



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/31/2018 (č. 1033)

Detekce papillomavirů

Praha, prosinec 2018

Obsah

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

Program zkoušení způsobilosti PT#M/31/2018 byl zaměřen na detekci papillomavirů. Návrh a realizace PT#M/31/2018 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.

Příloha závěrečné zprávy, t.j. ohodnocený výsledkový protokol, je rozesílána poštou.

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: 12. 12. 2018****Pracoviště 2 ESPT (AP CEM - Akreditační pracoviště Centra epidemiologie a mikrobiologie):**

www.szu.cz/espt

1. Souhrnné informace o přípravě a hodnocení

Identifikace kola/cyklu:	PT#M/31/2018
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/31/2018 – EHK 1033 a PT#M/31/2018 – EHK 1033 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 rozesílané 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:	38 laboratoří
Termín distribuce:	11. 9. 2018
Způsob distribuce:	Rozvoz přepravní službou Přílohy: formulář pro zápis výsledků a pokyny účastníkům
Předání výsledků:	písemně do 2. 10. 2018 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	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 27. 6. 2018 do 10. 9. 2018 dle SOP M/31.

Výchozím materiálem pro přípravu vzorků byly linie lidských buněk negativních na HPV a dále linie obsahující 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 označeny 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 klonové 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 a polyomaviry do SZÚ Praha dne 24. 7. 2018 a 23. 8. 2018 (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 11. 9. 2018 v rámci PT#M/31/2018 - EHK-1033 (Detekce papillomavirů) rozeslány vzorky do 38 laboratoří. Vzorek 1 byl pozitivní na HR HPV 16 a 18, vzorek 2 obsahoval LR HPV 6 a HR HPV 33, vzorek 3 byl pozitivní na HR HPV 18 a HR HPV 31, vzorek 4 obsahoval HR HPV 58 a vzorek 5 byl negativní.

Vyplněné protokoly vyšetření PT#M/31/2018 - EHK-1033 ke dni uzávěrky 2. 10. 2018 vrátilo 38 laboratoří.

Pro neamplifikační metody 3 laboratoře použily hc2 HPV Test Qiagen, který umožňuje detekovat LR i HR HPV genotypy a 5 laboratoří použilo hc2 HR HPV Test Qiagen, který detekuje pouze HR HPV typy. Dalších 33 laboratoří provedlo vyšetření EHK vzorků amplifikačními metodami, z toho dvě laboratoře použily dvě různé amplifikační metody. Dvě laboratoře vyšetřily 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/31/2018 - EHK 1033 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)	13
Anyplex II HPV28 Detection	Seegene	6
Anyplex II HPV HR Detection	Seegene	1
GeneXpert HPV Assay	Cepheid (Biovendor)	5
HPV Genotypes 14 Real-TM Quant	Sacace Biotechnologies (Dynex)	1
HPV 14 Screening and 16,18,45 Typing Real-TM Quant	Sacace Biotechnologies (Dynex)	3
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, HPV 6/11 Kit	CRIE Moskow (Ecoli SR)	1
HPV High Risk Real-Time PCR Kit	Kitgen	1
Human Papillomavirus (HPV) PCR Kit	GeneProof	1
PapilloCheck	Greiner Bio-One	1

Princip hodnocení:

Hodnocení výsledků PT#M/31/2018 - EHK-1033 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.

Výsledky vyšetření:

Vzorek 1 (HR HPV 16 a HR HPV 18 - výsledek HR HPV pozitivní):

33/33 laboratoří využívající amplifikační metody detekce a typizace HPV správně detekovaly ve vzorku HR HPV, 1 laboratoř pouze HR HPV pozitivitu, 30 laboratoří pak správně určilo typ HR HPV 16 a 18. Další tři laboratoře použily 2 amplifikační metody, dvě určily pro obě metody správně typ HR HPV 16 a 18 a jedna laboratoř (696) nedetekovala jednou metodou HR HPV 18. Test, který tato laboratoř použila, je cílen na detekci genu E1, který je u simulovaných vzorků s typem HPV 18 přerušen klonováním, proto tento výsledek nebyl považován za chybu detekce.

Vzorek 2 (LR HPV 6 a HR HPV 33 - výsledek LR a HR HPV pozitivní):

8/8 laboratoří využívající amplifikační metody, které detekují LR HPV typy, získalo správný výsledek LR HPV 6 či LR HPV pozitivní. 33/33 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.

Všechny laboratoře využívající neamplifikační metody, které detekují LR HPV typy, identifikovaly správně tento vzorek jako LR HPV pozitivní. 7/8 laboratoří určily správně tento vzorek jako HR HPV pozitivní. Jedna laboratoř (407) měla vzorek falešně negativní.

Vzorek 3 (HR HPV 18 a HR HPV 31- výsledek HR HPV pozitivní)

31/33 laboratoří, které detekují HR HPV amplifikačními metodami, správně identifikovalo HR HPV 18 a 31 nebo HR HPV. Jedna laboratoř (528) měla falešnou pozitivitu na HR HPV 16. Dvě laboratoře, které použily 2 amplifikační metody, získaly oběma metodami správný výsledek. Další laboratoř (696) využívající dvě amplifikační metody, nedetekovala jednou metodou HR HPV 18. Test, který tato laboratoř použila, je cílen na detekci genu E1, který je u simulovaných vzorků s typem HPV 18 přerušen klonováním, proto tento výsledek nebyl považován za chybu detekce.

Laboratoře využívající neamplifikační metody detekce (7/8) určily správně tento vzorek jako HR HPV pozitivní. Jedna laboratoř (407) měla vzorek falešně negativní.

Vzorek 4 (HR HPV 58 - výsledek HR HPV pozitivní)

Většina laboratoří využívající jednu amplifikační metodu detekce (31/33) správně určily vzorek jako HR HPV pozitivní nebo typ HPV 58. Ze tří laboratoří využívající dvě amplifikační metody 1 laboratoř určila oběma metodami shodně HR HPV pozitivitu nebo typ HR HPV 58. Druhá detekovala jednou metodou správně HR HPV pozitivitu a druhou nedetekovala ani HR HPV pozitivitu a ani typ důsledku technické chyby přístroje. Třetí laboratoř využívající 2 amplifikační metody určila pro 1 metodu správně HR HPV pozitivitu a pro druhou měla navíc falešnou pozitivitu na HR HPV 16.

Laboratoře využívající neamplifikační metody detekce (7/8) určily vzorek jako HR HPV pozitivní. Jedna laboratoř (407) měla vzorek falešně negativní.

Vzorek 5 (LR i HR HPV negativní – výsledek HPV negativní)

37 ze 38 laboratoří získalo správný výsledek HPV negativní. Jedna laboratoř (528), která vyšetřovala vzorky neamplifikační i amplifikační metodou detekce, určila vzorek jako falešně pozitivní a to oběma metodami.

Opravná série

Jedné laboratoři (528), která použila metodu neamplifikační i amplifikační jsme doporučili opravnou sérii pro obě metody. U neamplifikační metody detekovala vzorek č. 5 jako falešně pozitivní a u amplifikační metody detekovala ve vzorcích č. 3 a 4 navíc falešnou pozitivitu na HR HPV 16 a ve vzorku č. 5 falešnou pozitivitu na HR HPV 58. Dvěma laboratořím (369 a 696), které použily dvě metody amplifikační, bylo doporučeno přetestování série pro jednu z použitých metod, za druhou získaly plný počet bodů.

Laboratoř 407 vyšetřovala vzorky určené pro amplifikační metodu detekce metodou neamplifikační. Doporučili jsme nové přetestování správných vzorků.

Závěr

Z 38 zúčastněných laboratoří v rámci PT#M/31/2018 - EHK-1033 detekce papillomavirů 38 laboratoří vrátilo protokol (celkově 44 protokolů, 2 laboratoře použily dvě různé amplifikační metody, 2 laboratoře použily neamplifikační i amplifikační metodu, 1 laboratoř použila neamplifikační a dvě amplifikační metody).

Osm laboratoří vyšetřilo vzorky metodou neamplifikační. Z těchto 6/8 laboratoří získalo plný počet bodů. Laboratoř 407 obdržela omylem vzorky pro amplifikační metody vyšetření, po obdržení správných vzorků a po přetestování získala plný počet bodů. Laboratoř 528 měla pro vzorek č. 5 falešně pozitivní výsledek a získala 8 bodů a bylo jí doporučeno přetestování série.

Jednu metodu amplifikační použilo 30 laboratoří, z nich 29 obdrželo maximální počet bodů 10 v řádné sérii. Další laboratoř (528) s falešně pozitivním vyšetřením na HR HPV 16 u vzorků č. 3 a 4 a falešně pozitivním vyšetřením na HR HPV 58 u vzorku č. 5 získala v řádné sérii 4 body a byla jí doporučena opravná série. Dvě amplifikační metody detekce použily tři laboratoře, z nich laboratoř 754 získala pro obě metody plný počet bodů. Laboratoř 696 získala pro jednu metodu 10 bodů a za druhou s falešně pozitivním výsledkem na HR HPV 16 ve vzorku č. 4 získala 8 bodů a bylo jí doporučeno přetestování. Tato laboratoř také nedetekovala tímto testem ve vzorcích č. 1 a č. 3 HR HPV 18, což bylo způsobeno tím, že test je cílen na detekci genu E1, který je u simulovaných vzorků pro HPV 18 přerušen klonováním. Tento výsledek nebyl považován za chybu detekce. Druhá laboratoř (369) získala pro jednu metodu 10 bodů, u druhé metody laboratoř nedetekovala ani HR HPV pozitivitu a ani typ důsledku technické chyby přístroje a bylo jí doporučeno přetestování.

Laboratoř 696 si vyžádala opravnou sérii pro amplifikační metodu PapilloCheck (Greiner Bio-One), v opravné sérii nedetekovala přítomnost HR HPV 31 pro vzorek č. 3 a získala 8 bodů. Certifikát pro tuto metodu není možné vydat.

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

V případě reklamací vyhodnocení série prosím postupujte dle reklamačního řádu.