



Státní zdravotní ústav  
Expertní skupina pro zkoušení způsobilosti  
Poskytovatel programů zkoušení způsobilosti akreditovaný ČIA  
Podle ČSN EN ISO/IEC, reg. č. 7001  
Šrobárova 49/48, 100 00 Praha 10 – Vinohrady



# **Závěrečná zpráva**

Zkoušení způsobilosti v lékařské mikrobiologii  
(Externí hodnocení kvality)

**PT#M/31/2019 (č. 1101, 1102)**

**Detekce papillomavirů**

**Praha, prosinec 2019**

## 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/31/2019 byl zaměřen na detekci papillomavirů. Návrh a realizace PT#M/31/2019 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, tj. ohodnocený výsledkový protokol, je rozesílána poštou.

Za správnost výsledků ručí koordinátor příslušného cyklu EHK.

**Koordinátor:**

MUDr. Barbora Macková

Tel: 267 082 101

**Zprávu vypracoval:**

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

**Zprávu schválil:** MUDr. Barbora Macková**Dne: 30. 12. 2019****Pracoviště 2 ESPT (AP CEM - Akreditační pracoviště Centra epidemiologie a mikrobiologie):**

www.szu.cz/espt

email: [apcem@szu.cz](mailto:apcem@szu.cz)

### 1. Souhrnné informace o přípravě a hodnocení

Identifikace kola/cyklu:	PT#M/31/2019
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:	Detekce papillomavirů, PT#M/31-1/2019 – EHK 1101 a PT#M/31-2/2019 – EHK 1102
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:	38 laboratoří
Termín distribuce:	10. 9. 2019
Způsob distribuce:	Rozvoz přepravní službou Přílohy: formulář pro zápis výsledků a pokyny účastníkům
Předání výsledků:	písemně do 1. 10. 2019 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 10. 6. 2019 do 9. 9. 2019 dle SOP M/31.

Výchozím materiálem pro přípravu vzorků byly linie lidských buněk negativních na HPV a dále linie lidských buněk 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 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. Pro letošní rok byly připraveny dvě sady vzorků - pro amplifikační metody (EHK 1101) a pro neamplifikační metody (EHK 1102). 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 a polyomaviry do SZÚ Praha dne 24. 6. 2019 (Záznam o přijetí/předání vzorku).

Vzorky jsou umístěny v polypropylénových zkumavkách se šroubovacím víčkem a jsou označeny pořadovým číslem 1 – 5, číslem EHK. 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 10. 9. 2019 v rámci PT#M/31/2019 - EHK-1101 a 1102 (Detekce papillomavirů) rozeslány vzorky do 38 laboratoří. Vzorek 1 byl pozitivní na HR HPV 31, vzorek 2 obsahoval HR HPV 16 a 45, vzorek 3 byl negativní na HPV, vzorek 4 obsahoval LR HPV 6 a HR HPV 18 a vzorek 5 byl pozitivní na HR HPV 16.

### Princip hodnocení:

Hodnocení výsledků PT#M/31/2019 - EHK-1101 a 1102 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.

Vyplněné protokoly vyšetření PT#M/31/2019 - EHK-1101 a 1102 ke dni uzávěrky 1. 10. 2019 vrátilo 37 laboratoří.

### 3.1 Hodnocení EHK 1101 – amplifikační metody detekce HPV

34 laboratoří provedlo vyšetření EHK vzorků amplifikačními metodami, z toho dvě laboratoře (369, 754) použily dvě různé amplifikační metody a další dvě laboratoře (696, 736) vyšetřily vzorky třemi amplifikačními metodami. Celkem bylo hodnoceno 40 výsledkových listů pro amplifikační metody detekce HPV. Přehled použitých metod je uveden v Tabulce č. 1.

**Tabulka č. 1 Přehled testů použitých v PT#M/31-1/2019 - EHK 1101 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)	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, HPV 6/11 Kit	CRIE Moskow (Ecoli SR)	1
QIAscreen HPV PCR Test	QIAGEN	1
PapilloCheck	Greiner Bio-One	1
Linear Array HPV	Roche	1
Vect08-Best HR HPV, real-time PCR	Vect08-Best	1
Human Papillomavirus (HPV) PCR Kit	GeneProof	3
„in house“ PCR, primery CPSGB, sekvenace		1

#### Výsledky vyšetření EHK 1101:

Přehled všech výsledků vyšetření amplifikačními metodami je uveden v přehledové tabulce v Příloze Závěrečné zprávy pro PT#M/31/2019 (4 Souhrn výsledků).

#### Vzorek 1 (HR HPV 31 pozitivní):

Všechny laboratoře využívající amplifikační metody detekce a typizace HPV správně detekovaly ve vzorku přítomnost HR HPV. Pokud to test umožňoval byl správně určen genotyp HPV 31.

**Vzorek 2 (HR HPV 16 a HR HPV 45 pozitivní):**

Všechny laboratoře, které využívají amplifikační metody detekce HPV, správně detekovaly ve vzorku přítomnost HR HPV a pokud to testy umožňovaly byly správně určeny typy HR HPV 16 a 45.

**Vzorek 3 (HPV negativní)**

Všechny laboratoře s výjimkou jedné získaly správný výsledek HPV negativní. Laboratoř 508 uvedla falešně pozitivní výsledek na HR HPV, doporučili jsme opravnou sérii.

**Vzorek 4 (LR HPV 6 a HR HPV 18 pozitivní)**

13/13 laboratoří využívající amplifikační metody, které detekují LR HPV typy, získalo správný výsledek LR HPV 6 či LR HPV pozitivní. 37/40 laboratorních výsledků vyšetření správně identifikovalo HR HPV 18 nebo HR HPV. Dvě laboratoře deklarovaly falešně negativní výsledek. Jedné laboratoři (598) bylo doporučeno vyšetření opravné série. Další laboratoř (696) použila test, který je cílen na detekci genu E1. Tento úsek genomu je u simulovaných vzorků s typem HPV 18 přerušen klonováním, proto tento negativní výsledek nebyl považován za chybu detekce. Další laboratoř (541) chybně uvedla ve vyhodnocení výsledku kromě HPV 18 ještě přítomnost dalších HR HPV typů. Této laboratoři jsme doporučili přetestování tohoto vzorku či revizi výsledku.

**Vzorek 5 (HR HPV 16 pozitivní)**

Většina laboratoří správně určily vzorek jako HR HPV pozitivní nebo typ HPV 16. Pouze jedna laboratoř (783) chybně uvedla ve výsledcích vyšetření kromě HPV 16 přítomnost HPV 45. Laboratoři bylo doporučeno přetestování tohoto vzorku či revize výsledku.

**3.2 Hodnocení EHK 1102 – neamplifikační metody detekce HPV**

Pro neamplifikační metody dvě laboratoře použily hc2 HPV Test Qiagen (Dynex), který umožňuje detekovat LR i HR HPV genotypy a 4 laboratoře použilo hc2 HR HPV Test Qiagen (Dynex), který detekuje pouze HR HPV typy (Tabulka č. 2).

**Tabulka č. 2 Přehled testů použitých v PT#M/31-2/2019 - EHK 1102 pro neamplifikační metodu detekce HPV a počet laboratoří, které příslušný test použily.**

Test	Výrobce (Distributor)	Počet laboratoří
Hc2 HPV Test Qiagen	Dynex	2
Hc2 HR HPV Test Qiagen	Dynex	4

**Výsledky vyšetření EHK 1102:**

Simulované vzorky pro vyšetření přítomnosti a typizace HPV byly připraveny obdobně jako pro metody amplifikační, jen s tím rozdílem, že množství přítomné HPV DNA bylo výrazně navýšeno. I přes to výsledné hodnoty třech kontrolních testů s rozdílnou šarží v NRL dosahovaly hraničních hodnot pro stanovení positivity, proto bylo při vyhodnocení přihlíženo k semikvantitativním hodnotám měření v laboratořích. Žádná laboratoř neměla falešně pozitivní výsledek vyšetření.

Přehled všech výsledků vyšetření neamplifikačními metodami je uveden v přehledové tabulce v Příloze Závěrečné zprávy pro PT#M/31/2019 (4 Souhrn výsledků).

**Vzorek 1 (HR HPV hraničně pozitivní až negativní):**

Všechny laboratoře s neamplifikačními metodami detekce HPV správně detekovaly ve vzorku hraničně pozitivní přítomnost HR HPV.

**Vzorek 2 (HR HPV pozitivní):**

Všechny laboratoře využívající neamplifikační metody detekce HPV správně detekovaly ve vzorku přítomnost HR HPV.

**Vzorek 3 (HPV negativní)**

Všechny laboratoře získaly správný výsledek HPV negativní.

**Vzorek 4 (LR HPV pozitivní a HR HPV hraničně pozitivní až negativní)**

Dvě laboratoře vyšetřovaly vzorky na pozitivitu LR HPV a obě uvedly hraniční pozitivitu na LR HPV s přihlédnutím k semikvantitativním hodnotám vyšetření. Všechny laboratoře správně vyšetřily vzorek jako HR HPV negativní až hraničně pozitivní.

**Vzorek 5 (HR HPV 16 pozitivní)**

Všechny laboratoře správně určily vzorek jako HR HPV negativní až hraničně pozitivní s přihlédnutím k uvedeným semikvantitativním hodnotám vyšetření.

**3.3 Opravná série**

Dvěma laboratořím, které vyšetřovaly vzorky amplifikačními metodami detekce HPV, jsme doporučili vyšetření opravné série, protože se jednalo o závažné chyby detekce a nebylo možné doporučit vydání certifikátu. Laboratoř 508 měla falešně pozitivní výsledek vyšetření vzorku č. 3, který byl na HPV zcela negativní. Laboratoř 598 získala naopak falešně negativní výsledek vyšetření u vzorku č. 4, který byl pozitivní na vakcinační typ HPV 18. Další laboratoř (696) také nedetekovala ve vzorku č. 4 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.

Laboratoř 541 chybně deklarovala přítomnost dalších HR HPV kromě HR HPV 18 ve vzorku č. 4. Obdobnou chybu uvedla ve výsledcích vyšetření laboratoř 783, která vedle správně určeného typu HPV 16 detekovala typ HPV 45 ve vzorku č. 5. Oběma laboratořím bylo doporučeno přetestování příslušných vzorků.

**3.4 Závěr**

Z 38 zúčastněných laboratoří v rámci PT#M/31/2019 - EHK-1101 a 1102 Detekce papillomavirů 37 laboratoří vrátilo protokol. Celkově bylo hodnoceno 40 výsledkových protokolů pro amplifikační metody a 6 protokolů pro neamplifikační metody.

Šest laboratoří vyšetřilo vzorky metodou neamplifikační (EHK 1102). Všechny laboratoře získaly plný počet bodů a bylo doporučeno vydání certifikátu pro neamplifikační metodu vyšetření HPV. Vzhledem k nízkým semikvantitativním hodnotám vyšetření v NRL i laboratořích bude v příštím okruhu EHK změněn postup přípravy série pro neamplifikační metody detekce HPV.

Celkem bylo hodnoceno 40 výsledkových protokolů vyšetření HPV pro amplifikační metody ze 34 laboratoří. Dvě laboratoře použily dvě a další dvě laboratoře tři amplifikační metody vyšetření, v případě úspěšného absolvování série je však vydán pouze jeden certifikát pro amplifikační metody. Celkem 30 laboratoří získalo plný počet bodů a doporučili jsme vydání certifikátu. U dvou laboratoří (508 a 598), které získaly 8 bodů, jsme doporučili opravnou sérii pro závažné chyby detekce. Dalším dvěma laboratořím (541 a 783) s méně závažnými chybami detekce HPV jsme doporučili přetestování 1 vzorku.

Tři laboratoře (528, 696, 736) správně použily amplifikační i neamplifikační metody detekce a získaly 10 bodů. Tyto laboratoře dostaly dva certifikáty.

Přehled výsledků všech metod vyšetření v jednotlivých laboratořích je uveden v Příloze Závěrečné zprávy pro PT#M/31/2019 (4 Souhrn výsledků).

V případě reklamací vyhodnocení série postupujte prosím dle reklamačního řádu.