

EHK – 718 Detekce papillomavirů – vyhodnocení

Jana Šmahelová, Ruth Tachezy

V roce 2011 se do okruhu PT#M/31/2011 (č. 718) Detekce papillomavirů přihlásilo 39 laboratoří, z nich 37 vrátilo vyplněné výsledkové protokoly. Každá laboratoř dostala 5 vzorků, které simulují klinické vzorky pro stanovení přítomnosti a případně typu lidských papillomavirů (HPV). Vzorky obsahují různé koncentrace klonů HPV DNA nebo HPV pozitivních buněčných linií na pozadí HPV negativních lidských buněk.

HODNOCENÍ

Každý vzorek je hodnocen na přítomnost nízkorizikových (LR) a vysokorizikových (HR) typů HPV. Správné vyhodnocení vzorku v obou parametrech je ohodnoceno 2 body (jeden bod za LR a jeden bod za HR), maximální možný zisk je tedy 10 bodů. Při hodnocení výsledků vždy přihlížíme k detekčním možnostem jednotlivých diagnostických setů, zejména u systémů založených na PCR. Pokud tyto sety umožňují genotypizaci, posuzujeme i správné určení jednotlivých typů HPV. Při použití diagnostických setů, které umožňují detekci pouze HR typů, správně vyšetřený vzorek hodnotíme také 2 body, maximální počet bodů je 10.

V letošním roce jsme zařadili do EHK vzorky s hraničními hodnotami HPV 16 a 18 (vzorky č. 1 a 2). Tato hraniční hodnota je vyžadována WHO globální HPV laboratoří pro ověření tzv. „proficiency“ metody pro expertní laboratoře, které se mohou účastnit sledování účinnosti zavádění vakcinačních programů a umožňuje nám srovnání fungování rozličných komerčních setů v rutinním provozu [1]. Samozřejmě však byl při hodnocení brán ohled na nižší citlivost testů používaných pro současné účely klinické praxe, kde je preferována především klinická citlivost a specifita, které jsou vyžadovány pro primární screening a/nebo triáž pacientek s atypickým cytologickým nálezem a sledování účinnosti léčby [2–4]. Pokud tedy byly tyto vzorky s hraničním množstvím HPV DNA určeny jako negativní, byly pro účely EHK hodnoceny jako správně vyšetřené.

Požadované výsledky EHK – 718 stanovené v NRL PV ukazují tabulky 1 a 2.

VÝSLEDKY

Neamplifikační metody detekce HPV

Nejčastěji využívaným testem detekce HPV v diagnostických laboratořích je Hybrid Capture 2 (hc2; Qiagen) – 10 laboratoří - a HR hc2 (Qiagen) – 10 laboratoří. Celkem 19 laboratoří vyhodnotilo vzorky správně, získaly 10 bodů.

Jedna laboratoř chybně vyšetřila 2 vzorky (negativní vzorek č. 4 hodnotila chybně jako HR HPV pozitivní a naopak pozitivní vzorek č. 5 jako HR HPV negativní) a získala pouze 8 bodů, a proto jsme jí doporučili vyžádat si opravnou sérii.

Amplifikační metody detekce HPV

Amplifikační metody detekce HPV využilo celkem 20 la-

boratoří. Tyto laboratoře použily celkem 14 různých diagnostických setů od různých výrobců (INNO Lipa Innogenetics, Amplicor HPV Roche, Linear Array HPV Roche, Cobas 4800 HR HPV Roche, HPV Screening GenID, STD GenID, HPV Screening Autoimmun Diagnostika, Amplisens HPV HCR Screen, Amplisens HPV HCR Genotype, HPV HR Screen Sacace Biotechnologies, HPV HR Screen HPV 6/11 Sacace Biotechnologies, HPV HR Genotype Liferiver, Gentech PCR, HPV HR RG4 real-time PCR IAB)

Tabulka 1: Výsledky EHK – 718 stanovené v NRL PV pro metodu hc2

Vzorek č.	LR HPV		HR HPV	
	výsledek	typ HPV	výsledek	typ HPV
1	negativní	-	negativní	16*
2	pozitivní	6	negativní	18*
3	pozitivní	6	pozitivní	58
4	negativní	-	negativní	-
5	negativní	-	pozitivní	16

* hraniční množství HPV DNA

Tabulka 2: Výsledky EHK – 718 stanovené v NRL PV pro metodu amplifikační (PCR)

Vzorek č.	LR HPV		HR HPV	
	výsledek	typ HPV	výsledek	typ HPV
1	negativní	-	pozitivní	16*
2	pozitivní	6	pozitivní	18*
3	pozitivní	6	pozitivní	58
4	negativní	-	negativní	-
5	negativní	-	pozitivní	16

* hraniční množství HPV DNA

Tabulka 3: Souhrn celkových výsledků a počet chybujících laboratoří

Počet chyb	Počet laboratoří	
	Neamplifikační metody detekce	Amplifikační metody detekce
0	19	19
1	0	1
2	1	0
3	0	0
4	0	0
Celkem	20	20

a jedna laboratoř „in house“ metodu. Tři laboratoře vyšetřily vzorky souběžně pomocí hc2 i amplifikační metody.

U vzorku č. 1 se hraniční množství typu HPV 16 nepodařilo zachytit 8 laboratořím, 12 laboratořím vyhodnotilo vzorek jako HR HPV pozitivní, oba výsledky jsme posuzovali jako správné.

Ve vzorku č. 2 všechny laboratoře vyšetřily správně přítomnost LR HPV 6 i hraniční množství HR HPV 18.

Ve vzorku č. 3, který byl LR i HR HPV DNA pozitivní, se jedné laboratoři nepodařilo detekovat přítomnost HPV 58, tento vzorek hodnotila jako HR HPV negativní.

Vzorek č. 4, který byl HPV LR i HR negativní, správně vyšetřily všechny laboratoře.

Přítomnost HR HPV 16 ve vzorku č. 5 určily všechny laboratoře správně.

Souhrn celkových výsledků a počet chybných laboratořím pro neamplifikační i amplifikační metody detekce HPV uvádí tabulka 3.

Podrobné tabulky výsledků EHK – 718 jsou zveřejněny na internetových stránkách na adrese:

www.papillomavirus.cz/cinnost_ehk.html.

ZÁVĚR

Okruhu PT#M/31/2011 (č. 718) Detekce papillomavirů se zúčastnilo 37 laboratořím, ze kterých se vrátilo 40 výsledkových listů, 38 výsledkových listů bylo zcela správných. Certifikát může být vydán 36 laboratořím, z toho dvěma pro neamplifikační i amplifikační metodu detekce HPV.

Jedné laboratoři bylo doporučeno přetestování chybně vyšetřeného vzorku a jedné laboratoři jsme doporučili vyžádat si opravnou sérii EHK.

Při dodržení správné laboratorní praxe je použití neamplifikačních i amplifikačních metod detekce HPV pro klinické účely v rutinních laboratořích bezproblémové.

LITERATURA

1. Eklund C, Zhou T, Dillner J. Global proficiency study of human papillomavirus genotyping. *Journal of Clinical Microbiology* 2010; 48:4147-4155.
2. Snijders PJF, van den Brule A, Meijer CJLM. The clinical relevance of human papillomavirus testing: relationship between analytical and clinical sensitivity. *Journal of Pathology* 2003; 201:1-6.
3. Meijer CJLM, Berkhof J, Castle PE, Hesselink AT, Franco EL, Ronco G, Arbyn M, Bosch FX, Cuzick J, Dillner J, Heideman DAM, Snijders PJF. Guidelines for human papillomavirus DNA test requirements for primary cervical cancer screening in women 30 years and older. *International Journal of Cancer* 2009; 124:516-520.
4. Meijer CJLM, Berkhof H, Heideman DAM, Hesselink AT, Snijders PJF. Validation of high-risk HPV tests for primary cervical screening. *Journal of Clinical Virology* 2009; 46(S3):S1-S3.

RNDr. Ruth Tachezy, Ph.D.

RNDr. Jana Šmahelová

NRL pro papillomaviry

Ústav hematologie a krevní transfuze

U Nemocnice 1, 128 20 Praha 2

www.papillomavirus.cz