto genotypů. Vzorky byly po přípravě a rozplnění skladovány při + 4-8 °C. Jednotlivé zkumavky byly označené štítkem s číslem a názvem cyklu EHK, číslem vzorku a datem distribuce cyklu EHK. Pro letošní rok byly připraveny dvě sady vzorků - pro amplifikační metody a pro neamplifikační metody. Sada pro neamplifikační metody obsahovala stejné typy HPV jako sada pro amplifikační metody. S tím rozdílem, že sada pro neamplifikační metody obsahovala klony HPV ve vyšší koncentraci než pro metody amplifikační. Připravené vzorky byly dle svého označení 1 – 5 vloženy do nepropustných sáčků a ty poté do polystyrénové krabice s chladícími vložkami. Ta byla osobně dopravena z NRL pro papillomaviry do SZÚ Praha dne 17.7.2017 a 24.8.2017 (Záznam o přijetí/předání vzorku).

Vzorky jsou umístěny v polypropylénových zkumavkách se šroubovacím víčkem a jsou označeny pořadovým číslem 1 – 5, číslem EHK a datem rozeslání. V SZÚ Praha byly vzorky lyofilizovány, ze vzorků kompletovány série obsahující vždy vzorek 1-5 a přeprava vzorků byla zajištěna přepravcem dle regulí ADR pro silniční přepravu.

3. Hodnocení

Celkem byly dne 12.9.2017 v rámci PT#M/31/2017 - EHK-987 (Detekce papillomavirů) rozeslány vzorky do 37 laboratoří. Vzorek 1 byl negativní, vzorek 2 byl pozitivní na HR HPV 16, vzorek 3 obsahoval LR HPV 6 a HR HPV 33, vzorek 4 obsahoval HR HPV 58 a vzorek 5 obsahoval HR HPV 18.

Vyplněné protokoly vyšetření PT#M/31/2017 - EHK-987 ke dni uzávěrky 3.10.2017 vrátilo 37 laboratoří.

Pro neamplifikační metody 4 laboratoře použily hc2 HPV Test Qiagen, který umožňuje detekovat LR i HR HPV genotypy a 4 laboratoře použily hc2 HR HPV Test Qiagen, který detekuje pouze HR HPV typy. Dalších 31 laboratoří provedlo vyšetření EHK vzorků amplifikačními metodami, z toho dvě laboratoře použily dvě různé amplifikační metody. Jedna laboratoř vyšetřila vzorky jednou neamplifikační a jednou amplifikační metodou. Další laboratoř použila metodu neamplifikační a dvě metody amplifikační. Jejich přehled a rozložení jsou uvedené v Tabulce 1.

Tabulka č.1. Přehled testů použitých pro v PT#M/31/2017 - EHK 987 pro amplifikační metodu detekce HPV a počet laboratoří, které příslušný test použily.

Test	Výrobce (Distributor)	Počet laboratoří
Cobas 4800 HR HPV panel, HPV 16/18	Roche (Roche)	12
Anyplex II HPV28 Detection	Seegene	6
Anyplex II HPV HR Detection	Seegene	2
GeneXpert HPV Assay	Cepheid (Biovendor)	4
HPV HR Screen Real-TM Quant 2x	Sacace Biotechnologies (Dynex)	2
HPV Genotypes 14 Real-TM Quant	Sacace Biotechnologies (Dynex)	2
HPV 14 Screening and 16,18,45 Typing Real-TM Quant	Sacace Biotechnologies (Dynex)	2
HPV Easy Screening PCR	AID GMBH (Medisco)	1
PCR STD Detection Kit	GenID (Medisco)	1
AmoyDx HPV Genotyping Detection Kit	Amoy Diagnostic	1
Amplisens HPV HCR Genotype	CRIE Moskow (Ecoli SR)	2
Amplisens HPV HCR Genotype, HPV 6/11 Kit	CRIE Moskow (Ecoli SR)	1

Princip hodnocení:

Hodnocení výsledků PT#M/31/2017 - EHK-987 je prováděno kvalitativně, při diskrepanci se u neamplifikačních metod přihlíželo i k výsledkům semikvantitativním, pokud byly dostupné.

Při kvalitativním hodnocení je za vyhovující hodnotu považován výsledek získaný v NRL pro papillomaviry a polyomaviry.

Bodové ohodnocení:

Za správný výsledek u 1 vzorku je možno získat max 2 body, jeden za správné určení absence či přítomnosti nízkorizikových genotypů (LR) a 1 za určení absence či přítomnosti vysokorizikových genotypů (HR) HPV. Pokud použitý diagnostický test neumožňuje detekci LR HPV, hodnotíme výsledek také dvěma body. Pokud je polovina výsledku správná hodnotíme 1 bodem a v případě chybného výsledku či závažné chyby detekce 0 body. Za nesprávný výsledek považujeme falešně pozitivní a falešně negativní výsledek, případně špatnou skupinovou detekci genotypu, pokud se jedná o HPV typy vakcinační, jsou tyto chyby považovány za závažné. Maximálním možným počtem získaných bodů je 10. Laboratořím s menším počtem bodů než 9 doporučujeme vyžádání opravné série vzorků. Laboratořím s jedním chybným výsledkem, dle závažnosti, doporučujeme přetestování daného vzorku.

4. Souhrny výsledků

Výsledky vyšetření:

Vzorek 1 (LR i HR HPV negativní – výsledek HPV negativní):

Vzorek neobsahoval HPV. Všechny laboratoře 37/37 získaly správný výsledek.

Vzorek 2 (HR HPV 16 - výsledek HR HPV pozitivní):

Všechny laboratoře správně určily vzorek jako HR HPV pozitivní. U laboratoří využívající amplifikační metody detekce určily vzorek pouze jako HR HPV 3 laboratoře a 27 laboratoří jako HR HPV 16. Jedna laboratoř správně detekovala vzorek jako HR HPV pozitivní, ale neuvedla typ i když je použitá metoda schopna tento typ rozlišit. Tři laboratoře, které použily 2 amplifikační metody, získaly oběma metodami správný výsledek.

Vzorek 3 (LR HPV 6 a HR HPV 33 - výsledek LR a HR HPV pozitivní)

10/10 laboratoří, které detekují LR HPV typy, získalo správný výsledek LR HPV 6 či LR HPV pozitivní. Všechny laboratoře využívající neamplifikační metody detekce identifikovali správně tento vzorek jako LR HPV pozitivní. 29/31 laboratoří, které detekují HR HPV amplifikačními metodami, správně identifikovalo HR HPV 33 nebo HR HPV. Tři laboratoře, které použily 2 amplifikační metody, získaly oběma metodami správný výsledek. Dvě laboratoře detekovaly vzorek jako falešně negativní. Laboratoře využívající neamplifikační metody detekce (8/8) určily správně tento vzorek jako HR HPV pozitivní.

Vzorek 4 (HR HPV 58 v hraničním množství - výsledek HR HPV pozitivní)

Většina laboratoří využívající amplifikační metody detekce (28/31) správně určily vzorek jako HR HPV pozitivní. Vzorek pouze jako HR HPV pozitivní určilo 18 laboratoří a 11 laboratoří jako HR HPV 58. Jedna laboratoř využívající 2 amplifikační metody určila pro 1 metodu pouze HR HPV pozitivitu a pro druhou metodu správně typ HR HPV 58. Další dvě laboratoře určily oběma metodami shodně HR HPV pozitivitu nebo typ HR HPV 58. Tři laboratoře ve vzorku HR HPV 58 nedetekovaly, negativní výsledek testování nebyl považován za závažnou chybu detekce. Laboratoře využívající neamplifikační metody detekce (8/8) určily vzorek jako HR HPV pozitivní.

Vzorek 5 (HR HPV 18 - výsledek HR HPV pozitivní)

29/31 laboratoří využívající amplifikační metody detekce a typizace HPV správně detekovaly ve vzorku HR HPV, 3 laboratoře pouze HR HPV pozitivitu, 26 laboratoří pak správně určilo typ HR HPV 18. Laboratoře využívající 2 amplifikační metody určily pro obě metody správně typ HR HPV 18. Jedna laboratoř správně detekovala vzorek jako HR HPV pozitivní, ale neuvedla typ i když je použitá metoda schopna tento typ rozlišit. Jedna laboratoř detekovala špatně jako HR HPV negativní. Všechny laboratoře využívající neamplifikační metodu detekovaly správně vzorek jako HR HPV pozitivní.

Opravná série

Třem laboratořím bylo doporučeno přetestování 2 vzorků. Dvě laboratoře ve vzorku č. 3 nedetekovaly přítomnost HPV 33 a ve vzorku č. 4 typ HPV 58. Třetí laboratoř nedetekovala ve vzorku č. 4 HPV 58 a ve vzorku č. 5 typ HPV 18. Těmto laboratořím bylo doporučeno přetestování uvedených vzorků. Jedna laboratoř nevedla rozlišení typů HPV, které je jejich test schopen detekovat, a byla požádána o jejich doplnění.

5. Závěr

Ze 37 zúčastněných laboratoří v rámci PT#M/31/2017 - EHK-987 detekce papillomavirů 37 laboratoří vrátilo protokol (celkově 42 protokolů, 2 laboratoře použily 2 různé amplifikační metody, 1 laboratoř použila neamplifikační a 1 amplifikační metodu, 1 laboratoř použila neamplifikační a 2 amplifikační metody).

Osm laboratoří vyšetřilo vzorky metodou neamplifikační. Z těchto 8 laboratoří 8 získalo plný počet bodů.

Metodu amplifikační použilo 31 laboratoří, z nich 27 obdrželo maximální počet bodů 10 v řádné sérii. Jedna laboratoř (539) nevedla HPV typy, které je jejich test schopen detekovat, a byla požádána o doplnění.

Další dvě laboratoře (64 a 558) s falešně negativním vyšetřením vzorku č.3 a č.4 (vzorek č.4 byl slabě až hraničně pozitivní na daný genotyp) získaly v řádné sérii 8 bodů. Těmto dvěma laboratořím jsme doporučili opakování testu u těchto vzorků. Laboratoř 542 určila vzorky č.4 a č.5 jako falešně negativní a získala tak v řádné sérii 8 bodů a bylo jí doporučeno přetestování těchto vzorků. Laboratoře 64 a 558 použily pro přetestování jinou metodu než v řádné sérii. Po doplnění výsledků a přetestování všechny laboratoře získaly 10 bodů.

Výsledky jednotlivých laboratoří jsou uvedeny v kapitole 4 (Souhrny výsledků).